



UnB

Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

Determinação de micropoluentes de preocupação emergente em
amostras de origem biológica e ambiental.

Aluna: Hadassa de Souza Ramos Pontes Moura

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fabríz Sodré

Brasília, DF

2022



UnB

Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

DETERMINAÇÃO DE MICROPOLUENTES DE
PREOCUPAÇÃO EMERGENTE EM AMOSTRAS DE
ORIGEM BIOLÓGICA E AMBIENTAL

HADASSA DE SOUZA RAMOS PONTES MOURA

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fabríz Sodré

Brasília, DF
2022

Folha de Avaliação

A Tese de Doutorado da aluna **Hadassa de Souza Ramos Pontes Moura**, matrícula nº **16/0167892**, intitulada “*Determinação de micropoluentes de preocupação emergente em amostras de origem biológica e ambiental*”, foi apresentada via plataforma *Microsoft Teams* em 27 de janeiro de 2022 sendo avaliado pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Fenando Fabriz Sodré
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Alexandre Fonseca – UnB
Membro Titular

Marco Tadeu Grassi - UFPR
Membro Titular

Anne Hélène Fostier - UNICAMP
Membro Titular

Ana Cristi Basile Dias - UnB
Membro Suplente

O presente trabalho foi considerado aprovado, em 27 de janeiro de 2022.

Dedicatória

Porque Dele e por Ele,
para Ele são todas as coisas.

Agradecimento

À Deus
À minha família
Ao Prof. Dr. Fernando Fabríz Sodré
Aos professores do AQQUA
Às Profas. Angélica Amato e Priscilla
À CAESB
À CODEGO
Aos meus amigos
À Profa Roberta Signini
À Profa Cristina Brandão

Aos três mosqueteiros:
Artur
Fábio
Fernando
Ao INCTAA

Meu carinho, respeito e gratidão.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo quantificar micropoluentes de interesse emergente (MPE) em diferentes matrizes por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) em três contextos diferentes. A primeira parte do trabalho foi baseada na identificação de resíduos de fármacos em águas superficiais impactadas pelo lançamento de efluentes industriais/domésticos do Distrito Agroindustrial de Anápolis (Brasil) foi investigado por análise de substância não alvo combinada com espectrometria de massas de alta resolução (HRMS). Com base nos dados obtidos, e considerando descobertas anteriores sobre a contaminação de águas brasileiras por produtos farmacêuticos e de higiene pessoal, um método para analitos alvo, baseado em extração em fase sólida (SPE), calibração por superposição de matriz (CSM) e LC-MS /MS foi desenvolvido e validado para quantificar 38 MPE em amostras de água coletadas em quatro pontos diferentes a montante e a jusante do local de lançamento de efluentes. O método analítico apresentou linearidade adequada ($R^2 > 0,99$), detectabilidade (LOD até 0,75 ng/L) e precisão ($CV\% \leq 15\%$) para todos os analitos detectados. As concentrações individuais variaram de $1,4 \pm 0,2$ ng/L a $11,7 \pm 0,1$ µg/L. Foi realizada uma avaliação de risco ambiental considerando os quocientes de risco individuais (RQ) para os MPE detectados. Maiores valores de QR foram obtidos para os hormônios norgestrel, estriol e 17- α -etinilstradiol, para os antibióticos sulfametoxazol e ciprofloxacina, para os anti-inflamatórios acetaminofeno, ibuprofeno, diclofenaco e ácido mefenâmico, além de carbamazepina, triclosan e bisfenol-A. Um índice de qualidade da água considerando MPE e parâmetros aquáticos selecionados também foi proposto para proteger a vida aquática. A segunda parte do presente trabalho foi dedicada a investigar como as discussões sobre sazonalidade de MPE em águas podem ser afetadas por regimes de amostragem inadequados. Novamente, um método baseado em SPE, CSM e LC-MS/MS foi desenvolvido e validado para 15 MPE apresentando alta linearidade ($R^2 > 0,99$), detectabilidade (LOD entre 0,75 e 3,0 ng/L), precisão ($CV\% < 17\%$) e recuperações variando entre 22 ± 3 e $77 \pm 3\%$. A presença de MPE foi estudada em amostras do Lago Paranoá (Brasil) coletadas em diferentes escalas temporais, ou seja, durante 14 dias consecutivos nas estações seca e chuvosa. Dez MPE foram frequentemente detectados em todas as amostras. As variações semanais nas concentrações de sete MPE apresentaram variabilidade tão alta quanto a observada para a comparação entre as duas estações, evidenciando possíveis erros no tratamento dos efeitos sazonais. Apenas três MPE (DEET, cafeína e triclosan) apresentam concentrações influenciadas positivamente por aspectos sazonais evidenciando que as observações de sazonalidade são mais bem fundamentadas quando a amostragem é realizada em diferentes escalas temporais, pouco exploradas. Por fim, a terceira parte do trabalho teve como objetivo avaliar a exposição de crianças ao BPA pela análise de amostras de urina. O método analítico, baseado em microextração líquido-líquido, CSM e LC-HRMS/MS, apresentou elevada linearidade ($R^2 \geq 0,998$), detectabilidade (LOD = 0,03 ng/mL), exatidão ($86 \pm 12\%$ de recuperação) e precisão ($CV\% \leq 12\%$). Considerando as 343 amostras de urina investigadas, o BPA foi detectado em 89,5% das amostras, com concentrações variando de 0,11 a 123 ng/mL. Juntamente com dados demográficos, clínicos, socioeconômicos e familiares, nossos resultados indicam que a exposição ao BPA pode estar correlacionada a uma maior probabilidade de obesidade infantil. Outras associações significativas que favorecem a exposição ao BPA estão relacionadas à baixa renda familiar e ao aumento do consumo de produtos industrializados.

Palavras-chave: micropoluentes emergentes, espectrometria de massas, risco ambiental, saúde humana.

Abstract

This work aimed to assess micropollutants of emerging concern (MPE) in different matrices by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS/MS) in three different contexts. The first part of the work was based on the identification of drug residues in surface waters impacted by the discharge of industrial/domestic wastewaters from the Agro-industrial District of Anápolis (Brazil) was investigated by non-target screening combined with high resolution-mass spectrometry (HRMS). Based on the obtained data, and considering previous findings concerning the contamination of Brazilian waters by pharmaceuticals and personal care products, an a method for target analytes, based on solid-phase extraction (SPE), matrix matched calibration (MMC) and LC-MS/MS was developed and validated to quantify 38 MPE in water samples collected in four different points upstream and downstream the wastewater discharge location. The analytical method showed adequate linearity ($R^2 > 0,99$), detectability (LOD up to 0.75 ng/L) and precision ($CV\% \leq 15\%$) for all analytes detected. Individual concentrations ranged from 1.4 ± 0.2 ng/L to 11.7 ± 0.1 $\mu\text{g/L}$. An environmental risk assessment was carried out considering the individual risk ratios (RQ) for the detected MPE. Higher RQ values were obtained for the hormones norgestrel, estriol and etynylstradiol, for the antibiotics sulfamethoxazole and ciprofloxacin, for the anti-inflammatory drugs acetaminophen, ibuprofen, diclofenac and mefenamic acid, in addition to carbamazepine, triclosan and bisphenol-A (BPA). A water quality index considering MPE and selected aquatic parameters was also proposed for protecting aquatic life. The second part of the present work was dedicated to investigate how seasonal-based discussions concerning MPE in waters may be affected by inadequate sampling regimes. Again, a method based on SPE, MMC and LC-MS/MS was developed and validated for 15 MPE presenting high linearity ($R^2 > 0,99$), detectability (LOD between 0.75 and 3.0 ng/L), precision ($CV\% < 17\%$) and recoveries ranging between 22 ± 3 and $77 \pm 3\%$. The presence MPE was studied in Paranoá Lake (Brazil) samples collected under different time scales, i.e., during 14 consecutive days in both dry and rainy seasons. Ten MPE were frequently detected in all samples. Weekly variations in the concentrations of seven MPE presented a variability as high as the observed for the comparison between both seasons, evidencing possible errors in addressing seasonal effects. Only three MPE (DEET, caffeine and triclosan) present concentrations positively influenced by seasonal aspects evidencing that seasonality observations are better supported when sampling is carried out under different and little explored time scales. Finally, the third part of the work aimed to assess the exposure of children to BPA by the analysis on urine samples. The analytical method, based on liquid-liquid microextraction, MMC and LC-HRMS/MS, showed high linearity ($R^2 \geq 0.998$), detectability (LOD = 0.03 ng/mL), accuracy ($86 \pm 12\%$ recovery) and precision ($CV\% \leq 12\%$). Considering the 343 urine samples investigated, BPA was detected in 89.5% of the samples, with concentrations ranging from 0.11 to 123 ng/mL. Together with demographic, clinical, socioeconomic, and family data, our results indicate with that exposure to BPA may be correlated to an increased probability of childhood obesity. Other significant associations that favor BPA exposure are related with low family income and increased consumption of industrialized products.

Key words: emerging pollutants, mass spectrometry, environmental risk assessment, human health.

Sumário

CONTEXTUALIZAÇÃO E OBJETIVOS

1	Contextualização	19
2	Objetivos.....	24
3	Referências Bibliográficas	24

CAPÍTULO 1

*Determinação de micropoluentes emergentes em águas superficiais
impactadas pelo lançamento de efluentes industriais do
Distrito Agroindustrial de Anápolis por SPE-LC/MS/MS*

1	Introdução.....	36
1.1	Crescimento industrial: Uma questão socioeconômica e ambiental.....	36
1.2	Águas residuárias industriais	37
1.3	A indústria farmacêutica no Brasil e no mundo	37
1.3.1	Composição das águas residuárias da indústria farmacêutica.....	38
1.4	Impacto de efluentes industriais sobre corpos aquáticos receptores.....	39
1.5	Fármacos em efluentes industriais	41
1.5.1	Identificação	41
1.5.2	Remoção	43
1.6	Polos farmacêuticos no Brasil e sua relação com o ambiente	44
1.6.1	O Distrito agroindustrial de Anápolis.....	45
2	Objetivos.....	46
3	Materiais e Métodos.....	47
3.1	Reagentes	47
3.2	Preparo de soluções	48
3.3	Área investigada	49
3.4	Amostragem.....	53
3.5	Preparo das amostras	54
3.5.1	Para análise de substâncias não-alvo	54
3.5.2	Para quantificação de substâncias-alvo	57
3.5.3	Para construção de curvas por superposição de matriz	57
3.6	Análises qualitativas e quantitativas de MPE.....	57
3.6.1	Análise de substâncias não-alvo	58
3.6.2	Quantificação de substâncias-alvo.....	59
3.6.3	Transições precursor-produto e parâmetros analito-dependentes	60
3.6.4	Desenvolvimento de gradiente cromatográfico.....	63
3.6.5	Otimização de parâmetros de fonte	63
3.6.6	Quantificação das substâncias alvo	65

3.7	Tratamento dos dados e validação do Método.....	66
3.8	Avaliação de risco ambiental.....	67
3.9	Avaliação da qualidade da água.....	68
3.9.1	Preparo de amostra para análise de qualidade da água.....	68
3.9.2	Avaliação da qualidade da água utilizando IQA	69
4	Resultados e Discussões	70
4.1	Identificação de substância não-alvo	70
4.2	Quantificação de substâncias-alvo.....	75
4.2.1	Condições otimizadas para a separação cromatográfica	75
4.2.2	Otimização dos parâmetros de fonte	77
4.2.3	Desempenho do método analítico.....	78
4.2.4	Concentrações de fármacos e demais MPE nas amostras investigadas ...	80
4.2.5	Comportamento dos MPE durante o período estudado.....	85
4.3	Avaliação de risco ambiental.....	92
4.4	Avaliação da qualidade da água.....	96
4.4.1	Parâmetros de qualidade da água.....	96
4.4.2	Proposta de um IQA visando a proteção da vida aquática frente MPE..	103
5	Conclusões.....	113
6	Referências Bibliográficas	115

CAPÍTULO 2

Variabilidade da concentração de micropoluentes de interesse emergentes nas águas do Lago Paranoá

1	Introdução.....	127
2	Objetivos.....	130
3	Materiais e Métodos.....	130
3.1	Reagentes	131
3.2	Preparo de soluções	131
3.3	Amostragem e preparo de amostra	132
3.4	Quantificação de MPE por LC-MS/MS.....	133
3.5	Validação do Método.....	137
4	Resultados e Discussão.....	139
4.1	Desempenho do método Analítico.....	140
4.2	MPE nas amostras do Lago Paranoá.....	141
4.3	Observações quanto a sazonalidade e padrão de uso.....	144
4.4	Avaliação de risco ambiental.....	152
5	Conclusão	154
6	Referências Bibliográficas	154

CAPÍTULO 3

Determinação de bisfenol A em urina por microextração líquido-líquido e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução

1	Introdução.....	161
2	Objetivos.....	165
3	Materiais e Métodos.....	165
3.1	Reagentes.....	165
3.2	Preparo de Soluções.....	166
3.3	Amostragem de urina.....	166
3.4	Microextração líquido-líquido de bisfenol A.....	167
3.5	Determinação de BPA nas amostras.....	169
3.6	Validação de método.....	171
4	Resultados e Discussão.....	172
4.1	Seleção de parâmetros instrumentais.....	172
4.2	Desempenho do método analítico.....	176
4.3	BPA em amostras de urina.....	180
4.4	Associação da concentração de BPA urinário com excesso de peso em crianças.....	183
5	Conclusões.....	189
6	Referências Bibliográficas.....	190
	CONCLUSÕES GERAIS.....	203

Lista de Abreviaturas e Acrônimos

AAS	Ácido Acetilsalicílico
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACN	Acetonitrila
AF	Fator de risco
AMT	Amitriptilina
AMX	Amoxicilina
ANA	Agência Nacional das Águas
APA	Área de Proteção Ambiental
APCI	Ionização química a pressão atmosférica
ATN	Atenolol
ATZ	Atrazina
BA	Bascarón
BC	Columbia Britânica
BPA	Bisfenol A
BPA	Bisfenol A
BPA-d16	Bisfenol A deuterado
BPP	Bupropiona
BZF	Bezafibrato
CAF	Cafeína
CAF-d9	Cafeína deuterada
CBZ	Carbamazepina
CCME	Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente
CE	Energia de colisão
CFB	Ácido clofibrico
CFX	Cefalexina
CH	Corpo hídrico
CODEGO	Companhia de Desenvolvimento Econômico de Goiás
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT	Carbono orgânico total
cps	ciclos por segundo
CPX	Ciprofloxacina
CR	Corpo receptor
CV	Coefficiente de variação
CXP	Potencial de xiaída
DAIA	Distrito Agroindustrial de Anápolis
DBO	Demanda bioquímica de oxigênio
DCF	Diclofenaco
DEET	N,N dietil-m-toluamida
DIA	Diazepam
DIA-d5	Diazepam deuterado
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DP	Potencial de orifício
DPS	Dapsona
DQO	Demanda química de oxigênio
E1	Estrona
E2	17- β -estradiol
E3	Estriol

EC	Condutividade elétrica
EE2	17- α -Etilnil-estradiol
EP	Potencial de entrada
ER	Receptor estrogênico
ERL	Erlotinib
EsI	Eletro nebulização
ETA	Estação de tratamento de água
EtAc	Acetato de etila
ETE	Estação de tratamento de esgoto
EUA	Estados Unidos da América
FC	Fator de concentração
FOEN	Escritório Federal Suíço para o Meio Ambiente.
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GFB	Gemfibrozil
GNPS	<i>Global Natural Products Social Molecular Networking</i>
HCT	Hidroclorotiazida
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HR-MS	Espectrometria de massas de alta resolução
IBU	Ibuprofeno
IBU-d3	Ibuprofeno deuterado
IDA	<i>Information Dependent Acquisition</i>
IE	Interferente endócrino
IQA	Índice de qualidade da água
JS	à jusante
LC	Cromatografia líquida
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas com formação de íon produto.
LD50	Dose letal para 50% da população
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
MEC	Concentração medida no ambiente
MEF	Ácido mefenâmico
MeOH	Metanol
MO	Matéria orgânica
MPE	micropoluentes emergentes
MT	à montante
NAPQI	N-acetil-p-benzoquinona
NBR	Norma Brasileira
NGT	Levonorgestrel
NOAEL	Concentração máxima sem efeito adverso observado.
NPX	Naproxeno
NSF	Fundação Nacional de Saneamento Norte Americana
NT	Nitrogênio total
NTP	Nortriptilina
OD	Oxigênio dissolvido
OPI	índice de poluição orgânica
PC	Componente principal
PCA	Análise de componentes principais
PCT	Paracetamol

PCT-d4	Paracetamol deuterado
PHP	Produtos de higiene pessoal
PL	Ponto de lançamento
PNEC	Concentração prevista sem efeito adverso
PPTC	precipitação acumulada
PTFE	Politetrafluoretileno
QTOF	Analisado híbrido Quadrupolo -Tempo de vôo
QTRAP	Analisado híbrido quadrupolo - captura de íons
RNT	Ranitidina
RQ	Quociente de risco
RT	Tempo de retenção cromatografico
SAR	Razão de adsorção de sódio
SD	Desvio padrão
SMX	Sulfametoxazol
SPE	Extração em fase sólida
SPY	Sulfapiridina
SST	Sólidos suspensos totais.
STD	Sólidos dissolvidos totais
TALE	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecimento
TCS	Triclosan
TEO	Teobromina
TPS	Tropisetron
UEG	Universidade Estadual do Goiás
USEPA	Agencia de Proteção Ambiental Norte Americana
VLX	Venlafaxina
VMP	Valor máximo permitido

Lista de Figuras

Figura 2.1. Hidrografia de Anápolis (A). Detalhe em vermelho demarca o DAIA (B).....	50
Figura 2.2: Localização do ponto de coleta. PL = ponto de lançamento; MT = ponto à montante; JS = pontos à jusante, ETE-DAIA = estação de tratamento de esgoto do DAIA. Imagem obtida do Google Earth.....	51
Figura 2.3. Ponto lançamento do efluente (A). Em B, é mostrado o aspecto do Córrego Abrahão nas proximidades do lançamento e em C, o ponto PL imediatamente à jusante do lançamento.	51
Figura 2.4. Fotografia ilustrativa dos pontos MT, JS1, JS2 e JS3 no Rio Extrema	53
Figura 2.5. Sistema de extração utilizado. Em A, garrafa contendo amostra, B = peça confeccionada em PTFE para controle de fluxo e pressão, C = cartucho de SPE, D = bomba peristáltica multicanal.....	55
Figura 2.6. Evaporador paralelo (A); sistema utilizado para eluição dos substâncias presentes nos cartuchos de SPE (B) e aspecto dos extratos (C)	56
Figura 2.7: Espectro de massas obtido por IDA. Análise do extrato acidificado a pH 6, analisado em modo positivo no QTOF.....	71
Figura 2.8. Cromatogramas de mistura de padrões analíticos obtidos para as substâncias analisadas em modo negativo (A) e positivo (B).....	76
Figura 2.9. Distribuição em percentis das concentrações dos MPE nos cinco pontos de coleta durante 4 campanhas amostrais. Neste gráfico, o box representa de 25-75% dos valores; × corresponde a 1% e 99%; - (traço) denota valores máximos e mínimos; o quadrado menor representa o valor médio do conjunto de dados e o círculo representa sua mediana.....	83
Figura 2.10: Perfil de variação individual das concentrações das substâncias alvo nos pontos de coleta das quatro primeiras campanhas amostrais.	86
Figura 2.11: Distribuição das somatórias de concentração de MPE por ponto amostral considerando as quatro campanhas amostrais. Neste gráfico, o box representa de 25-75% dos valores; × corresponde a 1% e 99%; - (traço) denota valores máximos e mínimos; o quadrado menor representa o valor médio do conjunto de dados e o círculo representa sua mediana.	89
Figura 2.12. Distribuição percentual das classes terapêuticas de MPE nas amostras de água superficial no ponto PL durante as campanhas amostrais.	90
Figura 2.13. Atenuação percentual da concentração total em relação aos valores determinados em PL e precipitação acumulada.....	91
Figura 2.14: RQ para cada substância detectada nos pontos de coleta durante as quatro campanhas amostrais. RQ <0,01 não representam risco; 0,1> RQ> 1 representam risco em potencial e RQ> 1 equivale a com risco.	94
Figura 2.15. Perfis de variação para os parâmetros de qualidade da água nos pontos de coleta durante as seis campanhas amostrais.	97
Figura 2.16. Memória de cálculo para IQACCME considerando todos os parâmetros físico-químicos. Mostrados valores de excursão não normalizada para os pontos amostrais do corpo hídrico em estudo, durante a primeiras campanha amostral.....	102
Figura 2.17. Gráfico <i>biplot</i> dos autovetores das variáveis em PC1 e PC2 e distribuição dos pontos amostrais nos quadrantes assinalados numericamente.....	106
Figura 2.18. Valores de IQACCME adaptado obtidos para cada ponto amostral durante as 6 campanhas amostrais. Valores mostrados considerando todos os parâmetros físico-químicos (Total) e após a triagem de variáveis (Triagem).....	108
Figura 2.19. Valores de IQACCME adaptado calculados considerando parâmetros físico-químicos obtido na triagem de variáveis (Triagem) e com a inserção dos MPE selecionados (FQ + MPE), considerando as quatro primeiras campanhas amostrais.....	112

Figura 3.1: Localização do ponto amostral no Pier norte do Lago Paranoá e da ETE Brasília Norte. Retirada do Relatório Final de PIBIC do aluno Fábio Nascimento, colaborador em nível de graduação.....	132
Figura 3.2: Cromatogramas de padrões analíticos na concentração 25 µg/L obtidos para as substâncias analisadas em modo negativo (A) e positivo (B)	140
Figura 3.3. Variação da concentração de DEET, TCS e CAF investigados no Lago Paranoá durante os períodos chuvoso, à esquerda, e de seca, à direita. Barras de erro indicam o desvio-padrão para cada valor individual, a linha azul representa o valor médio (χ_m) ao longo do período e as linhas vermelhas o desvio-padrão combinado sobre χ_m	147
Figura 3.4. Variação da concentração de SMX, IBU, BPA e ATN investigados no Lago Paranoá durante os períodos chuvoso, à esquerda, e de seca, à direita. Barras de erro indicam o desvio-padrão para cada valor individual, a linha azul representa o valor médio (χ_m) ao longo do período e as linhas vermelhas o desvio-padrão combinado sobre χ_m	148
Figura 3.5. Variação da concentração de CBZ, VLX e ATZ investigados no Lago Paranoá durante os períodos chuvoso, à esquerda, e de seca, à direita. Barras de erro indicam o desvio-padrão para cada valor individual, a linha azul representa o valor médio (χ_m) ao longo do período e as linhas vermelhas o desvio-padrão combinado sobre χ_m	149
Figura 3.6: variações diárias nos valores de RQ para os analitos avaliados. Neste gráfico, o box representa de 25-75% dos valores; × corresponde a 1% e 99%; - (traço) denota valores máximos e mínimos; o quadrado menor representa o valor médio dos dados e o círculo representa a mediana dos dados.	154
Figura 4.1: Amostra de urina após descongelamento lento (A), homogeneizada (B) e após a primeira etapa de centrifugação (C)	169
Figura 4.2: Separação das fases orgânica e aquosa (A), turbidez (B) e detalhe mostrando a emulsão contendo proteínas entre as fases (C).	170
Figura 4.3: Espectro de massas obtido por infusão direta para BPA (A) e BPA-d16 (B). DP = -80 eV e EC = 25 eV.	174
Figura 4.4: Cromatograma de íons extraído (XIC) obtido para os íons produto de BPA, na concentração de 100 ng/mL, e BPA-d16, com 50 ng/mL. Em cada gráfico, são assinalados os íons produto aos quais os cromatogramas se referem. Em preto está a transição utilizada para quantificação e em vermelho a transição de confirmação. A janela de extração utilizada foi de 0,0005 Da.	176
Figura 4.5: Curva analítica por superposição de matriz com padronização interna para determinação de BPA em amostras de urina.	178
Figura 4.6: Box-plot das concentrações de BPA em amostras de urina. No quadrado central estão representados os percentis 25%, 75% e a mediana. As barras marcadas, representam os percentis 5% e 95%. As barras nas extremidades, já na parte externa ao quadrado marcam os valores mínimo e máximo, e por fim, as marcas em x compreendem de 1 a 99 % das amostras analisadas.	181
Figura 4.7: Histograma de distribuição das amostras de acordo com a faixa de concentração.	182

Lista de Tabelas

Tabela 2.1. Tipos de processos produtivos utilizados na indústria farmacêutica, reagentes empregados, características gerais dos resíduos gerados e exemplos de fármacos produzidos por cada tipo de processo produtivos ¹	38
Tabela 2.2. Analitos investigados, acrônimos, usos primários e procedência dos padrões utilizados neste estudo.....	47
Tabela 2.3: Gradiente de pressão utilizado para a etapa de pré-concentração dos analitos nas amostras de água superficial do ponto PL.	57
Tabela 2.4. Parâmetros a serem ajustados na plataforma GNPS para identificação de substâncias por análise não-alvo e seu significado.....	59
Tabela 2.5: Parâmetros de aquisição usados para determinação das substâncias e dos padrões internos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (QTRAP).	61
Tabela 2.6. Valores dos parâmetros de fonte atribuídos aos níveis inferior e superior para cada fator, a serem utilizados na etapa de otimização multivariada...	64
Tabela 2.7: Matriz de planejamento codificada para realização dos ensaios de otimização para os parâmetros da fonte de ionização por ESI.	64
Tabela 2.8: Equações utilizadas em Análise de Variância e seus respectivos graus de liberdade.	66
Tabela 2.9 Parâmetros de qualidade avaliados nos pontos amostrais, métodos empregados e volume de amostra utilizados para suas determinações.....	68
Tabela 2.10: Variáveis utilizadas para o cálculo do IQACCME, e como são obtidas matematicamente.....	70
Tabela 2.11: Substâncias identificada pela análise não-alvo na amostra do ponto PL, considerando as alíquotas em pH 2, 6 e 10.....	71
Tabela 2.12: Fármacos identificados pela plataforma GNPS na amostra de efluente coletada na saída da ETE-DAIA, e parâmetros utilizados para confirmar a identificação das substâncias não-alvo.	74
Tabela 2.13. Efeitos principais de primeira ordem e seus erros padrão estimados para as condições experimentais avaliadas na etapa de otimização multivariada para os parâmetros da fonte de ionização em ESI.	77
Tabela 2.14. Figuras de mérito das regressões lineares para cada substância investigada e testes F para verificação da significância estatística e falta de ajuste.	79
Tabela 2.15 concentrações individuais das substâncias alvo em µg/L, em cada ponto de coleta durante a as quatro primeiras campanhas amostrais.	81
Tabela 2.16: Valores de PNEC obtidos da literatura para os MPE estudados.....	93
Tabela 2.17. Padrões de qualidade da água para corpo hídrico Classe 2 e valores máximos permitidos segundo a classificação, preconizados pela Resolução CONAMA 357/2005	99
Tabela 2.18. Recomendação de VMP para parâmetros de qualidade da água obtidos de legislações estrangeiras.	100
Tabela 2.19. Valores de IQA CCME calculados para cada campanha amostral, considerando os padrões de qualidade da Resolução CONAMA 357/05 e os 11 parâmetros de qualidade obtidos.	101
Tabela 2.20: Porcentagem explicada, valores de autovalores e autovetores para os parâmetros físico-químicos e dados pluviométricos nas PCS.	105
Tabela 3.1. Analitos investigados, acrônimos, usos primários e procedência dos padrões utilizados neste estudo.	131
Tabela 3.2: Parâmetros de aquisição usados para as determinações das substâncias e dos padrões nas amostras de água do Lago Paranoá.....	135
Tabela 3.3: Figuras de mérito e parâmetros de curva analítica para cada substância analisada.....	141

Tabela 3.4: Recuperação, efeito de matriz e eficiência do método para cada substância analisada.....	142
Tabela 3.5: Concentrações das substâncias em cada amostras de água superficial do Lago Paranoá durante o período chuvoso (11-24 de fevereiro)	144
Tabela 3.6: Concentrações das substâncias em cada amostras de água superficial do Lago Paranoá durante o período seco (15-28 de agosto).	144
Tabela 3.7: Concentrações médias dos analitos estudados durante cada estação climática.....	145
Tabela 3.8. Valores de PNEC obtido da literatura para os MPE estudados, RQ estimados para cada substância.	153
Tabela 4.1: Parâmetros de aquisição usados para determinação de bisfenol A e de seu isótopo deuterado por espectrometria de massas de alta-resolução (QTOF).	171
Tabela 4.2 Valores médios e coeficientes de variação para ensaios de precisão intra-dia (n=1, em triplicata) e inter-dia (n=5, em triplicata).	180
Tabela 4.3 – Associação entre a concentração urinária de BPA e a presença de excesso de peso de acordo com características da amostra (n = 319) ^c	186
Tabela 4.4 - Associação da concentração urinária de BPA e excesso de peso: análise multivariada ^c	190

CONTEXTUALIZAÇÃO E OBJETIVOS

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

Atividades antrópicas como a produção de bens industrializados e o cultivo em larga escala de alimentos e animais de corte se tornaram essenciais para a manutenção do estilo de vida das sociedades modernas. Entretanto, também propiciam a exposição do Homem e do ambiente a diversas substâncias orgânicas potencialmente tóxicas, tanto naturais quanto sintéticas [1]. Substâncias como fármacos [2–5], hormônios [3,6], aditivos alimentares [7], pesticidas [8] dentre outras presentes em materiais plásticos/adesivos [9,10] e produtos de higiene pessoal (PHP) [9,11], fazem parte da composição de inúmeros bens de consumo de uso rotineiro.

Apesar dos benefícios e do conforto resultantes do uso de muitas destas substâncias, efeitos indesejáveis sobre o ambiente [12–14] e a saúde humana [15,16] tem sido atribuídos a muitas delas. Ao contaminar e produzir efeitos indesejáveis em diferentes compartimentos ambientais, muitas destas substâncias têm sido denominadas micropoluentes emergentes (MPE), pois tornaram-se alvo de investigações recentes por parte da comunidade científica. Muitos não estão contemplados em legislações que limitam seu uso e/ou consumo, tampouco há diretrizes amplas para regular sua presença em compartimentos ambientais. Assim, o consumo extensivo e constante pode, além de promover alterações no organismo humano, contaminar o ambiente após excreção e descarte.

Estudos epidemiológicos, conduzidos com matrizes biológicas, constataram que as rotas majoritárias para a exposição humana frente a MPE estão relacionadas aos hábitos alimentares e ao uso constante de produtos industrializados, como PHP, garrafas plásticas reutilizáveis, alimentos enlatados, refeições semiprontas e aditivos alimentares. Estes produtos podem apresentar quantidades apreciáveis de agentes plastificantes e conservantes, dentre os quais podem ser citados os bisfenóis e os ftalatos. Alguns destes MPE são considerados interferentes endócrinos (IE), ou seja, substâncias que podem alterar de diversas maneiras o funcionamento do sistema endócrino [17,18]. A ocorrência de elevadas concentrações de IE em amostras de urina e sangue tem sido associadas a estresse oxidativo [19], danos a estrutura do DNA [20], infertilidade [21] e obesidade [22].

Por meio de estudos *in vivo* e ensaios conduzidos em animais de laboratório, outros potenciais efeitos danosos de MPE sobre a saúde humana tem sido verificados. Foi demonstrada a afinidade do BPA pelos receptores estrogênicos (ER, do

inglês *estrogen receptors*) ER- α e ER- β [23], além do efeito interferente do nonilfenol na glândula tireoide [24]. Já em animais de laboratório, foi observado o aumento da apoptose celular, disfunção reprodutiva em indivíduos adultos e danos na células de Leydig, em ratos *Sprague-Dawley* [25]. As substâncias 4-metilbenzilideno e octil-metoxicinamato, presentes em filtros UV, favorecem o aumento do número de células neoplásicas em linhagens celulares de câncer de mama e se ligam aos ER- α . Ftalatos alteram o perfil de secreção de aspartato, glutamato e ácido gama-aminobutirico (GABA) e promovem alterações histológicas nos testículos, também em ratos [26].

Diante dos possíveis efeitos associados ao uso/consumo de produtos que contenham IE em sua composição, diversos países tem promovido estudos de abrangência local e nacional dedicados a estimar o grau de exposição da população [15,27–31] e, assim, subsidiar revisões de legislações pertinentes. Nesse sentido, a divulgação científica eficiente contribui para a redução do consumo de diversos itens, como os alimentos industrializados [32]. Ainda, a substituição de substâncias consideradas nocivas tem sido sugerida, como para o BPA, presente em diversos materiais plásticos, e para os ftalatos presentes em PHP.

No ambiente, a aporte de MPE deve-se às etapas produtivas, ao consumo e descarte de bens de consumo. Sua ocorrência está associada ao padrão de uso e sua extensão. Nesse sentido, em áreas rurais, os principais MPE são associados às atividades agrícolas e ao manejo de animais de cortes, dentre os quais podem ser citados pesticidas, como triazinas, cloroacetanilidas, organofosforados e carbamatos, além de antibióticos de uso veterinário e hormônios sintéticos aplicados em animais de corte [36–38]. O abate de animais, bem como suas excretas, também contribui para liberar resíduos de medicamentos aos solos. Assim transporte de MPE está associado a eventos de chuvas, sendo seu aporte em corpos hídricos intermitente [37], semelhantemente aos pesticidas aplicados em áreas agricultáveis [38].

No ambiente urbano, após consumo, há excreção, tanto da substância original, quanto de seus metabolitos e produtos de transformação. Estas substâncias são então lançadas nas redes de esgotamento sanitário. Cabe ressaltar que os processos operantes em estações de tratamento de esgoto (ETE) convencionais têm por objetivo a remoção de carga orgânica, nutrientes e microrganismos patológicos, não sendo desenvolvidos e dimensionados para a remoção de MPE. Ainda que diversas substâncias possam ser eficientemente removidas [39–44], as ETEs são consideradas fontes pontuais de poluição, pois contribuem para o lançamento constante de resíduos de fármacos, hormônios,

surfactantes, PHP, dentre outros [41–44]. Neste cenário, mesmo para substância de meia vida curta, quadros de pseudo-persistência têm sido observados [49]. Finalmente, menciona-se aqui que a ausência de condições ideais de saneamento, podem levar ao aporte direto de MPE em corpos aquáticos receptores, notadamente por meio do descarte de esgoto bruto, sem tratamento. Nesse sentido, países considerados em desenvolvimento comumente reportam a existência de aportes de esgotos sem tratamento em corpos hídricos [50–52].

Uma vez nos ambientes aquáticos, os MPE se difundem extensamente, sendo encontrados em águas residuárias [53], naturais [54], subterrâneas [55], marinhas [56] e tratadas para consumo humano [57], além de solos e sedimentos [58]. Devido às diferenças de composição destas matrizes e à diversidade de propriedades físico-químicas dos MPE, suas concentrações e distribuição espaço-temporal no ambiente dificilmente são previsíveis. Cabe mencionar ainda que, nos ambientes urbanos, atividades industriais podem ser responsáveis pelo lançamento diário de toneladas de efluentes parcialmente tratados contendo poluentes diversos, como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, ftalatos, surfactantes, fármacos, óleos e graxas, dentre outros [59–61]. Diante deste cenário, historicamente, MPE raramente têm sido alvos de investigação.

Dentre a ampla variedade de MPE, a ocorrência de substâncias bioativas no ambiente tem gerado grande preocupação, já que são projetadas com a finalidade de desencadear reações em organismos-alvo. Neste caso, frequentemente promovem efeitos não previstos e indesejáveis sobre organismos locais. Fármacos, hormônios e biocidas são alguns dos MPE mais amplamente investigados neste contexto [2, 28,77]. Normalmente, MPE são encontrados no ambiente sob concentrações abaixo daquelas associadas a efeitos tóxicos agudos para a maioria dos organismos aquáticos (LD₅₀, do inglês *lethal dose*, de 50% da população em estudo). Entretanto, mesmo sob concentrações da ordem de µg/L ou ng/L, a biota aquática tem sido fragilizada, sofrendo efeitos crônicos devido a uma exposição constante.

Efeitos indesejáveis incluem o desenvolvimento de bactérias resistentes a tetraciclina e sulfonamidas, em virtude do uso extensivo de biocidas como triclosan e sulfametoxazol [79–82]. Já a presença de IE pode levar ao desenvolvimento de neoplasias (em planária *Schmidtea mediterranea*) [69], má formação de gônadas (em peixe *Cyprinus Carpio*) [70] e má formação óssea (em peixe *Gobiocypris rarus*) [71]. Alguns MPE amplamente utilizados e que são considerados IE são o surfactante 4-n-nonilphenol, o plastificante bisfenol A (BPA), o biocida triclosan, além dos hormônios, estriol e 17- α -

etinilestradiol (E₃, EE₂), os quais estão presentes em diversas formulações farmacêuticas [57,72,73].

Com relação a presença de outros fármacos, estudos reportam que o diazepam, um psicotrópico, possivelmente afeta o sistema imune de moluscos (em gastrópodes *Lymnaea stagnalis*) [74]. Já carbamazepina podem prejudicar o desenvolvimento de ovas de peixes e micro crustáceos [75], enquanto que antidepressivos, como venlafaxina, nortriptilina, podem diminuir a capacidade de resposta frente a presença de predadores [76]. Analgésicos e anti-inflamatórios, como paracetamol e ibuprofeno, também tem sido amplamente investigados. O paracetamol é rapidamente convertido ao metabólito N-acetil-p-benzoquinoemina (NAPQI), responsável por inibir crescimento da alga *Lemna minor*, e causar paralisia no micro crustáceo *Daphnia magna* [77], enquanto que o ibuprofeno apresenta tendencia geral à bioacumulação [54,78].

Considerando estes fatores, bem como diversos dados referentes a ocorrência de MPE em compartimentos ambientais, agências regulatórias têm buscado a inclusão de diversos fármacos e substâncias presentes em PHP em legislações existentes, ao estabelecer as chamadas *Watch lists*. A agência de proteção ambiental Norte Americana (USEPA, do inglês *United States Environmental Protection Agency*) sugeriu a inclusão de 17 α -etinilestradiol, 4-nonilfenol, BPA, e desvenlafaxina na lista de candidatos a contaminantes na água para consumo humano [79]. Na União Europeia, 17 α -etinilestradiol, 17 β -estradiol, estriol e diclofenaco são candidatos propostos para monitoramento de águas superficiais [80,81]. Mesmo que diretivas brasileiras que visam garantir a qualidade da água prevejam a inserção de novos poluentes mediante comprovação de sua ocorrência e risco ambiental, fármacos e muitos outros MPE ainda não são contemplados em legislações brasileiras para ambientes aquáticos.

Conforme apontado por Norvill *et al* [40], apesar da expectativa de inclusão de muitos MPE em legislações que buscam proteger a vida aquática e a saúde humana, medidas regulatórias nos produtos de consumo é improvável. Dessa forma, acredita-se que as melhores abordagens para diminuir o aporte nos ambientes aquáticos envolvem melhorias nas condições de saneamento e nas operações de remoção implementadas em ETEs e em estações de tratamento de água (ETA) [81]. Métodos baseados em osmose reversa [82], ultrafiltração [83], adsorção em materiais carbonáceos [84], tem se mostrado eficientes [85].

Em 2016, o *Swiss Water Act* estabeleceu que, ao longo dos próximos dez anos, ETEs selecionadas devem implementar etapas adicionais, alternativas e economicamente

viáveis de tratamento, como remoção por carbono ativado ou ozonização, visando reduzir em 80% o aporte de MPE em águas superficiais e proteger recursos hídricos. O *Swiss Federal Office for the Environment (FOEN)* [86] listou 12 MPE considerados refratários para monitoramento da eficiência dos tratamentos avançados implementados. Dentre estes MPE, encontram-se os psicotrópicos amissulprida carbamazepina, venlafaxina e citalopram, o diurético hidroclorotiazida, o antibiótico claritromicina, os anti-hipertensivos candesartan e ibesartam além de substâncias de uso industrial como benzotiazol e metil-benzotiazol. Na Suíça, Bourgin *et al* [43] mostraram que a combinação de tratamento biológico com ozonização promoveu remoção necessária dos MPE listados pelo FOEN, além de redução superior a 90% da carga total de MPE no efluente tratado. Os resultados evidenciam que alternativas economicamente viáveis podem promover substancial redução na carga de MPE aportada nos corpos hídricos.

Enquanto diversos países buscam a implementação de etapa avançadas para o tratamento de esgoto visando a redução da carga aportada de MPE, no Brasil são encontradas dificuldades primárias, notadamente no que diz respeito a coleta e tratamento de esgotos. Segundo dados da Secretaria Nacional de Saneamento, [87] cerca de 30% dos municípios brasileiros coletam entre 30-60% do esgoto e mais de 1600 não coleta. Ademais, 28% dos municípios brasileiros tratam menos de um terço do esgoto coletado, além daqueles que não realizam coleta. Dessa forma, avanços no cenário dos MPE apresentam maiores dificuldades.

O conhecimento e o constante monitoramento de MPE no ambiente permitem avançar em pautas preventivas, como a melhoria nas condições de saneamento e o desenvolvimento/implementação de tecnologias de remoção durante o tratamento de águas e efluentes domésticos e industriais. Dados de monitoramento podem subsidiar melhores regulações sobre fontes poluidoras pontuais, bem como ações corretivas e punitivas, de forma a garantir a proteção da vida aquática. Ademais, em diversos países há iniciativas de monitoramento de MPE em matrizes biológicas de forma a identificar a extensão da exposição humana e subsidiar modificações em legislações pertinentes a produtos de higiene pessoal e alimentos industrializados [27,29]. No Brasil, entretanto, o monitoramento institucional de MPE é virtualmente inexistente, tanto para fontes pontuais, quanto para matrizes biológicas, dificultando revisões de legislações. Assim, instrumentos legais falham em apresentar um caráter protetor, tanto para a vida aquática, quanto para a saúde humana.

2 OBJETIVOS

Considerando o exposto, de maneira a aumentar o conhecimento sobre a ocorrência e riscos associados aos MPE, este trabalho buscou investigar a presença de MPE em matrizes aquosas complexas diante de três contextos distintos, porém interligados: produção, consumo/excreção/descarte e exposição humana. Para tanto, foram exploradas diferentes estratégias analíticas de modo a permitir a obtenção de dados pertinentes em cada um dos três trabalhos desenvolvidos e, igualmente, conferir confiabilidade aos resultados produzidos. Nesta tese, cada trabalho será explorado em capítulos separados. Além deste capítulo introdutório, o segundo capítulo será focado na contaminação de águas superficiais por MPE oriundos de fontes industriais. No terceiro capítulo, será estudado o comportamento de MPE em um corpo receptor de efluentes domésticos tratados. Finalmente, o quarto capítulo será dedicado à investigação da exposição humana frente um importante IE, por meio da análise de amostras de origem biológica.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] E.H. Perspectives, D. United, S. Environmental, P. Agency, T.T. Bundesanstalt, I.P. View, Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change ?, (1999). <https://doi.org/10.2307/3434573>.
- [2] A.M.P.T. Pereira, L.J.G. Silva, L.M. Meisel, C.M. Lino, A. Pena, Environmental impact of pharmaceuticals from Portuguese wastewaters: Geographical and seasonal occurrence, removal and risk assessment, *Environ. Res.* (2015). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.09.041>.
- [3] C.D.S. Pereira, L.A. Maranhão, F.S. Cortez, F.H. Pusceddu, A.R. Santos, D.A. Ribeiro, A. Cesar, L.L. Guimarães, Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in a Brazilian coastal zone, *Sci. Total Environ.* 548 (2016) 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.051>.
- [4] B. Shao, D. Chen, J. Zhang, Y. Wu, C. Sun, Determination of 76 pharmaceutical drugs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in slaughterhouse wastewater, *J. Chromatogr. A.* 1216 (2009) 8312–8318. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.08.038>.
- [5] D. Gerrity, R.A. Trenholm, S.A. Snyder, Temporal variability of pharmaceuticals

- and illicit drugs in wastewater and the effects of a major sporting event, *Water Res.* 45 (2011) 5399–5411. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.07.020>.
- [6] M. Gros, M. Petrovic, B. Damia, WASTEWATER TREATMENT PLANTS AS A PATHWAY FOR AQUATIC CONTAMINATION BY PHARMACEUTICALS IN THE EBRO RIVER BASIN (NORTHEAST SPAIN), *Environ. Toxicol. Chem.* 26 (2007) 1553–1562. <http://www.imshealth.com>.
- [7] G. Giovanoulis, A. Alves, E. Papadopoulou, A.P. Cousins, A. Schütze, H.M. Koch, L.S. Haug, A. Covaci, J. Magnér, S. Voorspoels, Evaluation of exposure to phthalate esters and DINCH in urine and nails from a Norwegian study population, *Environ. Res.* (2016). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.07.025>.
- [8] A. Demoliner, S.S. Caldas, F.P. Costa, F.F. Gonçalves, R.M. Clementin, M.R. Milani, E.G. Primel, Development and validation of a method using spe and LC-ESI-MS-MS for the determination of multiple classes of pesticides and metabolites in water samples, *J. Braz. Chem. Soc.* 21 (2010) 1424–1433. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532010000800003>.
- [9] Y. Zhang, J.L. Zhou, Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater, *Chemosphere.* 73 (2008) 848–853. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.06.001>.
- [10] B. Subedi, N. Codru, D.M. Dziejulski, L.R. Wilson, J. Xue, S. Yun, E. Braun-Howland, C. Minihane, K. Kannan, A pilot study on the assessment of trace organic contaminants including pharmaceuticals and personal care products from on-site wastewater treatment systems along Skaneateles Lake in New York State, USA, *Water Res.* 72 (2014) 28–39. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.049>.
- [11] N. Paxéus, Removal of Selected NSAIDs, Gemfibrozil, Carbamazepine, β -blockers, Trimethoprim and Triclosan in Conventional Wastewater Treatment Plants in Five EU Countries and Their Discharge to the Aquatic Environment, n.d.
- [12] V.R. Thamke, S.R. Tapase, K.M. Kodam, Evaluation of risk assessment of new industrial pollutant, ionic liquids on environmental living systems, *Water Res.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.08.046>.
- [13] J. Hua, J. Han, Y. Guo, B. Zhou, The progestin levonorgestrel affects sex differentiation in zebrafish at environmentally relevant concentrations, *Aquat. Toxicol.* 166 (2015) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.06.013>.
- [14] C. Easton, A. Turner, G. Sewell, An evaluation of the toxicity and bioaccumulation of cisplatin in the marine environment using the macroalga, *Ulva lactuca*, *Environ.*

- Pollut. 159 (2011) 3504–3508. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.08.018>.
- [15] G. Schoeters, E. Govarts, L. Bruckers, E. Den Hond, V. Nelen, S. De Henauw, I. Sioen, T.S. Nawrot, M. Plusquin, A. Vriens, A. Covaci, I. Loots, B. Morrens, D. Coertjens, N. Van Larebeke, S. De Craemer, K. Croes, N. Lambrechts, A. Colles, W. Baeyens, Three cycles of human biomonitoring in Flanders – Time trends observed in the Flemish Environment and Health Study, *Int. J. Hyg. Environ. Health.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.11.006>.
- [16] J.Q. Chen, T.R. Brown, J. Russo, Regulation of energy metabolism pathways by estrogens and estrogenic chemicals and potential implications in obesity associated with increased exposure to endocrine disruptors, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1793 (2009) 1128–1143. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2009.03.009>.
- [17] A.L. Heffernan, C. Baduel, L.M.L. Toms, A.M. Calafat, X. Ye, P. Hobson, S. Broomhall, J.F. Mueller, Use of pooled samples to assess human exposure to parabens, benzophenone-3 and triclosan in Queensland, Australia, *Environ. Int.* 85 (2015) 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.09.001>.
- [18] B.A. Rocha, A.G. Asimakopoulos, M. Honda, N.L. da Costa, R.M. Barbosa, F. Barbosa, K. Kannan, Advanced data mining approaches in the assessment of urinary concentrations of bisphenols, chlorophenols, parabens and benzophenones in Brazilian children and their association to DNA damage, *Environ. Int.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.04.023>.
- [19] A.G. Asimakopoulos, J. Xue, B.P. DeCarvalho, A. Iyer, K.O. Abualnaja, S.S. Yaghmoor, T.A. Kumosani, K. Kannan, Corrigendum to “Urinary biomarkers of exposure to 57 xenobiotics and its association with oxidative stress in a population in Jeddah, Saudi Arabia” (*Environ. Res.* 150 (2016) 573–581)(S0013935115301559)(10.1016/j.envres.2015.11.029), *Environ. Res.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.12.005>.
- [20] B.A. Rocha, A.G. Asimakopoulos, F. Barbosa, K. Kannan, Urinary concentrations of 25 phthalate metabolites in Brazilian children and their association with oxidative DNA damage, *Sci. Total Environ.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.193>.
- [21] D. Caserta, F. Ciardo, G. Bordi, C. Guerranti, E. Fanello, G. Perra, F. Borghini, C. La Rocca, S. Tait, B. Bergamasco, L. Stecca, R. Marci, G. Lo Monte, I. Soave, S. Focardi, A. Mantovani, M. Moscarini, Correlation of endocrine disrupting chemicals serum levels and white blood cells gene expression of nuclear receptors

- in a population of infertile women, *Int. J. Endocrinol.* 2013 (2013).
<https://doi.org/10.1155/2013/510703>.
- [22] N. Khalil, J.R. Ebert, L. Wang, S. Belcher, M. Lee, S.A. Czerwinski, K. Kannan, Bisphenol A and cardiometabolic risk factors in obese children, *Sci. Total Environ.* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.088>.
- [23] L.N. Vandenberg, R. Hauser, M. Marcus, N. Olea, W. V. Welshons, Human exposure to bisphenol A (BPA), *Reprod. Toxicol.* (2007).
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.010>.
- [24] Y. He, J. Yang, S. Huang, R. Liu, H. Liu, D. Zheng, Q. Huang, Y. Yang, C. Liu, Protective effect of mulberry crude extract against nonylphenol-induced thyroid disruption by inhibiting the activity of deiodinase in rats, *Gen. Comp. Endocrinol.* 270 (2019) 90–95. <https://doi.org/10.1016/J.YGCEN.2018.10.010>.
- [25] P. Duan, B. Liu, C.L.M. Morais, J. Zhao, X. Li, J. Tu, W. Yang, C. Chen, M. Long, X. Feng, F.L. Martin, C. Xiong, 4-Nonylphenol effects on rat testis and sertoli cells determined by spectrochemical techniques coupled with chemometric analysis, *Chemosphere.* 218 (2019) 64–75.
<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2018.11.086>.
- [26] O.J. Ponzio, C. Silvia, Evidence of reproductive disruption associated with neuroendocrine changes induced by UV–B filters, phthalates and nonylphenol during sexual maturation in rats of both gender, *Toxicology.* 311 (2013) 41–51.
<https://doi.org/10.1016/J.TOX.2013.05.014>.
- [27] H.M. Koch, M. Rütger, A. Schütze, A. Conrad, C. Palmke, P. Apel, T. Brüning, M. Kolossa-Gehring, Phthalate metabolites in 24-h urine samples of the German Environmental Specimen Bank (ESB) from 1988 to 2015 and a comparison with US NHANES data from 1999 to 2012, *Int. J. Hyg. Environ. Health.* (2017).
<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.11.003>.
- [28] H.-J. Lehmler, B. Liu, M. Gadogbe, W. Bao, Exposure to Bisphenol A, Bisphenol F, and Bisphenol S in U.S. Adults and Children: The National Health and Nutrition Examination Survey 2013–2014, *ACS Omega.* (2018).
<https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00824>.
- [29] C. Dereumeaux, C. Fillol, M.A. Charles, S. Denys, The French human biomonitoring program: First lessons from the perinatal component and future needs, *Int. J. Hyg. Environ. Health.* (2017).
<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.11.005>.

- [30] T.E. Arbuckle, K. Davis, L. Marro, M. Fisher, M. Legrand, A. LeBlanc, E. Gaudreau, W.G. Foster, V. Choerung, W.D. Fraser, Phthalate and bisphenol A exposure among pregnant women in Canada - Results from the MIREC study, *Environ. Int.* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.02.010>.
- [31] B.K. Schindler, M. Esteban, H.M. Koch, A. Castano, S. Koslitz, A. Cañas, L. Casteleyn, M. Kolossa-Gehring, G. Schwedler, G. Schoeters, E. Den Hond, O. Sepai, K. Exley, L. Bloemen, M. Horvat, L.E. Knudsen, A. Joas, R. Joas, P. Biot, D. Aerts, A. Lopez, O. Huetos, A. Katsonouri, K. Maurer-Chronakis, L. Kasparova, K. Vrbik, P. Rudnai, M. Naray, C. Guignard, M.E. Fischer, D. Ligocka, B. Janasik, M.F. Reis, S. Namorado, C. Pop, I. Dumitrascu, K. Halzlova, E. Fabianova, D. Mazej, J.S. Tratnik, M. Berglund, B. Jönsson, A. Lehmann, P. Crettaz, H. Frederiksen, F. Nielsen, H. McGrath, I. Nesbitt, K. De Cremer, G. Vanermen, G. Koppen, M. Wilhelm, K. Becker, J. Angerer, The European COPHES/DEMOCOPHES project: Towards transnational comparability and reliability of human biomonitoring results, *Int. J. Hyg. Environ. Health.* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.12.002>.
- [32] A.K. Sakhi, A. Sabaredzovic, E. Cequier, C. Thomsen, Phthalate metabolites in Norwegian mothers and children: Levels, diurnal variation and use of personal care products, *Sci. Total Environ.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.109>.
- [33] K. Noguera-Oviedo, D.S. Aga, Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment, *J. Hazard. Mater.* 316 (2016) 242–251. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.04.058>.
- [34] V.C. Schreiner, E. Szöcs, A.K. Bhowmik, M.G. Vijver, R.B. Schäfer, Pesticide mixtures in streams of several European countries and the USA, *Sci. Total Environ.* (2016). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.163>.
- [35] M. Gonzalez-Rey, N. Tapie, K. Le Menach, M.H. Dévier, H. Budzinski, M.J. Bebianno, Occurrence of pharmaceutical compounds and pesticides in aquatic systems, *Mar. Pollut. Bull.* (2015). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.029>.
- [36] N. Åkerblom, Agricultural pesticide toxicity to aquatic organisms-a literature review, 2004. <https://pdfs.semanticscholar.org/0dd6/9c43ab14186e4401766e80f5dab88070197e.pdf> (accessed December 29, 2018).

- [37] R.N. de S. Lima, C.B. de M. Ribeiro, C.C.F. Barbosa, O.C.R. Filho, Estudo da poluição pontual e difusa na baía de contribuição do reservatório da usina hidrelétrica de Funil utilizando modelagem espacialmente distribuída em Sistema de Informação Geográfica, *Eng. Sanitária e Ambient.* 21 (2016) 139–150. <https://doi.org/10.1590/S1413-41520201600100127676>.
- [38] T. Smital, T. Luckenbach, R. Sauerborn, A.M. Hamdoun, R.L. Vega, D. Epel, Emerging contaminants - Pesticides, PPCPs, microbial degradation products and natural substances as inhibitors of multixenobiotic defense in aquatic organisms, *Mutat. Res. - Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 552 (2004) 101–117. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.06.006>.
- [39] P. Verlicchi, M. Al Aukidy, E. Zambello, Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review, *Sci. Total Environ.* 429 (2012) 123–155. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.028>.
- [40] Z.N. Norvill, A. Shilton, B. Guieysse, Emerging contaminant degradation and removal in algal wastewater treatment ponds: Identifying the research gaps, *J. Hazard. Mater.* 313 (2016) 291–309. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2016.03.085>.
- [41] L. Mai, B. van den Akker, J. Du, R. Kookana, H. Fallowfield, Removal of chemicals of concern by high rate nitrifying trickling filters, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 91 (2016) 3070–3078. <https://doi.org/10.1002/jctb.4938>.
- [42] S.A. Snyder, Occurrence, treatment, and toxicological relevance of EDCs and pharmaceuticals in water, *Ozone Sci. Eng.* 30 (2008) 65–69. <https://doi.org/10.1080/01919510701799278>.
- [43] M. Bourgin, B. Beck, M. Boehler, E. Borowska, J. Fleiner, E. Salhi, R. Teichler, U. von Gunten, H. Siegrist, C.S. McArdell, Evaluation of a full-scale wastewater treatment plant upgraded with ozonation and biological post-treatments: Abatement of micropollutants, formation of transformation products and oxidation by-products, *Water Res.* 129 (2018) 486–498. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.10.036>.
- [44] N.H. Tran, M. Reinhard, K.Y.H. Gin, Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review, *Water Res.* 133 (2018) 182–207. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.029>.

- [45] A.M. de L. Barros, *Modelagem da Poluição Pontual e Difusa Ipojuca*, Universidade Federal de Pernambuco, 2008.
- [46] R. Colaço, P.G. Peralta-Zamora, E.C. Gomes, *Poluição por resíduos contendo compostos farmacologicamente ativos: Aspectos ambientais, geração a partir dos esgotos domésticos e a situação do Brasil*, *Rev. Ciências Farm. Básica e Apl.* (2014).
- [47] L.K. Dodgen, W.R. Kelly, S. V. Panno, S.J. Taylor, D.L. Armstrong, K.N. Wiles, Y. Zhang, W. Zheng, *Characterizing pharmaceutical, personal care product, and hormone contamination in a karst aquifer of southwestern Illinois, USA, using water quality and stream flow parameters*, *Sci. Total Environ.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.103>.
- [48] L.H.M.L.M. Santos, M. Gros, S. Rodriguez-Mozaz, C. Delerue-Matos, A. Pena, D. Barceló, M.C.B.S.M. Montenegro, *Contribution of hospital effluents to the load of pharmaceuticals in urban wastewaters: Identification of ecologically relevant pharmaceuticals*, *Sci. Total Environ.* 461–462 (2013) 302–316. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.077>.
- [49] A.J. Ebele, M. Abou-Elwafa Abdallah, S. Harrad, *Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment*, *Emerg. Contam.* 3 (2017) 1–16. <https://doi.org/10.1016/J.EMCON.2016.12.004>.
- [50] D. Álvarez-Muñoz, S. Rodríguez-Mozaz, A.L. Maulvault, A. Tediosi, M. Fernández-Tejedor, F. Van den Heuvel, M. Kotterman, A. Marques, D. Barceló, *Occurrence of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in macroalgae, bivalves, and fish from coastal areas in Europe*, *Environ. Res.* (2015). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.09.018>.
- [51] L. Rizzo, S. Malato, D. Antakyali, V.G. Beretsou, M.B. Đolić, W. Gernjak, E. Heath, I. Ivancev-Tumbas, P. Karaolia, A.R. Lado Ribeiro, G. Mascolo, C.S. McArdell, H. Schaar, A.M.T. Silva, D. Fatta-Kassinos, *Consolidated vs new advanced treatment methods for the removal of contaminants of emerging concern from urban wastewater*, *Sci. Total Environ.* 655 (2019) 986–1008. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.265>.
- [52] D. White, D.J. Lapworth, M.E. Stuart, P.J. Williams, *Hydrochemical profiles in urban groundwater systems: New insights into contaminant sources and pathways in the subsurface from legacy and emerging contaminants*, *Sci. Total Environ.* 562 (2016) 962–973. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.054>.

- [53] R. Dafouz, N. Cáceres, J.L. Rodríguez-Gil, N. Mastroianni, M. López de Alda, D. Barceló, Á.G. de Miguel, Y. Valcárcel, Does the presence of caffeine in the marine environment represent an environmental risk? A regional and global study, *Sci. Total Environ.* 615 (2018) 632–642. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.155>.
- [54] M.J. Benotti, R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in U.S. drinking water, *Environ. Sci. Technol.* (2009). <https://doi.org/10.1021/es801845a>.
- [55] E. Pérez-Carrera, M. Hansen, V.M. León, E. Björklund, K.A. Krogh, B. Halling-Sørensen, E. González-Mazo, Multiresidue method for the determination of 32 human and veterinary pharmaceuticals in soil and sediment by pressurized-liquid extraction and LC-MS/MS, in: *Anal. Bioanal. Chem.*, 2010: pp. 1173–1184. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3862-x>.
- [56] P. Pothitou, D. Voutsas, Endocrine disrupting compounds in municipal and industrial wastewater treatment plants in Northern Greece, *Chemosphere.* 73 (2008) 1716–1723. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.037>.
- [57] M. Castillo, D. Barcelo, A.S. Pereira, F.R. Aquino Neto, Characterization of organic pollutants in industrial effluents by high-temperature gas chromatography^mass spectrometry, n.d.
- [58] D.C. Maciel, J.R.B. de Souza, S. Taniguchi, M.C. Bicego, E. Zanardi-Lamardo, Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in a an urbanized tropical estuary and adjacent shelf, Northeast of Brazil, *Mar. Pollut. Bull.* (2015). <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.051>.
- [59] D. Fatta-kassinos, S. Meric, A. Nikolaou, Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research, *Anal. Bioanal. Chem.* 399 (2011) 251–275. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4300-9>.
- [60] X. Ji, Q. Shen, F. Liu, J. Ma, G. Xu, Y. Wang, M. Wu, Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai ; China, *J. Hazard. Mater.* 235–236 (2012) 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.040>.
- [61] A. Selvam, D. Xu, Z. Zhao, J.W.C. Wong, Fate of tetracycline, sulfonamide and fluoroquinolone resistance genes and the changes in bacterial diversity during composting of swine manure, *Bioresour. Technol.* (2012).

- <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.045>.
- [62] M.M. dos Santos, F.D.A. Brehm, T.C. Filippe, H.G. Knapik, J.C.R. de Azevedo, Occurrence and risk assessment of parabens and triclosan in surface waters of southern Brazil : a problem of emerging compounds in an emerging country, *Rev. Bras. Recur. Hídricos*. 21 (2016) 603–617.
- [63] L.H. Nowell, P.W. Moran, T.S. Schmidt, J.E. Norman, N. Nakagaki, M.E. Shoda, B.J. Mahler, P.C. Van Metre, W.W. Stone, M.W. Sandstrom, M.L. Hladik, Complex mixtures of dissolved pesticides show potential aquatic toxicity in a synoptic study of Midwestern U.S. streams, *Sci. Total Environ.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.156>.
- [64] W. Cheng, H. Chen, C. Su, S. Yan, Abundance and persistence of antibiotic resistance genes in livestock farms: A comprehensive investigation in eastern China, *Environ. Int.* (2013). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.08.023>.
- [65] H. Heuer, H. Schmitt, K. Smalla, Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields, *Curr. Opin. Microbiol.* (2011). <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.009>.
- [66] J.-P. Wu, M.-H. Li, The use of freshwater planarians in environmental toxicology studies: Advantages and potential, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 161 (2018) 45–56. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2018.05.057>.
- [67] X. Zhou, Z. Yang, Z. Luo, H. Li, G. Chen, Endocrine disrupting chemicals in wild freshwater fishes: Species, tissues, sizes and human health risks, *Environ. Pollut.* 244 (2019) 462–468. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2018.10.026>.
- [68] X. Fan, L. Wu, T. Hou, J. He, C. Wang, Y. Liu, Z. Wang, Maternal Bisphenol A exposure impaired endochondral ossification in craniofacial cartilage of rare minnow (*Gobiocypris rarus*) offspring, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.100>.
- [69] M.M. dos Santos, F. de A. Brehm, T.C. Filippe, H.G. Knapik, J.C.R. de Azevedo, Occurrence and risk assessment of parabens and triclosan in surface waters of southern Brazil: a problem of emerging compounds in an emerging country, *RBRH*. (2016). <https://doi.org/10.1590/2318-0331.011616018>.
- [70] M.J. Benotti, R.A. Trenholm, B.J. Vanderford, J.C. Holady, B.D. Stanford, S.A. Snyder, Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in U . S . Drinking Water, *Environ. Sci. Technol.* 43 (2009) 597–603.
- [71] M.F.Ã. Rahman, E.K. Yanful, S.Y. Jasim, Occurrences of endocrine disrupting

- compounds and pharmaceuticals in the aquatic environment and their removal from drinking water : Challenges in the context of the developing world, *DES*. 248 (2009) 578–585. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.05.105>.
- [72] S. Kleywegt, V. Pileggi, P. Yang, C. Hao, X. Zhao, C. Rocks, S. Thach, P. Cheung, B. Whitehead, Science of the Total Environment Pharmaceuticals , hormones and bisphenol A in untreated source and finished drinking water in Ontario , Canada — Occurrence and treatment efficiency, *Sci. Total Environ.* 409 (2011) 1481–1488. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.01.010>.
- [73] M. Gust, M. Fortier, J. Garric, M. Fournier, F. Gagné, Effects of short-term exposure to environmentally relevant concentrations of different pharmaceutical mixtures on the immune response of the pond snail *Lymnaea stagnalis*, *Sci. Total Environ.* 445–446 (2013) 210–218. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2012.12.057>.
- [74] E.J. van den Brandhof, M. Montforts, Fish embryo toxicity of carbamazepine, diclofenac and metoprolol, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73 (2010) 1862–1866. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.08.031>.
- [75] M.M. Schultz, E.T. Furlong, D.W. Kolpin, S.L. Werner, H.L. Schoenfuss, L.B. Barber, V.S. Blazer, D.O. Norris, A.M. Vajda, Antidepressant pharmaceuticals in two U.S. effluent-impacted streams: Occurrence and fate in water and sediment and selective uptake in fish neural tissue, *Environ. Sci. Technol.* (2010). <https://doi.org/10.1021/es9022706>.
- [76] B. Nunes, S.C. Antunes, J. Santos, L. Martins, B.B. Castro, Toxic potential of paracetamol to freshwater organisms: A headache to environmental regulators?, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 107 (2014) 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.05.027>.
- [77] F. Artacho-Cordón, J.P. Arrebola, O. Nielsen, P. Hernández, N.E. Skakkebaek, M.F. Fernández, A.M. Andersson, N. Olea, H. Frederiksen, Assumed non-persistent environmental chemicals in human adipose tissue; matrix stability and correlation with levels measured in urine and serum, *Environ. Res.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.030>.
- [78] United States Environmental Protection Agency., Draft CCL 5 Chemicals, 2021. <https://www.epa.gov/ccl/draft-ccl-5-chemicals> (accessed January 10, 2022).
- [79] A. Jurado, M. Walther, M.S. Díaz-Cruz, Occurrence, fate and environmental risk assessment of the organic microcontaminants included in the Watch Lists set by

- EU Decisions 2015/495 and 2018/840 in the groundwater of Spain, *Sci. Total Environ.* 663 (2019) 285–296. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.270>.
- [80] M.O. Barbosa, N.F.F. Moreira, A.R. Ribeiro, M.F.R. Pereira, A.M.T. Silva, Occurrence and removal of organic micropollutants: An overview of the watch list of EU Decision 2015/495, *Water Res.* 94 (2016) 257–279. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.047>.
- [81] A. Egea-Corbacho Lopera, S. Gutiérrez Ruiz, J.M. Quiroga Alonso, Removal of emerging contaminants from wastewater using reverse osmosis for its subsequent reuse: Pilot plant, *J. Water Process Eng.* 29 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100800>.
- [82] J.L. Acero, F.J. Benitez, F.J. Real, F. Teva, Removal of emerging contaminants from secondary effluents by micellar-enhanced ultrafiltration, *Sep. Purif. Technol.* 181 (2017) 123–131. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.03.021>.
- [83] C. Sophia A., E.C. Lima, Removal of emerging contaminants from the environment by adsorption, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 150 (2018) 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.026>.
- [84] E. Rodriguez, M. Campinas, J.L. Acero, M.J. Rosa, Investigating PPCP Removal from Wastewater by Powdered Activated Carbon/Ultrafiltration, *Water. Air. Soil Pollut.* 227 (2016). <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2870-7>.
- [85] FOEN, Swiss Federal Office for the Environment (FOEN), (n.d.). <https://www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/education/news-releases.msg-id-59323.html> (accessed May 1, 2021).

CAPÍTULO 2

Determinação de micropoluentes emergentes em águas superficiais impactadas pelo lançamento de efluentes industriais do Distrito Agroindustrial de Anápolis por SPE-LC/MS/MS

1 INTRODUÇÃO

1.1 Crescimento industrial: Uma questão socioeconômica e ambiental

As atividades industriais oferecem diversos bens necessários ao estilo de vida da sociedade, tanto no meio urbano quanto no rural. Em contrapartida, há também a produção de grandes quantidades de resíduos que devem ser gerenciados [88]. Durante décadas, devido à insuficiência de legislações pertinentes, unidades industriais de diversos países lançavam seus efluentes sem tratamento adequado em corpos hídricos e dispunham de demais rejeitos em aterros que não apresentavam a estrutura necessária para contê-los [89,90]. Neste cenário, a contaminação de solos e águas propiciou situações de risco à saúde humana [91] e ao ambiente [92,93]. De maneira a conter os danos causados, foram criados vários dispositivos legais como o *Clear Water Act* nos Estados Unidos da América e a *Water Framework Directive* na Europa [60,94].

Nesse sentido, é possível que o enrijecimento das legislações ambientais nos países desenvolvidos, tenha favorecido o crescimento industrial nos países de economias emergentes, onde os custos de implementação são menores e as regulações ambientais são menos exigentes [95]. Nestes países, o estabelecimento de parques industriais proporciona rápido crescimento econômico, gerando receitas milionárias e oportunidades de emprego [96,97]. Apesar dos benefícios, o impacto destes parques industriais geralmente não é considerado de modo apropriado e a degradação ambiental tem sido frequente e acelerada [96,98], notadamente nos recursos hídricos [99].

Parques industriais costumam ser instalados na proximidades de corpos aquáticos de modo a suprir a demanda hídrica das indústrias e receber os rejeitos líquidos produzidos [98] agravando a escassez de água para outros usos [100], a poluição ambiental e reduzindo a biodiversidade. Este quadro de torna-se ainda mais preocupante devido ao crescimento populacional acelerado destas regiões diante deste cenário de expansão industrial, exercendo ainda mais pressão sobre os recursos hídricos. Nesse sentido, estudos apontam que a falta de fiscalização adequada, o baixo investimento em tecnologias de tratamento e a corrupção [101] inviabilizam o monitoramento ambiental e, por consequência, o levantamento de dados necessários para elaborar metas e traçar estratégias visando o gerenciamento adequado de recursos hídricos. [88,100].

1.2 Águas residuárias industriais

O rejeito líquido industrial é uma mistura complexa que pode conter uma ampla variedade de contaminantes orgânicos e inorgânicos, biodegradáveis ou não. Apesar de diferentes indústrias produzirem águas residuárias com características bastante distintas, comumente contém polifosfatos, espécies nitrogenadas (nitrato, nitrito, amônio) e de enxofre (sulfatos, sulfetos e sulfitos) [102], além de solventes e substâncias orgânicas, como surfactantes, compostos fenólicos, aromáticos, organoclorados, além de resíduos biológicos [60,103,104].

No Brasil, segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) [105], as águas residuárias industriais requerem alguma etapa de tratamento prévio capaz de inativar substâncias de elevada toxicidade e/ou micro-organismos patológicos, satisfazendo aos critérios especificados pela Norma Brasileira (NBR) 9800/1987, para então serem misturadas com o esgoto sanitário e enviadas para uma estação de tratamento de esgoto (ETE) convencional onde o efluente final deve estar em conformidade com o estabelecido pela Resolução Federal nº430/2011 promulgada pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) [106]. Entretanto, é comum que parques industriais agreguem indústrias de diferentes tipos de modo que seus rejeitos líquidos apresentem características físico-químicas e composição distintas. Assim, de modo ideal, cada tipo de empreendimento necessitaria de um tratamento específico baseado em tecnologias diversas, como ozonização [107,108], microfiltração [109,110], eletrolise [111], processos oxidativos avançados [112], dentre outros [113].

1.3 A indústria farmacêutica no Brasil e no mundo

Segundo a plataforma de dados de mercado *Statista* [114], a indústria farmacêutica gerou em 2019 receita global de cerca de 1,25 trilhões de dólares, sendo que este mercado está em crescimento devido, principalmente, ao aumento do consumo de medicamentos e ao desenvolvimento de novos fármacos, os quais tem proporcionado melhorias na qualidade de vida, diminuído a taxa de mortalidade de diversas doenças e proporcionado bem estar à pacientes portadores de diversas patologias. Neste escopo, o Brasil está consolidado como o sexto mercado farmacêutico mundial, com aumento de 11,48% da receita do setor no quadriênio 2014-2018 e previsão de aumento de mais 10% até 2023. Possivelmente, isto se deve à transferência de setores de pesquisa e desenvolvimento tanto para o Brasil quanto para outras economias emergentes, como Índia, Colômbia e China [95].

1.3.1 Composição das águas residuárias da indústria farmacêutica

Efluentes provenientes de indústrias farmacêuticas contêm solventes, catalizadores, reagentes, intermediários, produtos, além de surfactantes utilizados em formulações e procedimentos de limpeza e desinfecção de reatores. Suas características dependem do princípio ativo e podem variar em termos de quantidade, rota e tempo de produção [115]. Comumente, são gerados a partir de três tipos de processos produtivos: síntese química, fermentação e extração de produtos naturais de origem vegetal ou animal. Dentre estes, a síntese química tem sido a mais empregada, utilizando uma grande quantidade de reagentes orgânicos e inorgânicos, tanto durante a síntese, quanto nos processos de purificação. A Tabela 2.1 apresenta algumas classes de medicamentos e a via majoritária pelos quais são produzidos.

Tabela 2.1. Tipos de processos produtivos utilizados na indústria farmacêutica, reagentes empregados, características gerais dos resíduos gerados e exemplos de fármacos produzidos por cada tipo de processo produtivos¹.

Processo Produtivo	Reagentes comumente utilizados	Características gerais do rejeito líquido	Classes de fármacos produzidos
Síntese Química	Acetona, benzeno, tolueno, clorofórmio, diclorometano, etilenoglicol, hexano, metanol, xilenos	Catalisadores, subprodutos, surfactantes, óleos e graxas altos valores de DBO, DQO, SST, maior amplitude de variação no pH (1- 11)	Antibióticos, Anti-histamínicos, Antianginosos Estimulantes do SNC ² Hormônios
Extração de Produtos Naturais	Amônia, fenol, tolueno, clorofórmio	Restos de tecido animal, raízes de plantas e possuem baixos valores de DBO, DQO, SST e pH variando entre 6-8	Insulinas Vacinas Agentes Hematológicos Antibióticos
Fermentação	Inóculo, amido, fosfatos, metanol, acetona	Elevado teor de açúcares e nutrientes, meio de cultura e tem altos valores de DBO, DQO, SST, com pH entre 4-8	Antineoplásicos Esteroides
Formulação	Revestimentos, veículos, espessantes	Comprimidos rejeitados e surfactantes, solventes baixos valores de DBO, DQO, SST e pH variando entre 6-8	-

¹Adaptada da referência [115]; ² SNC: Sistema nervoso central.

Diversos reagentes usados na produção de medicamentos, como benzeno, diclorobenzeno, clorofórmio, diclorometano, fenol e tolueno, estão listados como poluentes prioritários no *Clear Water Act* [116], na *Water Framework Directive* [94], assim como também contemplados nas resoluções do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) 357/2005[117] e 430/2011 [106]. Estas regulações estabelecem valores máximos permitidos para a vários poluentes em águas naturais, residuárias e em corpos hídricos receptores dos rejeitos.

Grande parte dos estudos realizados com águas residuárias industriais, incluindo farmacêuticas, avalia o enquadramento do efluente junto à legislação pertinente com base em parâmetros como demanda bioquímica e química de oxigênio (DBO e DQO, respectivamente), sólidos suspensos totais (SST), oxigênio dissolvido (OD), pH, sulfatos, fósforo total, nitrogênio total e amoniacal, poluentes persistentes, fenóis, solventes e ensaios diversos de toxicidade [118,119]. Efluentes de indústrias farmacêuticas apresentam valores típicos de DBO entre 380 e 10200 mg/L, DQO entre 5000 e 60000 mg/L, fósforo orgânico entre 3 e 120 mg/L, compostos nitrogenados (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-) entre 4,8 e 980 mg/L, SST entre 40 e 2000 mg/L, alcalinidade entre 900 e 1000 mg/L e cloreto de até 3380 mg/L [120–123]. Geralmente, os valores excedem as diretrizes supracitadas, mesmos após tratamento convencional.

No Brasil, quadro semelhante pode ser observado. Da Costa *et al* [124] monitoraram, ao longo de 14 anos consecutivos, 26 parâmetros de qualidade da água em corpos hídricos de Minas Gerais e verificaram que frequentemente são identificados parâmetros que ultrapassaram as diretrizes estabelecidas, particularmente em próximos às regiões industrializadas. A recorrência destas situações demonstra a ineficiência de instrumentos legais de monitoramento e controle. Ademais, estudos também estimam que cerca da metade dos efluentes industriais são descartados sem tratamento prévio específico [119,121] ou são misturados com o esgoto doméstico como forma de se adequar quanto aos limites para SST, DBO e DQO [118].

1.4 Impacto de efluentes industriais sobre corpos aquáticos receptores

Índices de qualidade da água (IQA) têm sido amplamente utilizados para dimensionar o impacto de atividades humanas, incluindo a industriais, sobre corpos hídricos receptores [125–127]. Os IQA traduzem, de maneira numérica, uma avaliação sistemática da qualidade da água com base em diversos parâmetros físicos, químicos e biológicos, permitindo comparações entre diferentes ambientes sob em escalas espaço-temporais distintas [128]. Ao valor numérico do IQA, usualmente entre 0 a 100, associa-se um estado de qualidade, descrito com excelente, bom, regular, ruim e péssimo [129].

Dentre os IQA mais amplamente utilizados, encontram-se os propostos pela *US National Sanitation Foundation* (NSF), pelo *Canadian Council of Ministers of the Environment* (CCME), pela *Columbia Britânica* (IQABC) e o índice espanhol proposto por *Bascaron* (BA) [130]. Menciona-se ainda o índice de poluição orgânica (OPI, do

inglês *Organic Pollution Index*) e o SAR (*Sodium Adsorption Ratio*). Cada índice lança mão de diferentes algoritmos matemáticos para estimar a qualidade da água segundo critérios pré-estabelecidos e para atender a diferentes finalidades, como exemplo, o consumo humano. O SAR é utilizado em avaliações da qualidade da água para fins de irrigação e o OPI é aplicado para verificar o grau de poluição orgânica em bacias hidrográficas.

O impacto de atividades industriais tem sido evidenciado pela diminuição da qualidade da água em trechos de corpos hídricos com maior urbanização e intensa atividade industrial [131,132]. Em Tamil Nadu (Índia), Damodhar e Reddy [133] avaliaram a qualidade da água do rio Uppanar, receptor de efluentes do complexo industrial SIPCOT (*Southern Industries and Petro Chemical Corporation of Tamil Nadu*), em pontos à montante quanto à jusante do lançamento da SIPCOT, e constataram substancial redução da qualidade da água. Os autores mostraram que, à montante do lançamento, o IQA_{Ba} foi de 78 (bom) enquanto que à jusante, valores menores que 15 (péssimo) foram observados devido aos valores baixos de OD e elevados de DBO, evidenciando perda da capacidade de autodepuração, com substancial redução de fauna aquática desde a instalação do complexo.

Ainda na Índia, Larsson [118] reportou a improdutividade de campos irrigados por águas de um corpo receptor de efluentes de complexo industrial contendo grandes produtores de medicamentos. Chergui e Errahmani [126] avaliaram a qualidade da água de entrada e de saída da planta da indústria farmacêutica Sidal Biotic, na Argélia, por meio do IQA_{Ba}. Identificaram perda de qualidade da água, uma vez que, na entrada da planta, a qualidade era considerada “boa” (IQA_{Ba} entre 81 e 85), enquanto na saída, valores de IQA_{Ba} variaram entre 57 e 43, correspondendo aos estados regular e ruim, respectivamente. Os autores observaram aumento de 68% nos valores de condutividade elétrica (837 ± 6 para 1409 ± 14 $\mu\text{S/cm}$), de 91% da alcalinidade (102 ± 2 para 195 ± 4 mg/L), de 800 vezes do teor de SST ($< 2,0$ a 1624 ± 843 mg/L), de 68% de Ca^{2+} ($80,9 \pm 2,1$ a $136,3 \pm 6,9$ mg/L) e de 125% de Na^+ ($43,9 \pm 0,8$ a $98,6 \pm 2,2$ mg/L). Ao avaliar a possibilidade de usar as águas de saída da planta para fins de irrigação, concluíram, usando valores de SAR, os autores sugeriram possíveis danos ao solo [126].

No Brasil, na cidade de João Pessoa, Abrahão *et al* [96] avaliaram a qualidade da água do Córrego Mussuré, CR dos efluentes do Distrito industrial presente na cidade. Por meio do IQA de Bascarón, os autores identificaram que a qualidade da água à montante dos descartes era considerada regular (IQA_{Ba} = 47), devido a presença de lançamentos

clandestinos de esgoto, e à jusante dos descartes, apresenta qualidade “ruim” ($IQA_{BA} = 31$). Os autores ressaltam a falta de fiscalização sobre o descarte de efluentes por parte das autoridades competentes. Em outros estudo nacionais, Manzano [134] *et al* identificaram que o Ribeirão Tatu, localizado na cidade de São Paulo, apresenta elevado potencial genotóxico. Os autores acreditam que contribuições provenientes de agro-indústrias possam favorecer esse efeito. Na cidade de Macaíba, Gurgel *et al* [125] identificaram aumento na taxa de mortalidade de microcrustácios e gastrópodes no Rio Jundiá, fortemente influenciado pelo descarte de efluentes parcialmente tratados de indústrias têxteis.

1.5 Fármacos em efluentes industriais

Poucos estudos buscam explorar a contaminação de águas em decorrência de lançamentos de efluentes de indústrias farmacêuticas. Considerando que são produzidos em larga escala, é razoável inferir que águas residuárias industriais apresentem concentrações detectáveis de diversos medicamentos, com potencial risco para comunidades aquáticas.

Em estudo realizado na Coreia, Sim *et al* [135] compararam cargas diárias de fármacos na entrada e saída de ETEs de esgotos municipais (ETE-M) e de indústrias farmacêuticas (ETE-I). Observaram maiores cargas de entrada e taxas de remoção nas ETE-M, resultando em menor quantidade de fármacos descartada em corpos hídricos nas ETE-M (0.101–23.0 kg/dia) e maior quantidade (cerca de 115 kg/dia) nas ETE-I.

Outros estudos priorizam investigar antibióticos, tanto de uso veterinário quanto humano [120], devido à associação com o desenvolvimento de bactérias resistentes. Efluente de indústrias farmacêuticas próximas à Taipei (Taiwan) [136] apresentaram concentrações de até 1,34 mg/L de sulfametoxazol, 91,8 µg/L de sulfadimetoxina e 51 µg/L de sulfa-mono-metoxina. Ao investigar 11 fármacos no efluente final de um polo farmacêutico da Índia, Larson *et al* [118] reportou níveis de ofloxacina, enoxacina, lomexacina, norfloxacina e enrofloxacina entre 150 e 900 µg/L, enquanto que a ciprofloxacina apresentou concentração muito elevada, de até 31 mg/L.

1.5.1 Identificação

Os trabalhos supracitados buscaram quantificar um pequeno número de substâncias previamente selecionadas. Porém, para estender as investigações e melhor avaliar o impacto ambiental proporcionado por indústrias farmacêuticas, deve-se identificar o maior número possível de substâncias no efluente. Nesse sentido, Anliker *et*

al [137] ressaltam que abordagens com apenas algumas substâncias-alvo negligenciam um grande número de substâncias presentes no efluente industrial. Destacam ainda dois fatores que dificultam a investigação de poluentes em efluentes industriais. Primeiro, o lançamento de substâncias orgânicas é sujeito ao processo produtivo. Uma vez que são realizados processos em bateladas, (*batch process*) o evento do lançamento de poluentes pode ter curta duração. Assim, sem o conhecimento de quando o evento ocorre, e por quanto tempo ele dura, é possível que nem estratégias de amostragem como *grab sample* ou amostragem composta possam ser representativas em relação a carga de poluente e quanto às substâncias lançadas. Em segundo lugar, dados de produção costumam ser confidenciais e informações quanto as matérias primas utilizadas, substâncias produzidas e quantidades são escassas. Dessa forma, a composição do efluente industrial permanece pouco conhecida.

Em um segundo estudo realizado por Anliker *et al* [138], foram fornecidas informações detalhadas quanto ao princípios ativos produzidos pelas indústrias durante o período de amostragem, contanto que as empresas permanecessem no anonimato e também que os princípios ativos encontrados nas amostras não fossem divulgados, apenas as concentrações.

Ao serem submetidos a processos de tratamento empregados em ETEs, fármacos podem sofrer hidrólise, conjugação, oxidação, dentre outros processos, dificultando sua identificação. Por estes motivos, a literatura tem explorado estratégias do tipo investigações de substância não-alvo, baseadas em espectrometria de massas de alta resolução com uso de analisadores como tempo de voo, (TOF, do inglês, *time of flight*), e alternativas baseadas em captura de íons (IT, do inglês *ion trap*). Nestes casos, a identificação de substâncias não-alvo necessita de bancos de dados de espectrometria de massas, como o desenvolvido pelo *Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology* [139], Eawag, em parceria com a Universidade de Minnesota, ou também a *Global Natural Products Social Molecular Networking* (GNPS) [140], ou softwares integrados ao sistema de detecção, como o *MassHunter Profinder*.

Terzic *et al* [141] realizaram uma investigação não-alvo em amostras de solos de um córrego receptor de efluentes tratados de indústrias farmacêuticas. Os autores utilizaram um espectrômetro de massas híbrido quadrupolo(Q)-TOF para aquisição de espectros e identificação primária dos possíveis substâncias via *softwares* nativos do equipamento como Merck Index ESIS e Chemspider. Foram identificados constituintes majoritários como cloretos de benzalcônio (C₂₁-C₂₇), polipropileno glicóis (C₁₈ – C₃₉) e

ácidos graxos diversos (C₁₂ - C₁₈), amplamente empregados em processos de sínteses e formulação de medicamentos e diretamente associados aos efluentes das industriais farmacêuticas. Dentre os fármacos, foram identificados azitromicina (antibiótico), torasemida (diurético), zolpidem (tratamento para insônia), terbinafina (antimicótico) e varfarina (anticoagulante).

Anlike *et al* [137] realizaram amostragens diárias compostas (24 h) e vazão-proporcionais ao longo de três meses para identificar padrões temporais nas concentrações de fármacos em efluentes de ETEs, com o objetivo de rastrear suas fontes de aporte. Neste estudo, foram realizadas investigações tanto do tipo “alvo” quanto “não-alvo”. Primeiramente, os autores avaliaram a presença de 26 fármacos em duas ETEs, sendo que ambas recebem esgotos municipais, entretanto apenas uma também é receptora de rejeitos líquidos provenientes de indústrias farmacêuticas. Em avaliação referente ao padrão temporal das intensidades de sinal analítico normalizado (por padrão interno), foi possível discriminar que amitriptilina, codeína, dihidrocodeína, hidrocodona, dopamina, indometacina, metadona, ácido flufenâmico, fluoxetina e tetra etilenoglicol tem origem industrial, uma vez que apresentam ampla variação de intensidade para o período estudado, enquanto para os demais analitos investigados, as variações de suas intensidades são pequenas e associadas ao fluxo de lançamento da própria ETE. Análises não-alvo foram realizadas em equipamento Q-orbitrap, cobrindo m/z entre 100 e 1000, com identificação via ChemSpider e confirmação em bibliotecas METLIN e MAssBank. Os autores identificaram três substâncias não-alvo: metenamina, trietilamina e pentoxiverina. Os dois primeiros são amplamente utilizados nos processos de sínteses industriais, enquanto o terceiro corresponde a um medicamento utilizado para tosse.

1.5.2 Remoção

Em ETEs convencionais, os principais mecanismos de remoção de substâncias polares são a transformação biológica e mineralização promovida por microrganismos, as quais ocorrem em maior extensão nos lodos ativados (AS, do inglês *activated sludge*) [142]. Diversos fatores, como temperatura, oxigênio dissolvido (DO, do inglês *dissolved oxygen*), pH, tempo de retenção hidráulico (HRT, do inglês *hydraulic retention time*) e tempo de retenção no lodo ativado (ASRT, do inglês *activated sludge retention time*), influenciam a atividade biológica da biomassa e, conseqüentemente, a remoção de MPE. Condições extremas de temperatura, pH e DO podem inibir o crescimento de microrganismos que compõe a biomassa do AS. Já HRT e ASRT estão relacionados com

a carga de poluente (ou micropoluente) presente na água residuária. Desta forma, se o HRT e ASRT forem pequenos e a carga poluidora muito elevada, a eficiência de remoção da matéria orgânica diminui [142].

Etapas convencionais de tratamento não foram projetadas para a remoção de MPE. Ademais, outros fatores intervêm na eficácia de remoção de MPE considerando rejeitos líquidos de indústrias farmacêuticas, como a presença de antibióticos e os elevados níveis de fenóis, tóxicos aos microrganismos da biomassa [143,144]. Segundo a comissão europeia, efluentes de farmacêuticos são mais eficientemente tratados quando não há mistura com outros líquidos, além de que processos avançados como osmose reversa, nanofiltração e ultrafiltração podem auxiliar na remoção de muitos fármacos [126]

Considerando que efluentes industriais apresentam elevada DQO, a literatura sugere que configurações alternativas de reatores anaeróbicos possam favorecer a remoção de MPE. Estratégias como oxidação por peróxido [123], fotocatalise [145], processo anaeróbico híbrido de manta e lodo [122], oxidação via reação de Fenton [146] ou combinação de processos anaeróbios/microaeróbicos [120,121] foram avaliadas. Apesar das elevadas eficiências de remoção de carga orgânica, as águas residuárias resultantes apresentam toxicidade, possivelmente devido a formação de radicais, além de serem estratégias de maior custo e de difícil implementação.

1.6 Polos farmacêuticos no Brasil e sua relação com o ambiente

No Brasil, não foram encontradas avaliações relacionando diretamente o aporte de resíduos de fármacos com águas residuárias de indústrias farmacêuticas. Estudos sugerem que em regiões industrializadas, maiores concentrações de fármacos e hormônios são detectáveis [147,148]. Entretanto, nestas regiões, há também maior densidade populacional, e frequentemente, descarte de esgotos *in natura*, de forma que discriminações sobre as maiores fontes de aporte não são claras. Neste sentido, cabe ressaltar que estudos anteriormente [135,149] citados sugerem uma relação entre consumo, produção de medicamentos e magnitude das concentrações estimadas em corpos hídricos.

Segundo o Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico (2020) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária [150], mais de 1900 medicamentos constam como aprovados para uso humano no Brasil, comercializados em mais de 5000 formulações. De 2016 a 2019 houve aumento no consumo de medicamentos pela população brasileira (4,5 bilhões para 5,3 bilhões de embalagens), no número de empresas atuantes no

território nacional (214 para 224) e na quantidade de princípios ativos comercializados (1793 para 1935). Considerando estes dados, é razoável inferir que aumentos no consumo e produção devem favorecer a ocorrência de resíduos de medicamentos em corpos hídricos. Entretanto, no Brasil, o monitoramento institucional para MPE é virtualmente inexistente, e dessa forma, impactos ambientais advindos de indústrias farmacêuticas devem ser esperados assim como a ocorrência de elevadas concentrações de MPE em suas proximidades.

1.6.1 O Distrito agroindustrial de Anápolis

Na cidade de Anápolis, localizada no Estado do Goiás, concentra-se um dos maiores polos farmoquímicos da América Latina: o Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA) que possui 150 indústrias dos mais diversos setores. Desta, 22 pertencem ao de medicamentos. Anápolis é considerada a segunda maior produtora de medicamentos genéricos do país, sendo o DAIA, consolidado como o maior Polo Farmacêutico de Genéricos da América Latina. Apesar de o município encontrar-se em uma Área de Proteção Ambiental (APA), a APA do Rio João Leite, o processo de ocupação não considerou nenhum plano que visasse a preservação dos recursos naturais, sobretudo córregos e nascentes [151]. Ademais, alguns relatos de moradores e de jornais locais revelam um quadro de degradação ambiental associado a presença do empreendimento industrial.

O distrito emprega cerca de 17 mil pessoas e conta com uma estação de tratamento de esgoto, a ETE-DAIA, responsável por realizar o tratamento do rejeito misto (industrial e sanitário) advindo de todas as atividades do distrito. A ETE-DAIA conta com tratamento primário por gradeamento e desarenador, seguidos de lagoa anaeróbia, tanque de aeração e decantador secundário, e lança seus efluentes no corpo receptor com uma vazão média de 3800 m³/dia. Entretanto, devido as características diversificadas dos rejeitos mistos recebidos, e ao aumento de seus volumes, Resende [152] ressalta que a ETE-DAIA se encontra subdimensionada e que, devido à ausência de algumas etapas de tratamento, como a de equalização para o esgoto afluente, a eficiência do tratamento aplicado está aquém do que deveria. Dessa forma, o efluente frequentemente encontra-se em desacordo com o preconizado pelas Resoluções Federais CONAMA 357/2005 e 430/2011 e com o Decreto Estadual 1.745/1979, e conferem ao corpo receptor dos efluentes tratados características em desacordo com seu enquadramento (classe 2). O

autor também ressalta a baixa capacidade de diluição do corpo receptor dos efluentes, tendo vazão média cerca de 3 vezes maior que a do lançamento dos efluentes.

Diversas reportagens de jornais locais denunciam situações de descumprimento da regulação pertinente ao descarte de efluentes domésticos e industriais, por vezes acompanhados de mau cheiro, turbidez e formação de espumas densas sobre os corpos hídricos. Dessa forma, o autor ressalta que melhorias no tratamento devem ser implementadas a longo prazo de forma a dobrar a capacidade de tratamento da ETE-DAIA e aumentar a tratabilidade do rejeito, possibilitando um efluente que esteja de acordo com o preconizado em legislações pertinentes. Considerando as mudanças estruturais necessárias, de maneira emergencial, foi implementada uma etapa de tratamento químico, na entrada do decantador secundário, e consiste na adição de cal hidratada e sulfato de alumínio que, segundo o autor, podem melhorar a remoção de diversos substâncias. Ainda assim, a presença de espuma, turbidez e mal cheiro perduram na estação.

2 OBJETIVOS

Diante do cenário de contaminação de águas por MPE e considerando a importância do DAIA no mercado brasileiro, a ocorrência de resíduos de fármacos deve ser investigada nos corpos aquáticos da região. Justifica-se assim, a necessidade de estudos voltados a identificação e quantificação dessas substâncias, bem como de determinar potenciais riscos ambientais de modo a subsidiar a discussão de medidas preventivas. Até a presente data, no melhor do nosso conhecimento, não há trabalhos brasileiros dedicados a esta finalidade. Baseado nestas premissas, este trabalho teve como objetivos:

- i. Utilizar estratégias de identificação baseadas em espectrometria de massas de alta resolução para análise de fármacos não-alvo *non-target* e demais MPE em amostras de águas superficiais da região do DAIA;
- ii. Desenvolver e validar um método analítico baseado em extração em fase sólida, curva de calibração por superposição de matriz e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas para quantificação de MPE selecionados em amostras de água da região do DAIA;

- iii. Estabelecer pontos de coleta de água superficial para monitoramento dos MPE estudados;
- iv. Realizar análise de risco ambiental para os MPE estudados nos pontos amostrais selecionados;
- v. Avaliar a qualidade da água dos corpos hídricos estudados por meio de parâmetros físico-químicos e índices de qualidade da água e propor um IQA modificado que contemple a presença de MPE visando a proteção da vida aquática.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados possuem grau analítico ou superior. Os solventes acetonitrila (ACN, grau HPLC) e metanol (MeOH, grau HPLC) foram adquiridos da Tedia (Fairfield, EUA). Hidróxido de amônio (grau MS, 25%), ácido fórmico (grau MS) bicarbonato de sódio, molibdato de amônio, nitrato de potássio e ácido sulfúrico (98%) foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). Hidróxido de sódio (NaOH), ácido clorídrico (HCl, 37%) e carbonato de sódio foram adquiridos da Dinâmica Química (Indaiatuba, Brasil). Cromato de potássio, hidrogenoftalato de potássio e dihidrogenofosfato de potássio foram adquiridos da Vetec, (Fortaleza, Brasil). Sulfato de amônio foi adquirido da Ecibra (Santo Amaro, Brasil). Ácido ascórbico foi adquirido da Cinética Química (Londrina, Brasil). Antimonil tartarato de potássio foi adquirido da Merk (Darmstadt, Alemanha). Nitrato de prata foi adquirido da Carlos Erba (Val de Reuil, França) e cartuchos de extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) Oasis HLB com 500 mg do adsorvente foram adquiridos da Waters (Milford, EUA). Água ultrapura foi obtida em sistema Milli-Q Reference A+ (Millipore, Milford, EUA). A procedência dos padrões de MPE estudados, os usos primários de cada substância e acrônimos utilizados são mostradas na Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Analitos investigados, acrônimos, usos primários e procedência dos padrões utilizados neste estudo.

Analito	Acrônimo	Uso primário	Padrão analítico	
			Pureza (%)	Procedência
17 α -etinilestradiol	EE2	Hormônio sintético	≥ 98	Sigma-Aldrich
17 β -estradiol	E2	Hormônio	≥ 98	Sigma-Aldrich
Ácido acetilsalicílico	AAS	Anti-inflamatório	≥ 99	Sigma-Aldrich
Ácido clofibrico	CFB	Regulador lipídico	≥ 99	Sigma-Aldrich
Ácido cólico	CHO	Regulador lipídico	≥ 98	Sigma-Aldrich

Analito	Acrônimo	Uso primário	Padrão analítico	
			Pureza (%)	Procedência
Ácido mefenâmico	MEF	Anti-inflamatório	≥99	Sigma-Aldrich
Amitriptilina	AMT	Antidepressivo	≥98	Sigma-Aldrich
Amoxicilina	AMX	Antimicrobiano	≥99	Sigma-Aldrich
Atenolol	ATN	Anti-hipertensivo	≥98	Sigma-Aldrich
Atrazina	ATZ	Herbicida	≥98	Sigma-Aldrich
Bezafibrato	BZF	Regulador lipídico	≥98	Sigma-Aldrich
Bisfenol A	BPA	Precursor de plásticos	≥99	Sigma-Aldrich
Bupropiona	BPP	Antidepressivo	≥99	Sigma-Aldrich
Cafeína	CAF	Estimulante	≥99	Sigma-Aldrich
Carbamazepina	CBZ	Anticonvulsivo	≥98	Sigma-Aldrich
Cefalexina	CFX	Antimicrobiano	≥99	Sigma-Aldrich
Ciprofloxacina	CPX	Antimicrobiano	≥98	Sigma-Aldrich
Dapsona	DPS	Anti-inflamatório	≥99	Sigma-Aldrich
Diazepam	DIA	Ansiolítico	≥98	Sigma-Aldrich
Diclofenaco	DCF	Anti-inflamatório	≥98	Sigma-Aldrich
Erlotinib	ERL	Anti neoplásico	≥98	Sigma-Aldrich
Estriol	E3	Hormônio	≥97	Sigma-Aldrich
Estrona	E1	Hormônio	≥99	Sigma-Aldrich
Gemfibrozil	GFB	Regulador Lipídico	≥98	Sigma-Aldrich
Hidroclorotiazida	HCT	Anti hipertensivo	≥98	Sigma-Aldrich
Ibuprofeno	IBU	Anti-inflamatório	≥98	Sigma-Aldrich
Levonorgestrel	NGT	Hormônio sintético	≥99	Sigma-Aldrich
N,N dietil-m-toluamida	DEET	Repelente de insetos	≥98	Sigma-Aldrich
Naproxeno	NPX	Anti-inflamatório	≥99	Sigma-Aldrich
Nortriptilina	NTP	Antidepressivo	≥98	Sigma-Aldrich
Paracetamol	PCT	Analgésico/antitérmico	≥98	Synth
Ranitidina	RNT	Antiácido	≥98	Sigma-Aldrich
Sulfametoxazol	SMX	Antimicrobiano	≥98	Sigma-Aldrich
Sulfapiridina	SPY	Antimicrobiano	≥99	Sigma-Aldrich
Teobromina	TEO	Metabolito CAF	≥98	Sigma-Aldrich
Triclosan	TCS	Biocida	≥99	Sigma-Aldrich
Tropisetron	TPS	Antiemético	≥98	Sigma-Aldrich
Venlafaxina	VLX	Antidepressivo	≥99	Sigma-Aldrich

Padrões deuterados de diazepam (DIA-d5, ≥99%), ibuprofeno (IBU-d3, ≥98%), bisfenol A (BPA-d16, ≥98%) e paracetamol (PCT-d4, ≥99%), foram obtidos da Sigma-Aldrich, enquanto cafeína-d9 (CAF-d9, ≥99%) foi obtida da CDN Isotopes (Quebec, Canadá). As substâncias deuteradas foram usadas como padrões internos.

3.2 Preparo de soluções

Soluções estoque individuais dos analitos investigados (200 mg/L) foram preparadas pela dissolução de massa apropriada da substância sólida ou diluição de padrão líquido em MeOH, e mantidas em freezer a -20 °C. Soluções de trabalho foram

preparadas diariamente, em MeOH e água, a partir de diluições sucessivas das soluções estoque. Para os padrões internos, as soluções de trabalho (500 µg/L) foram preparadas por diluição em ACN. Soluções de HCl (1,0 e 0,1 mol/L) e NaOH (1,0 e 0,1 mol/L) ácido ascórbico (0,1 mol/L), molibdato de amônio (0,03 mol/L), antimoniltartarato de potássio (4 mmol/L), ácido sulfúrico (2,5 mol/L) nitrato de prata (0,014 mol/L), sulfato de amônio (0,035 mol/L), nitrato de potássio (0,07 mol/L), hidrogenoftalato de potássio (0,01 mol/L), bicarbonato de sódio (0,08 mol/L), carbonato de sódio (0,08 mol/L) e cromato de potássio foram preparadas em água ultrapura.

3.3 Área investigada

Os principais corpos de água da região de Anápolis são os ribeirões Piancó, Caldas, João Leite e Antas. Os dois primeiros são destinados ao abastecimento urbano, enquanto o Ribeirão Antas, que corta toda a extensão da cidade, é o corpo receptor (CR) dos esgotos domésticos e tem como principais afluentes os rios Extrema e Conceição, além de outros córregos menores. A Figura 2.1A mostra a hidrografia de Anápolis, obtida da Agência Nacional das Águas [153]. Dentro da região do DAIA (marcado em vermelho, na Figura 2.1B), encontra-se a nascente que dá origem ao Córrego Abrahão, CR dos efluentes provenientes da ETE-DAIA e afluente do Rio Extrema.

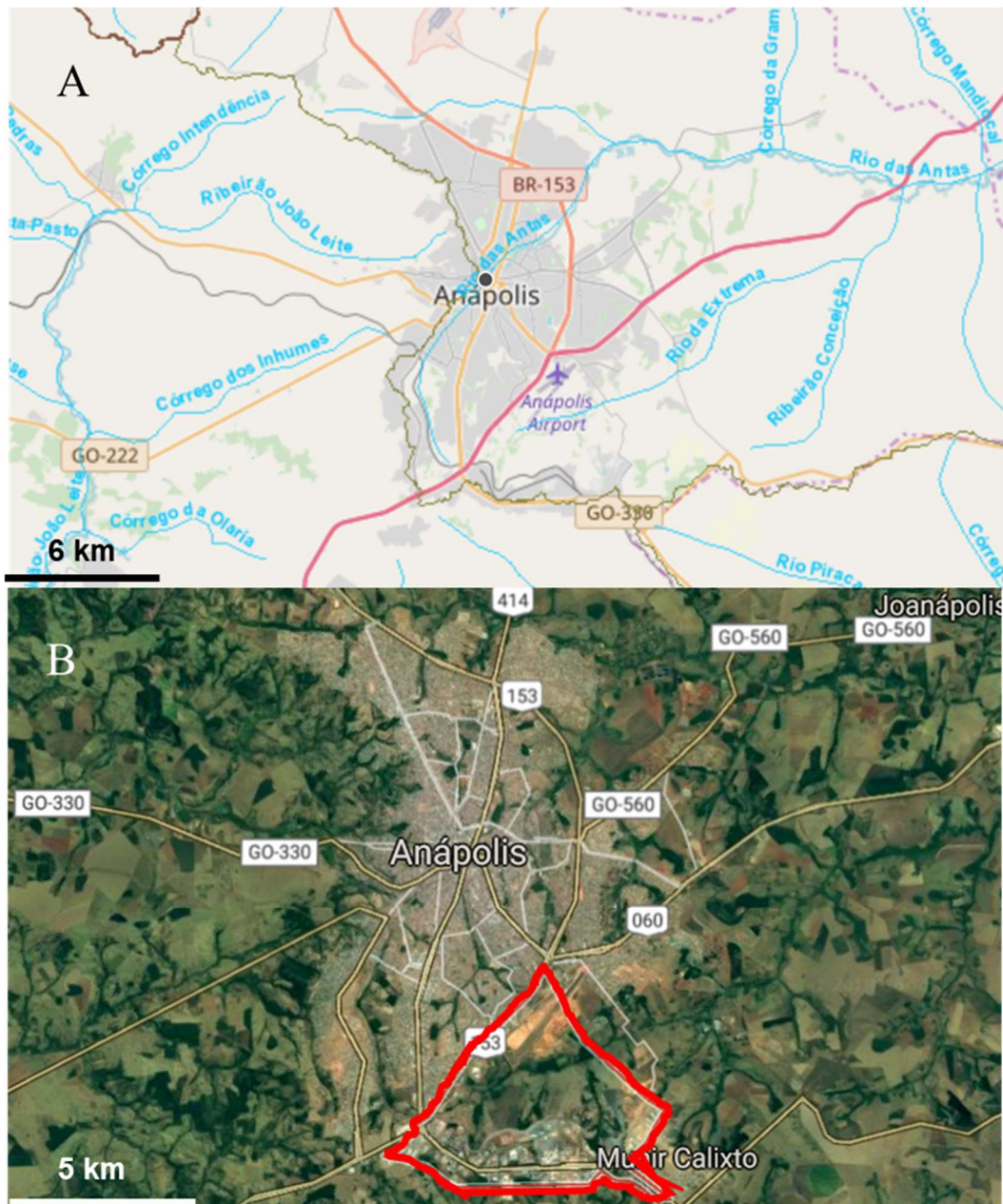


Figura 2.1. Hidrografia de Anápolis (A). Detalhe em vermelho demarca o DAIA (B)

Cinco pontos amostrais foram selecionados e estão mostrados na Figura 2.2. O ponto de lançamento do efluente da ETE-DAIA no Córrego Abrahão, denominado PL, é acessível somente por meio das instalações da ETE e mediante autorização da CODEGO (Companhia de Desenvolvimento Econômico de Goiás) e da Administração do DAIA. No Rio Extrema, foram selecionados um ponto à montante da afluência do Córrego Abrahão (MT) e três à jusante (JS1, JS2 e JS3). As Figuras 2.3 e 2.4 mostram detalhes dos pontos amostrais.

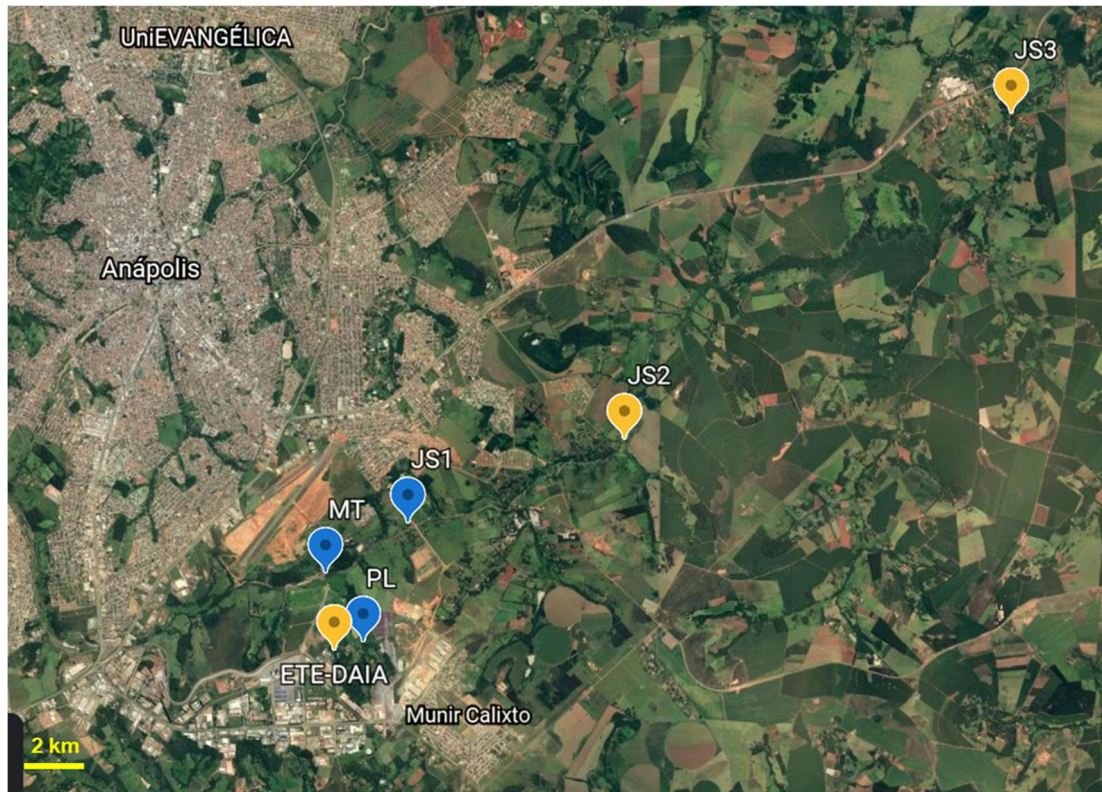


Figura 2.2: Localização do ponto de coleta. PL = ponto de lançamento; MT = ponto à montante; JS = pontos à jusante, ETE-DAIA = estação de tratamento de esgoto do DAIA. Imagem obtida do Google Earth.



Figura 2.3. Ponto lançamento do efluente (A). Em B, é mostrado o aspecto do Córrego Abrahão nas proximidades do lançamento e em C, o ponto PL imediatamente à jusante do lançamento.

O Córrego Abrahão está à cerca de 600 m da entrada da ETE-DAIA e é rodeado por densa mata ciliar, de maneira que não é possível acessá-lo por meio de veículos. Próximo ao ponto PL, já é possível sentir o mau cheiro vindo do córrego. Suas águas são turvas, esverdeadas e com presença de espuma e material particulado na superfície. Já o ponto J1 encontra-se à 2,5 km do ponto PL em área residencial. Está localizado na divisa entre duas chácaras, de maneira que é acessível pela via pública (não pavimentada) que passa entre elas. Diversas residências estão em construção, e assim, pilhas de entulho podem ser encontrado nas vias de acesso. Ademais, nas proximidades, há ainda um comércio com poucas atividades, a cerca de 300 m do ponto J1. As águas deste ponto apresentam espumas, coloração esverdeada e intenso mau cheiro. O ponto J2 está a 6,2 km de PL e é cercado por diversas residências em construção, com pequenas plantações de milho. Seu acesso facilitado dá-se por via pública. Neste ponto, o mau cheiro do corpo hídrico é menos intenso, porém, ainda apresenta coloração fortemente esverdeada (não natural). Já o ponto J3, mais afastado, encontra-se a 15,7 km de PL. Está cercado por chácaras e atividades como cultura de animais. É facilmente acessado por via pública, não pavimentada. Neste ponto já não há mau cheiro, porém perdura a coloração turva e esverdeada. O ponto MT localiza-se em uma área mais isolada, contendo apenas uma residência. Os moradores locais concederam permissão para realizar as coletas. Nesta região ocorre captação de água pela CODEGO. O córrego Extrema apresenta água límpida, cercada por mata ciliar pouco densa.



Figura 2.4. Fotografia ilustrativa dos pontos MT, JS1, JS2 e JS3 no Rio Extrema

3.4 Amostragem

O procedimento de coleta foi adaptado de Kasper *et al* [154]. Brevemente, uma garrafa de vidro âmbar de 1 L foi acomodada em um amostrador de cabo longo (3,7 m) e retrátil do tipo Swing (Nasco, Fort Atkinson, EUA). No ponto de amostragem, a garrafa foi ambientada com uma porção de água superficial, descartada à jusante, e, em seguida, imersa no corpo aquático de forma a evitar a coleta de material na lâmina superficial da água, devido a presença de material particulado e espuma. A garrafa foi retirada, selada com uma folha de alumínio, tampada e ensacada individualmente em saco de polipropileno de baixa densidade. O saco plástico foi lacrado com abraçadeira de nylon e a garrafa foi então armazenada em caixa de isopor. Todas as garrafas foram previamente

limpas com sabão neutro Extran a 5% (MA 02, Merck, Taquara, Brasil), e calcinadas em forno mufla (SP-1200, SP Labor, Presidente Prudente, Brasil) à 400 °C durante 4 horas.

Para a determinação de parâmetros de qualidade da água uma segunda amostra de 1 L foi coletada utilizando-se o mesmo procedimento, porém em garrafa de plástico previamente limpa com Extran a 5 %. Durante a amostragem, concomitantemente foi utilizado um analisador multiparâmetro (HI9829, Hanna, Barueri, Brasil) acoplado a uma sonda multisensor (HI7609829) para medição *in situ* de OD, temperatura (T°C), pH e condutividade elétrica (EC) na amostra bruta.

3.5 Preparo das amostras

3.5.1 Para análise de substâncias não-alvo

Para este ensaio foi investigada apenas uma amostra de água superficial coletada no ponto PL, no Córrego Abrahão. A extração dos analitos foi realizada conforme adaptações do método descrito por Machado *et al* [155]. Brevemente, a amostra bruta foi primeiramente filtrada em papel semi-qualitativo (47 mm, Unifil, Guarulhos, Brasil) em sistema de vidro com pressão negativa (Bomba vácuo 121, Prismatec, Itu, Brasil) para remoção do material particulado grosseiro. Em seguida, a amostra foi passada em filtro de fibra de vidro (GF-C, Sartorius Stedim, Gottingen, Alemanha) e em membrana de éster de celulose com porosidade 0,45 µm (Millipore, Massachusetts, EUA) com auxílio do mesmo sistema de filtração, previamente ambientado.

A amostra foi então dividida em três alíquotas de 300 mL tendo seus pH ajustados à 2,0, 6,0 e 10 usando soluções 1,0 e 0,1 mol/L de HCl e NaOH em pHmetro HI 3221 (Hanna, Barueri, Brasil) sob agitação constante e suave em agitador magnético (MS-H-S, Gostirrer, Piracicaba, Brasil). Estes valores de pH foram utilizados para favorecer a extração de compostos ácidos, neutros e básicos na etapa subsequente. Em seguida, as alíquotas foram submetidas à extração em fase sólida. Primeiramente, os cartuchos foram encaixados em um sistema de extração *labmade* desenvolvido por Sodré *et al* [156], mostrado na Figura 2.5, que permite a extração de várias amostras simultaneamente. Neste sistema, a passagem da amostra pelo cartucho é controlada por uma válvula (Figura 2.5C) e a vazão é controlada com o auxílio de uma bomba peristáltica multicanal (MPF-500, Marte, São Paulo, Brasil). Cada cartucho foi primeiramente condicionado com 6 mL de MeOH, seguido de 6 mL de água ultrapura em pH correspondente ao da alíquota a ser extraída. Em seguida, sem permitir que a fase sólida fosse levada a secura, a passagem

das amostras foi liberada. A vazão utilizada nas etapas de condicionamento e extração foi de aproximadamente 3,0 mL/min.



Figura 2.5. Sistema de extração utilizado. Em A, garrafa contendo amostra, B = peça confeccionada em PTFE para controle de fluxo e pressão, C = cartucho de SPE, D = bomba peristáltica multicanal.

Após a extração, os cartuchos foram centrifugados a 4000 rpm por 5 minutos (KC-5, Kindly, Jacarei, Brasil) para eliminar água residual e, em seguida, foram fixados em *manifold* de 12 portas (Visipred DL, Supelco, Vila Gea, Brasil) conectado à bomba de vácuo mecânica para permitir a eluição das substâncias empregando-se 6 mL de MeOH e 6 mL de água ultrapura em pH 6. A Figura 2.6 mostra o *manifold* utilizado e o aspecto dos eluatos obtidos. Em seguida, os eluatos foram levados a um evaporador paralelo (Syncore® Analyst, Buchi, Valinhos, Brasil), mostrado na Figura 2.6 A, que permite a

construção de gradientes de pressão para que o solvente seja evaporado até volume final de 1,0 mL aferido com micropipeta (LM1000, Labmate Soft, Johnsonville, Nova Zelândia). O gradiente de vácuo utilizado está apresentado na Tabela 2.3. Antes das análises, o extrato final foi ainda e filtrado em membrana de PVDF (fluoreto de polivinilideno) de 0,22 μm de porosidade (Millex GV, Millipore, Cork, Irlanda).



Figura 2.6. Evaporador paralelo (A); sistema utilizado para eluição das substâncias presentes nos cartuchos de SPE (B), e aspecto dos extratos (C).

Tabela 2.3: Gradiente de pressão utilizado para a etapa de pré-concentração dos analitos nas amostras de água superficial do ponto PL.

Duração (min)	Pressão Inicial (mBar)	Pressão Final (mBar)
15	900	400
15	400	200
50	200	60
90	60	60
15	60	300
10	300	600
5	600	900

3.5.2 Para quantificação de substâncias-alvo

O preparo de amostras foi adaptado de Machado *et al* [155] e Sodré *et al* [157]. A etapa de filtração ocorreu conforme o procedimento descrito no item 3.5.1, sendo a amostra filtrada levada à pH 6. Anteriormente a SPE, a amostra foi enriquecida com 100 ng de cada padrão interno. As condições de eluição foram modificadas devido à elevada carga orgânica das amostras. Sendo assim, a fase sólida foi condicionada com 6 mL de MeOH seguida de 6 mL de água ultrapura em pH 6 enquanto a etapa de eluição foi realizada mediante passagem de quatro alíquotas de 3 mL de MeOH, A secagem foi realizada em sistema concentrador (TE-019, Tecnal, Piracicaba, Brazil) sob vazão suave de N₂ (White Martins, Rio de Janeiro, Brasil) até volume final de 300 µL, aferido com micropipeta. Posteriormente, o extrato foi fracionado em duas alíquotas de 150 µL, e avolumados para 1,0 mL com água e MeOH, sendo o primeiro na proporção 85:15 e o segundo em 70:30, segundo as condições iniciais dos gradientes cromatográficos (posteriormente descritos) e filtrados em membrana de PVDF de 0,22 µm de porosidade.

3.5.3 Para construção de curvas por superposição de matriz

Para produzir uma matriz com características mais similares à das amostras, a quantificação foi realizada mediante construção de curvas por superposição de matriz empregando amostras de água superficial (4L) coletadas no Pier Norte do Lago Paranoá, à montante do lançamento da ETE Norte. Alíquotas de 1L foram preparadas em conformidade com o procedimento descrito no item 3.5.2 culminando com a obtenção de 1,0 mL de extrato após secagem em sistema de evaporação paralela. Antes da análise, os extratos ainda foram filtrados em membrana PVDF de 0,22 µm. Para a construção das curvas analíticas, um volume fixo de 50 µL deste extrato foi utilizado nas soluções padrão e os padrões internos foram adicionados posteriormente à SPE.

3.6 Análises qualitativas e quantitativas de MPE

3.6.1 Análise de substâncias não-alvo

A análise das substâncias eluidas foi conduzida por injeção sem coluna cromatográfica no sistema UltraLC 100-XL (Eksigent, Redwood City, EUA) acoplada ao espectrômetro de massas de alta resolução QTOF (TripleToF 5600+, Sciex, Toronto, Canada). Como fases móveis, foi empregada a composição isocrática construída de água e ACN sob vazão de 300 $\mu\text{L}/\text{min}$, mantendo-se a concentração relativa de ACN em 50% por 1,5 min e o volume injetado de extratos foi de 2,0 μL . Para as análises realizadas em modo negativo, as fases móveis foram enriquecidas com 0,1% de hidróxido de amônio e para modo positivo, as foram enriquecidas com 0,1% de ácido fórmico.

A interface entre o LC e o espectrômetro de massas foi estabelecido por uma fonte de ionização por *electrospray* (Dual-Spray, Sciex) que pode operar tanto no modo positivo quanto no negativo. Em ambos os casos, a fonte opera sob temperatura de 450 $^{\circ}\text{C}$, utilizando N_2 produzido e purificado em gerador Genius 3031 (Peak Scientific, Haverhill, EUA) como gás de dessolvatação (*curtain gas*) à 25 psi, gás de nebulização (GS1) à 45 psi e gás de secagem (GS2) à 50 psi. A voltagem empregada para modo positivo foi de 5500V e para modo negativo, à -4500 V.

As substâncias foram analisados no modo de aquisição *Information Dependent Acquisition* (IDA), no qual uma varredura *full scan* foi realizada em modo MS para identificação dos íons precursores dentro de uma faixa de razão m/z entre 50 e 1200. Se um determinado íon precursor atinge a intensidade mínima de 100 cps (*cycles per second*), conforme escolha do analista, este íon será fragmentado, gerando um espectro de MS/MS. É importante ressaltar que este modo de aquisição não discrimina quais íons produto derivam de um determinado íon precursor, a identificação da substância é feita posteriormente, mediante o uso de bancos de dados.

O software Analyst® (versão 1.6.1), integrado ao QTOF, foi utilizado para aquisição dos dados, o processamento destes foi realizado utilizando programas externos de *download* livre, sendo estes os programas FileZilla, ProteoWizard (versão 3.0.18324) e, para identificação dos substância s foi utilizada a plataforma *Global Natural Products Social Molecular Networking* (GNPS) [140] que consiste em uma base de dados para espectrometria de massas, também externa ao software Analyst®.

Os espectros de massa obtido pelo software Analyst® são armazenados em arquivo de dados no formato “.*wiff*”, extensão incompatível com a necessária para ser utilizada na plataforma. Sendo assim, foram convertidos para a extensão *mzMML*, por meio do programa MsConvert, pertencente ao pacote ProteoWizard. O arquivo gerado foi

adicionado ao Filezilla, que consiste em um software de transferência de dados entre o computador do usuário e o servidor da plataforma GNPS. (Atualmente, o Filezilla não mais é utilizado, sendo substituído pelo WinSCP).

Uma vez adicionado à plataforma GNPS, para realizar a identificação das substâncias, diversos parâmetros podem ser ajustados de acordo com as necessidades do analista e um suporte é oferecido ao usuário para selecionar os valores adequados às características da amostra. Os parâmetros ajustados, o que cada um representa e os valores utilizados são apresentados na 2.4.

Tabela 2.4. Parâmetros a serem ajustados na plataforma GNPS para identificação de substâncias por análise não-alvo e seu significado.

Parâmetro	Valor utilizado	Significado
<i>Precursor ion mass tolerance</i>	0,02 Da	Diferença de massa máxima entre íon precursor presente na amostra e valor obtido na biblioteca da plataforma.
<i>Fragment ion tolerance</i>	0,02 Da	Diferença de massa máxima entre íon produto presente na amostra e valor obtido na biblioteca da plataforma.
<i>Cosine</i>	$\geq 0,7$	Função cosseno que reporta a correlação entre valor obtido e valor de referência
<i>Minimum matched fragment ion</i>	3	Número mínimo de fragmentos necessário para identificação
<i>Minimum peak intensity</i>	100 cps	Intensidade mínima necessária para ser considerado sinal analítico.

Da = unidade em Dalton.

3.6.2 Quantificação de substâncias-alvo

Análises quantitativas foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) modelo (G1311A, Agilent, Santa Clara, EUA) acoplada a espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*) *in tandem* (LC-MS/MS), em equipamento híbrido com analisadores de quadrupolo e captura de íons (QTRAP, 3200+, Sciex, Toronto, Canada). O software Analyst® (versão 1.4.2) foi utilizado para aquisição e tratamento dos dados. A calibração dos quadrupolos Q1 e Q3 foi realizada usando soluções PPG *Positive* e PPG *Negative Calibration Standard* (Part N. 4412399, Sciex, Forster City, EUA).

O desenvolvimento do método instrumental foi realizado em conformidade com as seguintes etapas:

- Escolha de transições precursor-produto para identificação e quantificação dos analitos;
- Otimização de parâmetros instrumentais “analito-dependentes”;
- Desenvolvimento de gradiente cromatográfico para separação dos analitos;
- Otimização dos parâmetros da fonte de ionização;

- Construção de curvas analíticas;
- Validação de método.

3.6.3 Transições precursor-produto e parâmetros analito-dependentes

Após eluição cromatográfica, as moléculas presentes na fase líquida são transferidas para a fase gasosa em uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI, do inglês, *electrospray ionization*). Na fonte ocorre a formação de íons precursores, usualmente moléculas desprotonadas ($[M-H]^-$) para análises realizadas sob polaridade negativa da fonte e moléculas protonadas ($[M+H]^+$), no modo positivo. Em resumo, os íons precursores são separados no quadrupolo e chegam a uma célula de colisão onde serão fragmentados mediante aplicação de energia em meio contendo um gás inerte. Os íons produzidos na célula de colisão são então separados no analisador de captura de íons. A relação entre o íon precursor e um íon produto é altamente específica, sendo uma ou mais transições precursor-produto então monitoradas para cada analito, promovendo alta seletividade e detectabilidade à análise.

Transições precursor-produto para cada analito foram primeiramente selecionadas com base em dados amplamente disponíveis na literatura. Para aferir a razão massa carga (m/z) dos íons de acordo com a resolução do equipamento, foram realizados experimentos de fragmentação por infusão direta, com soluções estoque individuais dos analitos (500 $\mu\text{g/L}$) utilizando seringa cromatográfica do tipo *gastight* (1702N, Hamilton Marca, Reno, EUA) sob vazão de 20 $\mu\text{L/min}$. As soluções foram preparadas em MeOH com 0,1% de ácido fórmico para favorecer a ionização de analitos no modo positivo e com 0,1% de hidróxido de amônio para espécies analisadas no modo negativo.

Diversos parâmetros “analito-dependentes” foram otimizados de maneira a favorecer a ionização e assim proporcionar maior relação sinal/ruído. Os parâmetros otimizados foram o potencial de orifício (DP, do inglês *Declustering Potential*), o potencial de entrada (EP, do inglês *Entrance Potential*), a energia de colisão (CE, do inglês *Collision Energy*) e o potencial de saída, (CXP, do inglês *Collision Exit Potential*).

Após a formação, os íons precursores devem ser impulsionados para interior do sistema de espectrometria na forma de um feixe focalizado. Primeiramente, são submetidos a uma diferença de potencial, o potencial DP, aplicado entre o orifício (*orifice plate*) e uma peça de formato cônico, denominada *skimmer*, de modo a desagregar qualquer *cluster* ainda presente. Em seguida, o feixe passa para uma região de alto vácuo, denominada Q0 e os íons são acelerados para o quadrupolo (Q1) mediante uma diferença

de potencial EP. Os íons precursores, filtradas em Q1 por rádio frequência, são impelidos em direção à célula de colisão (Q2), onde é o potencial CE é aplicado levando à colisões com o gás inerte energizado e à fragmentação dos íons precursores a os íons produto. Na saída de Q2, o potencial CXP é aplicado para acelerar os íons produto em direção a Q3. A otimização dos parâmetros DP, EP, CE, CXP foi realizada de maneira automática por meio da ferramenta *Quantitative Optimization* disponível no software *Analyst* 1.4.2. A Tabela 2.5 traz as transições selecionadas para cada substância, bem como os parâmetros de aquisição empregados para as determinações dos MPE nas amostras de água. Como diversas transições serão monitoradas concomitantemente, as substâncias e os padrões internos são analisadas no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM, do inglês, *multiple reaction monitoring*). Após o estabelecimento do gradiente cromatográfico, os valores otimizados foram reavaliados para se obter a maior intensidade de sinal analítico.

Tabela 2.5: Parâmetros de aquisição usados para determinação das substâncias e dos padrões internos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (QTRAP).

Substância	Modo de Ionização	DP	EP	CEP	Transição	CE	CXP	RT
RNT	+	36	4,5	36	315,0→176,1	23	4	3
		36	4,5	36	315,0→130,2	31	4	
ATN	+	41	6	18	267,1 →144,9	33	4	3,21
		41	6	18	267,1→190,0	25	4	
TEO	+	46	6	12	181,1→138,1	23	4	4
		46	6	12	181,1→110,0	27	4	
PCT	+	41	8	10	152,1→110,2	21	4	4,6
		41	8	10	152,1→93,1	29	4	
SPY	+	36	6,5	20	250,1→156,0	21	4	4,7
		36	6,5	20	250,1→184,2	23	4	
DPS	+	36	5,5	20	249,1→156,2	19	4	6,3
		36	5,5	20	249,1→108,1	19	4	
CFX	+	36	3	28	348,14→158,0	17	4	7,2
		36	3	28	348,14→106,1	39	4	
CAF	+	36	4	42	195,3→138,1	25	4	7,2
		36	4	42	195,3→110,1	29	4	
CPX	+	46	5	30	332,1→314,1	27	4	7,2
		46	5	30	332,1→231,1	47	4	
AMX	+	31	6,5	26	366,1→160,2	23	4	8
		31	6,5	26	366,1→114,1	49	4	
SMX	+	31	6	18	254,0→156,0	21	4	8,2
		31	6	18	254,0→108,0	31	4	
TPS	+	156	7	52	285,2→124,2	29	4	8,7
		156	7	52	285,2→93,2	37	4	
BPP	+	31	7	18	240,1→184,2	17	4	10
		31	7	18	240,1→131,1	33	4	
VLX	+	31	4,5	18	278,2 →260,3	17	4	10,6
		31	4,5	18	278,2→121,1	37	4	
ERL	+	61	9,5	30	394,4→278,1	41	4	11
		61	9,5	30	394,4→336,2	31	4	

Substância	Modo de Ionização	DP	EP	CEP	Transição	CE	CXP	RT
AMT	+	41	9,5	24	278,1→117,1	29	4	11,6
		41	9,5	24	278,1→91,1	29	4	
NTP	+	41	6,5	20	264,1→233,2	19	4	11,6
		41	6,5	20	264,1→91,1	23	4	
NGT	+	51	8	32	313,2→109,3	35	4	11,7
		51	8	32	313,2→91,1	35	4	
CBZ	+	41	10,5	20	237,1→194,0	25	4	11,9
		41	10,5	20	237,1→192	29	2	
ATZ	+	41	10,5	14	216,1→174,2	23	4	12
		41	10,5	14	216,1→104,1	35	4	
DEET	+	41	6	14	192,1→119,1	23	4	12,4
		41	6	14	192,1→91,2	23	4	
NPX	+	26	4,5	16	231,1→185,2	17	4	13,3
		26	4,5	16	231,1→170,2	31	4	
DIA	+	56	4	18	285,1→193,2	39	4	13,4
		56	4	18	285,1→154,1	35	4	
AAS	-	-10	-2	-16	179,0→136,9	-10	-2	2,17
		-10	-2	-16	179,0→93,0	-28	-2	
HCT	-	-55	-2,5	-16	295,9→204,9	-30	-2	3,64
		-55	-2,5	-16	295,9→268,9	-22	-4	
CFB	-	-25	-5	-14	212,8→126,9	-20	-2	6,11
		-25	-5	-14	212,8→85,0	-14	-2	
BZF	-	-30	-6,5	-26	360,0→274,0	-22	-4	7
		-30	-6,5	-26	360,0→153,9	-36	-4	
IBU	-	-35	-3	-14	204,9→158,3	-10	-2	7,52
		-35	-3	-14	204,9→161,0	-10	-2	
DCF	-	-30	-6	-16	293,9→249,9	-12	-10	7,52
		-30	-6	-16	293,9→214,0	-30	-4	
MEF	-	-45	-6,5	-32	240,0→196,1	-20	-4	7,91
		-45	-6,5	-35	240,0→180,0	-30	-4	
CHO	-	-10	-2	-16	407→343	-10	-2	8,9
		-10	-2	-16	179,0→93,0	-28	-2	
GFB	-	-50	-1,5	-14	249,0→121,1	-20	-2	9,13
		-50	-1,5	-14	249,0→127,0	-14	-2	
E3	-	-85	-3,5	-16	287,0→145,0	-52	-2	10
		-85	-3,5	-16	287,0→171,0	-46	-2	
BPA	-	-60	-2	-18	227,0→212,2	-26	-4	11,6
		-60	-2	-18	227,0→133,2	-32	-4	
EE2	-	-95	-4	-18	295,1→145,2	-48	-2	12,5
		-95	-4	-18	295,1→143,1	-66	-2	
E2	-	-90	-4	-20	271,1→145,1	-52	-2	12,67
		-90	-4	-20	271,1→183,2	-54	-2	
E1	-	-75	-4	-20	269,1→144,5	-50	-4	12,71
		-75	-4	-20	269,1→143,1	-60	-2	
TCS	-	-85	-2	-20	286,7→35,1	-30	-4	14,3
		-85	-2	-19	288,8→37,2	-30	-8	
Padrões Internos								
PCT-D4	+	46	10	12	156,2→114,2	23	4	4,5
CAF-D9	+	66	10	14	204,1→144,2	27	4	6,9
DIA-D5	+	66	6	18	290,3→198,2	43	4	13,5
IBU-D3	-	-25	-8	-16	208,0→163,9	-12	-4	7,5
BPA-D16	-	-60	-7,5	-18	241,1→223,2	-24	-2	11,47

DP: potencial de orifício, EP: potencial de entrada, CE: energia de colisão, CXP: potencial de saída, RT: tempo de retenção cromatográfico. Ranitidina (RNT); atenolol (ATN); teobromina (TEO); paracetamol (PCT); sulfapiridina (SPY); dapsona (DPS); cefalexina (CFX); cafeína (CAF); ciprofloxacina (CPX); amoxicilina (AMX); sulfametoxazol (SMX); tropisetron (TPS); bupropiona (BPP); venlafaxina (VLX); erlotinib (ERL); amitriptilina (AMT); nortriptilina (NTP); levonorgestrel (NGT); carbamazepina (CBZ); atrazina (ATZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); naproxeno (NPX); diazepam (DIA); ácido acetilsalicílico (AAS); hidroclorotiazida (HCT); ácido clofibrato (CFB); bezafibrato

(BZF); ibuprofeno (IBU); diclofenaco (DCF); ácido mefenâmico (MEF); ácido cólico(CHO); genfibrozil (GFB); Estriol (E3); bisfenol A (BPA); 17- α -Ethinil-estradiol (EE2); 17- β Estradiol (E2); Estrona (E1); triclosan TCS).

3.6.4 *Desenvolvimento de gradiente cromatográfico*

Uma vez determinadas as razões m/z necessárias para identificação e confirmação dos analitos, procedeu-se com a etapa de separação por HPLC realizada em uma coluna de fase reversa Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6×150 mm, 5.0 μ m, Agilent, Santa Clara, EUA) por meio de um gradiente construído com água e MeOH como fases móveis.

A interface entre o cromatógrafo líquido e o espectrômetro de massas é estabelecido por uma fonte de ionização por *electrospray* (Turbo V, Sciex). Para aquisição em modo negativo, a fonte operou à -4500 V, e utiliza utilizando N₂ produzido e purificado em gerador Genius 3031 (Peak Scientific, Haverhill, EUA) como gás de dessolvatação (*curtain gas*, CUR), nebulização (GS1) secagem (GS2). Para aquisições em modo positivo, a fonte operou à 5500 V.

Para modo de ionização negativo, as fases móveis foram enriquecidas com 0,03% de hidróxido de amônio. A separação cromatográfica foi realizada à temperatura ambiente, sob vazão inicial de 650 μ L/min, mantendo-se a concentração relativa de MeOH em 15% por 2,5 min. Em seguida foi aumentada para 50% em 0,5 min e mantida por 0,5 min. Em seguida, foi aumentada para 100% em 8 min e mantida por 2,5 min. A condição inicial foi reestabelecida em 0,1 min e mantida por 3 min para limpeza e condicionamento da coluna cromatográfica.

Para determinações conduzidas em modo de ionização positivo, ambas foram enriquecidas com 0,1% de ácido fórmico. A separação cromatográfica foi realizada à temperatura ambiente, sob vazão inicial de 600 μ L/min, mantendo-se a concentração relativa de MeOH em 30% por 2,5 min. Em seguida foi aumentada para 35% em 1,0 min, seguido de outro incremento para 50 % em 2,0 min. Essa condição foi mantida por 1,0 min e em seguida aumentada para 80% em 1,5 min sendo mantida por 2,0 min. A condição inicial foi reestabelecida em 1,0 min e mantida por 4,0 min para limpeza e condicionamento da coluna cromatográfica. Em ambos os casos, o volume injetado de soluções e extratos foi de 20,0 μ L.

3.6.5 *Otimização de parâmetros de fonte*

Na fonte ESI empregada, há quatro fatores passíveis de otimização que influenciam a dessolvatação das gotículas carregadas da fase líquida: a temperatura da fonte (T) e as pressões dos gases de nebulização (GS1), secagem (GS2) e dessolvatação

(CUR, do inglês *curtain gas*). Estes fatores, quando devidamente ajustados, favorecem a formação de íons precursores e promovem maior detectabilidade ao método analítico. Assim, foi realizado um planejamento fatorial de dois níveis para os quatro fatores, apresentado na Tabela 2.6.

Tabela 2.6. Valores dos parâmetros de fonte atribuídos aos níveis inferior e superior para cada fator, a serem utilizados na etapa de otimização multivariada.

Fator	Modo Positivo		Modo Negativo	
	-	+	-	+
Temperatura (°C)	500	650	500	650
CUR (psi)	15	30	10	30
GS1 (psi)	30	60	30	60
GS2 (psi)	25	55	30	55

Em um planejamento fatorial 2^4 são realizados 16 ensaios onde uma matriz é construída de modo a permitir todas as combinações entre fatores e níveis. Cada fator (k) representa uma coluna da matriz, sendo que seus níveis inferior e superior, codificados com sinais negativos (-) e positivos (+), respectivamente, são alternados individualmente em 2^{k-1} . Deste modo, o primeiro fator é alternado em 2^0 , o segundo em 2^1 e assim sucessivamente. Por convenção, o primeiro ensaio foi realizado com todos os fatores em seu nível inferior (-). A voltagem da fonte foi fixada em -4500V 5500 V, nos modos negativo e positivo, respectivamente. Considerando que a temperaturas e as pressões dos gases relacionam-se com a vazão cromatográfica, é importante mencionar que esta etapa foi realizada somente após o desenvolvimento do gradiente cromatográfico. A matriz de planejamento para otimização dos parâmetros da fonte ESI está em conformidade com a Tabela 2.7.

Tabela 2.7: Matriz de planejamento codificada para realização dos ensaios de otimização para os parâmetros da fonte de ionização por ESI.

Ensaio	T (°C)	CUR (psi)	GS1 (psi)	GS2 (psi)
1	-	-	-	-
2	+	-	-	-
3	-	+	-	-
4	+	+	-	-
5	-	-	+	-
6	+	-	+	-
7	-	+	+	-
8	+	+	+	-
9	-	-	-	+
10	+	-	-	+
11	-	+	-	+
12	+	+	-	+
13	-	-	+	+
14	+	-	+	+

Ensaio	T (°C)	CUR (psi)	GS1 (psi)	GS2 (psi)
15	-	+	+	+
16	+	+	+	+

Símbolo + denota nível superior e - para nível inferior; T(C°) = temperatura da fonte de ionização; CUR = pressão do gás de dessolvatação ; GS1(psi) pressão do gás de nebulização; GS2 = pressão do gás de secagem.

Apesar do planejamento fatorial 2^4 possibilitar o cálculo de efeitos de interações de segunda, terceira e quarta ordem, estes não foram considerados, pois cada ensaio já representa uma condição na qual os quatro fatores são variados. Os efeitos principais (Ef) foram então calculados em duas etapas. Na primeira, de forma matricial pela Equação 1,

$$Ef = X^t Y \quad (1)$$

onde X^t é a matriz de planejamento transposta e Y é a matriz dos resultados experimentais. Em seguida, o efeito é obtido dividindo-se o valor resultante pela metade do número de ensaios realizados. A estimativa do erro associado ao efeito usualmente é feita por meio do cálculo da variância populacional (S^2) calculada pela Equação 2. Entretanto, como as replicatas de injeção não representam a variabilidade total do procedimento analítico, o número de repetições é considerado pequeno e, assim, poucos graus de liberdade são utilizados estimar a variância e o erro experimentais. Dessa forma é possível que ambos sejam subestimados. Uma maneira para se obter um maior número de graus de liberdade é realizar uma estimativa conjunta das variâncias (S_{conj}^2) dos efeitos de 3° e 4° ordem, calculada pela Equação 3. Dessa forma, o erro padrão dos efeitos (dado pelo desvio padrão) é então calculado pela Equação 4.

$$S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^N (y_i - y_m)^2 \quad (2)$$

$$S_{conj}^2 = \frac{S^2(123)+S^2(134)+S^2(234)+S^2(124)+S^2(1234)}{5} \quad (3)$$

$$s(Ef) = \sqrt{S_{conj}^2} \quad (4)$$

3.6.6 Quantificação das substâncias alvo

A quantificação dos analitos deu-se pela construção de curvas analíticas por superposição de matriz, com padronização interna do tipo *surrogate*. Neste caso, os

análogos deuterados são adicionados na amostra anteriormente à SPE e submetidos a todas as etapas de preparo de amostra. O sinal analítico de cada substância determinada foi normalizado pelo sinal de um análogo deuterado (PCT-d4, DIA-d5, CAF-d9, BPA-d16 ou IBU-d3) com concentração fixa de 50 µg/L, resultando em um valor referente à razão entre as áreas cromatográficas de ambas as substâncias. Devido a indisponibilidade de demais análogos deuterados, a atribuição de padrões internos para correção de sinal de cada substância deu-se por proximidade de RT. Como matriz para a construção das curvas analíticas, foi utilizado 50 µL de eluato de amostra de água do Lago Paranoá.

3.7 Tratamento dos dados e validação do Método

Curvas analíticas foram submetidas a análise de variância (ANOVA), onde testes F foram usados para verificar a significância das regressões (SER) e a falta de ajuste (Faj). As equações usadas são mostradas na Tabela 2.8, onde y_{ij} representa cada uma das n_i replicatas em um determinado nível de concentração; \bar{Y} é a média global de todas as observações para todos os pontos da regressão linear; \hat{y}_i é o valor de resposta previsto pela curva analítica para a concentração x_i ; \bar{y}_i representa o valor médio das observações no nível de concentração i . O número de graus de liberdade considera n como o número total de observações ($\sum n_i$), m é o número de padrões da curva analítica e p representa o número de parâmetros do modelo matemático. Neste caso, é igual a 2 por ser regressão linear.

Tabela 2.8: Equações utilizadas em Análise de Variância e seus respectivos graus de liberdade.

Somatória quadrática (SQ)	Fórmula	Grau de Liberdade	Média quadrática (MQ)
Total (T)	$\sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{Y})^2$	$n - 1$	$\frac{SQ_T}{n - 1}$
Regressão (R)	$n_i x \sum_i^m (\hat{y}_i - \bar{Y})^2$	$p - 1$	$\frac{SQ_R}{p - 1}$
Resíduo (r)	$\sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	$n - p$	$\frac{SQ_r}{n - p}$
Falta de Ajuste (Faj)	$n_i x \sum_i^m (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	$m - p$	$\frac{SQ_{Faj}}{m - p}$
Erro Puro (EP)	$\sum_i^m \sum_j^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$	$n - m$	$\frac{SQ_{EP}}{n - m}$

Subíndice i representa um nível de concentração e subíndice j representa replicata de injeção.

Para avaliara a SER, o valor tabelado de F é obtido a 95% de probabilidade, bicaudal com $F_{0,05; 1, n-2}$ graus de liberdade e comparado com o valor estimado de $F_{1, n-2}$, o qual é calculado pela Equação 5. Para avaliar a Faj da regressão, o valor tabelado de F a 95% de probabilidade, bicaudal, com $F_{0,05; m-2, n-2}$ graus de liberdade é comparado com o valor estimado de $F_{m-2, n-2}$, calculado pela Equação 6. O coeficiente de correlação R^2 foi estimado pela Equação 7 e foi utilizado para avaliar a linearidade da curva.

$$F_{1, n-2} = \frac{MQ_R}{MQ_r} \quad (5)$$

$$F_{m-2, n-2} = \frac{MQ_{Faj}}{MQ_{Ep}} \quad (6)$$

$$R^2 = \frac{SQ_R}{SQ_T} \quad (7)$$

A detectabilidade foi avaliada por meio dos limites de quantificação e de detecção. Para cada analito, o limite de quantificação instrumental (iLOQ) foi considerado como a menor concentração na curva analítica, dada uma relação sinal/ruído de 10 vezes, e o limite de detecção instrumental (iLOD) foi calculado dividindo-se iLOQ por um fator de 3,3. Já os limites de quantificação e detecção do método (mLOQ e mLOD, respectivamente) foram estimados dividindo-se os limites instrumentais pelo fator de concentração (FC) do método que foi de 1000 vezes.

A precisão instrumental foi avaliada por meio do coeficiente de variação (CV %) das triplicatas de injeção, mostrado na Equação 8, onde X_m é a media aritméticas do sinal analítico obtido para as replicatas e S o seu respectivo desvio padrão.

$$CV (\%) = \frac{S}{X_m} \times 100 \quad (8)$$

3.8 Avaliação de risco ambiental

Uma das abordagens mais simples para se avaliar o risco ambiental dos MPE baseia-se no cálculo do quociente de risco (RQ, do inglês *risk quotient*) que relaciona a concentração medida no ambiente (MEC, do inglês *measured environmental*

concentration) e a concentração na qual não é esperado efeito adverso (PNEC, do inglês, *predicted no-effect concentration*) [158]. Valores de PNEC podem ser derivados de ensaios de toxicidade aguda ou crônica, conforme disponibilidade. Para esta avaliação, foram utilizados os valores de PNEC mais restritivos disponíveis na literatura. O RQ tem sido amplamente empregado na literatura [159–161] para classificar o risco ambiental em três grupo: sem risco ($QR < 0,1$), risco em potencial ($0,1 \leq QR < 1$), onde aconselha-se o monitoramento do MPE, e apresenta risco ($QR \geq 1$) [162,163].

3.9 Avaliação da qualidade da água

3.9.1 Preparo de amostra para análise de qualidade da água

Parâmetros de qualidade da água avaliados foram pH, temperatura (T), condutividade elétrica (EC), oxigênio dissolvido (OD), alcalinidade (mg CaCO₃/L), teor de cloreto (Cl⁻), sólidos suspensos totais (SST), orto-fosfato (PO₄³⁻), carbono orgânico total (COT, na fração dissolvida) e nitrogênio total (NT, na fração dissolvida). Para a determinação de SST, alíquotas de 250 mL da amostra bruta foram filtradas em membrana de fibra de vidro do tipo GF-3 (Macherey-Nagel, Duren, Alemanha). Para os parâmetros orto-fosfato, COT e NT, uma etapa de filtração em a membrana de éster de celulose com porosidade de 0,45 µm foi adicionada. Já para a determinação da alcalinidade e cloreto, foi utilizada alíquota de amostra bruta [164]. Os métodos analíticos utilizados para determinação dos parâmetros de qualidade, bem como os volumes de amostra utilizados foram listados na Tabela 2.9.

Tabela 2.9 Parâmetros de qualidade avaliados nos pontos amostrais, métodos empregados e volume de amostra utilizados para suas determinações.

Parâmetro	*Método	Descrição
Alcalinidade (mg CaCO₃/L)	2320 B	Titulação de 50 mL de amostra com ácido clorídrico 0,1 mol/L até pH 4,3 em pHmeter.
Cloreto (mg /L)	4500 Cl- B	Determinação por argentometria empregando indicador cromato de potássio. Utilizou-se 50 mL de amostra.
Sólido suspenso total (mg/L)	2540 - D	Determinação por método gravimétrico, empregando-se membrana de microfibras de vidro e balança analítica**
Fosfato (orto) (mg/L)	4500 PE	Quantificação de orto-fosfato em 5 mL de amostra por método colorimétrico com detecção em UV-Vis*** no comprimento de onda 880 nm.
Carbono Orgânico Dissolvido (mg/L)	Analizador Analyzer multi N/C 3100	Determinação por combustão catalítica, empregando 5 mL de amostra.
Nitrogênio Total Dissolvido (mg/L)	Analizador Analyzer multi N/C 3100	Determinação por combustão catalítica, empregando 5 mL de amostra.

Parâmetro	*Método	Descrição
pH	<i>In situ</i>	Realizadas com a sonda multiparâmetro Hanna HI 9829
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	<i>In situ</i>	Realizadas com a sonda multiparâmetro Hanna HI 9829
Temperatura (°C)	<i>In situ</i>	Realizadas com a sonda multiparâmetro Hanna HI 9829
Condutividade Elétrica (µS/cm)	<i>In situ</i>	Realizadas com a sonda multiparâmetro Hanna HI 9829
Sólido Dissolvido Total (mg/L)	<i>In situ</i>	Realizadas com a sonda multiparâmetro Hanna HI 9829

*Métodos segundo o Standard Methods, 25ª edição [164]; ***(XS205 Meter Toledo, Barueri, Brasil); ***(Cary 8454, Agilent, California, EUA).

3.9.2 Avaliação da qualidade da água utilizando IQA

Para realizar uma avaliação da qualidade da água de maneira abrangente, considerou-se a aplicação do IQA proposto pelo Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente (CCME). Este IQA possui um algoritmo flexível, que pode ser adaptado para diferentes finalidades e cenários socioeconômicos, uma vez que não estabelece categoricamente quais parâmetros de qualidade devem ser utilizados. Em seu algoritmo, considera três fatores: escopo (F1) dos parâmetros, além de frequência (F2) e magnitude (F3) de suas falhas em relação às diretrizes escolhidas (VMP) [165]. Estes fatores e como são obtidos estão elencados na Tabela 2.10 e o cálculo do IQA CCME é realizado segundo a Equação 9. Este IQA reporta um valor para representar a qualidade de todos os pontos amostrais avaliados, sem diferenciá-los espacial e temporalmente.

$$IQA\ CCME = 100 - \frac{\sqrt{F1^2 + F2^2 + F3^2}}{1,732} \quad (9)$$

A variável F1 avalia quais parâmetros falham perante as diretrizes escolhidas. F2 avalia quantas vezes cada parâmetro falha frente às diretrizes, considerando o número total de testes realizados. Já F3 estima em quanto o teste falho excede o valor de referência. Esta variável é obtida em duas etapas. Na primeira é calculada a excursão individual, que reporta para cada teste realizado (parâmetro x diretriz), o quanto o parâmetro falha. Neste cálculo, o valor dado por “objetivo” é referente ao estabelecido pela diretriz utilizada, e “valor falho” é dado pelo valor individual de cada parâmetro que não atendeu à diretriz. Em seguida, todos os valores de excursão são somados e então divididos pelo número total de testes falhos, gerando a excursão normalizada (nse, so

inglês, *normalized excursion*). A raiz quadrada da somatória quadrática das variáveis é dividida por 1,732, que correspondente a raiz quadrada de 3. Dessa forma, a escala do IQA CCME varia entre 0-100, onde maiores valores estão associados à melhor qualidade da água. O IQACCME avalia a qualidade da água como sendo “excelente” quando o valor de CCME estiver entre 100 e 95, “bom” para valores entre 94-80, “regular” entre 79-65, “ruim” entre 64-45 e “péssimo” para valores abaixo de 45.

Tabela 2.10: Variáveis utilizadas para o cálculo do IQACCME, e como são obtidas matematicamente.

Fator	Cálculo
F1	$F1 = \frac{n^\circ \text{ de parâmetros falhos}}{n^\circ \text{ de parâmetros avaliados}}$
F2	$F2 = \frac{n^\circ \text{ de testes falhos}}{n^\circ \text{ total de testes avaliados}}$
	Etapa 1
	$Excursão_i = \frac{Objetivo}{Valor falho}$
F3	Etapa 2
	$nse = \frac{\sum_i^n Excursão}{n^\circ \text{ total de testes falhos}}$
	$F3 = \frac{nse}{0,01 * nse + 0,01}$

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Identificação de substância não-alvo

Com os parâmetros de equipamento ajustados, foram obtidos espectros de massa em modo de aquisição IDA, referentes aos extratos da amostra de água do ponto PL a diferentes valores de pH. A Figura 2.7 exibe um desses espectros. Em seguida, a identificação das substâncias deu-se por meio da plataforma GNPS.

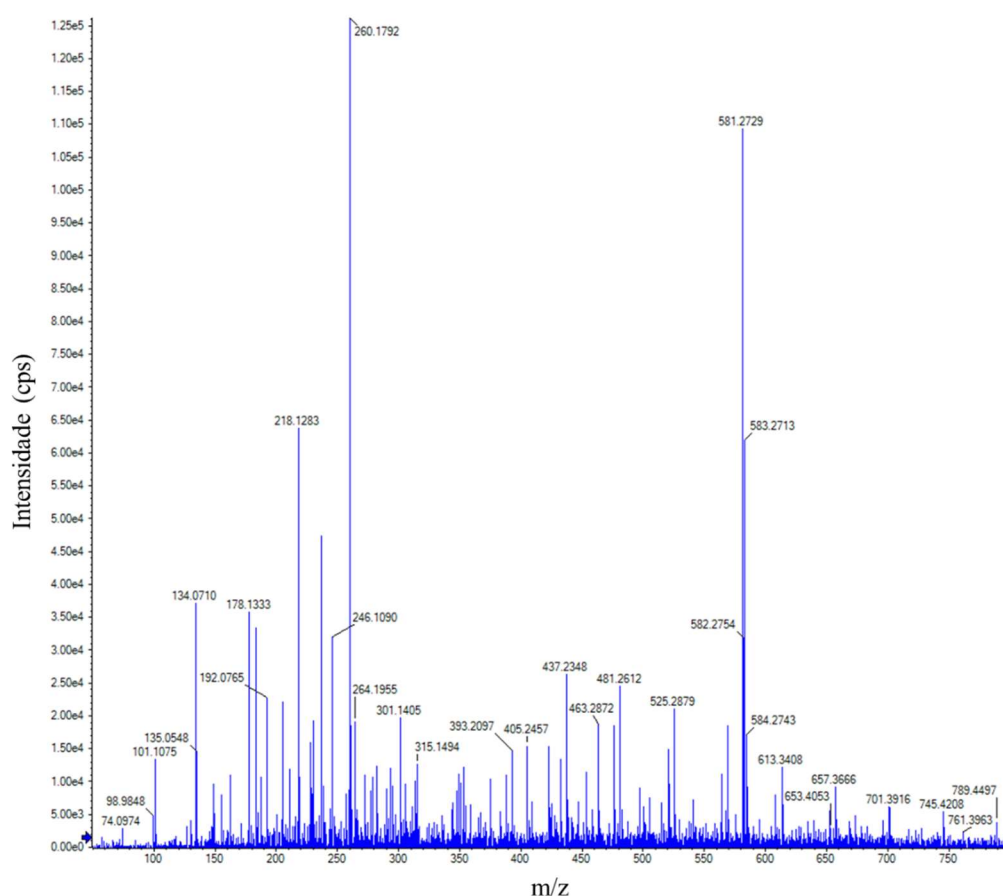


Figura 2.7: Espectro de massas obtido por IDA. Análise do extrato acidificado a pH 6, analisado em modo positivo no QTOF.

Após todos os parâmetros de análise serem ajustados na plataforma e a análise ser submetida, mais de 50 substâncias foram identificadas e as informações referentes às mesmas são apresentadas na Tabela 2.11.

Tabela 2.11: Substâncias identificada pela análise não-alvo na amostra do ponto PL, considerando as alíquotas em pH 2, 6 e 10.

Substância	Fórmula molecular	Cosine	Diferença de massa (Da)	Uso Primário
Curvulina	C ₁₂ H ₁₄ O ₅	0,85	32,031	Fitotoxina
Bis-tris	C ₈ H ₁₉ NO ₅	0,76	38,936	Tampão para ajuste de ph de soluções bioquímicas
Ácido metil glutarico	C ₆ H ₁₀ O ₅	0,81	32,045	Metabolito da Crotalaria dura
Termilignan	C ₁₉ H ₂₀ O ₃	0,86	68,092	Biomolécula presente na Terminalia sericea
Tropoflavina	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	0,72	60,069	Agonista de moléculas pequenas
Daidzen	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	0,82	99,105	Biomolécula proveniente da soja
Liquiritigenin	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	0,76	63,084	Metabolito da Glycyrrhizae uralensis
Aloína	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	0,88	105,820	Glicosídeo antraquinônico

Substância	Fórmula molecular	Cosine	Diferença de massa (Da)	Uso Primário
N-acetilornitina	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₃	0,82	54,100	Metabolito humano e da Escherichia coli
Sebacate	C ₁₀ H ₁₆ O ₄ ⁻²	0,80	70,100	Metabolito humano
Oxido de cariolofileno	C ₁₄ H ₂₂ O	0,76	79,926	Sesquiterpeno bicíclico
Ácido 1,10-decanodioico	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	0,89	109,876	Metabolito humano derivado do sebacate
Fosfatidiletanolamina	C ₂₅ H ₄₆ NO ₇ P	0,86	223,109	Glicerofosfolípido
Acido aspartico	C ₄ H ₇ NO ₄	0,81	81,02	Neurotransmissor
Ácido hidroxibutirico	C ₄ H ₈ O ₃	0,73	74,007	Metabolito humano
Ácido DL-p-hidroxifenilático	C ₉ H ₁₀ O ₄	0,85	204,999	Metabolito humano derivado do rac-acido lático
Ácido 2-etoxi-6-fluorofenilborônico	C ₈ H ₁₀ BFO ₃	0,86	10,219	Inibidor do receptor de fator de crescimento de fibroblastos
2'-Desoxicitidina-5'-monofosfato	C ₉ H ₁₄ N ₃ O ₇ P	0,74	18,996	Metabolito da Escherichia coli e de ratos.
Ácido palmitoléico	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	0,75	15,868	Metabolito humano, presente no plasma sanguíneo
Cloridrato de anabasamina	C ₁₆ H ₂₀ ClN ₃	0,77	35,976	Alcaloide proveniente de Anabasis aphylla
Chebi:139416	C ₂₇ H ₄₆ O ₉	0,74	56,084	Glicoglicerolípido
Kavatin	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	0,74	21,031	Metabolito de plantas <i>Kava</i>
Epiandrosterona	C ₁₉ H ₃₀ O ₂	0,70	21,985	Precursor da testosterona e estradiol
Cetoleucina	C ₆ H ₁₀ O ₃	0,89	50,500	Derivado do ácido velérico
Frutose	C ₆ H ₁₂ O ₆	0,72	89,940	Monosacarídeo
Ácido aminoadípico	C ₆ H ₁₁ NO ₄	0,91	67,100	Aminoácido
Metiltioadenosina	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₃ S	0,91	79,969	Metabolito da adenosina
Ribosídeo de diclorobenzimidazol	C ₁₂ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₄	0,71	49,840	Inibidor da RNA polimeraseii
Uridina	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆	0,74	39,877	Nucleosídeo constituinte do RNA
Glicerol-3-fosfato	C ₃ H ₉ O ₆ P	0,88	10,056	Metabolito humano e de algas.
Dibenzoilmetano	C ₁₅ H ₁₂ O ₂	0,72	50,844	Filtro UV.
Coumaclor	C ₁₉ H ₁₅ ClO ₄	0,83	53,862	Rodenticida
Fumarina	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	0,71	50,021	Rodenticida
Diclorprop	C ₉ H ₈ Cl ₂ O ₃	0,77	8,076	Herbicida
Etoprop	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	0,70	49,736	Inseticida
Acetoclor	C ₁₄ H ₂₀ ClNO ₂	0,74	75,145	Herbicida
Flufenacet	C ₁₄ H ₁₃ F ₄ N ₃ O ₂ S	0,76	75,082	Herbicida
Ácido tetradecano-7-sulfônico	C ₁₄ H ₃₀ O ₃ S	0,99	0	Surfactante
Ácido dodecilbezossulfônico	C ₁₈ H ₃₀ O ₃ S	0,94	0	Surfactante
Ácido decilbenzenossulfônico	C ₁₆ H ₂₆ O ₃ S	0,86	28,053	Surfactante
Ácido benzenossulfônico	C ₆ H ₆ O ₃ S	0,77	120,062	Fabricação de corantes, tintas, surfactantes
Undecaetilenoglicol	C ₂₂ H ₄₆ O ₁₂	0,79	61,053	Meio reacional

Substância	Fórmula molecular	Cosine	Diferença de massa (Da)	Uso Primário
Decaetilenoglicol	C ₂₀ H ₄₂ O ₁₁	0,87	61,052	Meio reacional
Nonaetilenoglicol	C ₁₈ H ₃₈ O ₁₀	0,85	17,026	Meio reacional
Dibutilftalato	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0,92	112,126	Fabricação de materiais plasticos
2,4-dihidroxiheptadec-16-inil acetato	C ₁₉ H ₃₄ O ₄	0,84	1,979	Hidrocarboxilação seletiva de compostos graxos insaturados
Diocetilftalato	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	0,91	0,002	Fabricação de plasticos, cosmeticos, adesivos, revestimentos, pesticidas.
Dietilftalato	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	0,96	102,103	Fabricação de plasticos, perfumes
1H-benzotriazol	C ₆ H ₅ N ₃	0,83	14,015	Agente anticorrosivo
Farnesol	C ₁₅ H ₂₆ O	0,80	13,682	Agente antimicrobiano, fragrância em cosmeticos
4-nitrofenol	C ₆ H ₅ NO ₃	0,70	111,002	Matéria prima parafabricar fármacos, fungicidas, inseticidas e tintas

A presença de produtos naturais, biomoléculas e seus produtos de degradação, pode estar atrelada tanto às matas ciliares, sua fauna, e às áreas de manejo de animais nas proximidades, quanto ao esgoto sanitário. É possível ainda contribuições provenientes dos processos industriais, uma vez que diversas biomoléculas podem ser utilizadas como aditivos alimentares tanto para alimentação humana quanto animal, como a leucina e frutose. Já com relação aos pesticidas, sua presença provavelmente está atrelada às chácaras nas áreas adjacentes à ETE-DAIA e dentro da mesma, onde o cultivo de milho é bastante comum. Neste cenário, a utilização de pesticidas é conveniente para evitar larvas, ervas daninhas e a presença de roedores que possam prejudicar a cultura. Ademais, há no DAIA indústrias de domissanitários, possível fonte para a presença de alguns pesticidas.

Emulsificantes e agentes plastificantes como dioctil, dibutil e dietilftalato estão associados às atividades industriais para a produção de bens de consumo variados, como resinas, vernizes e tintas, atividades também presentes no DAIA. Também foi identificado um anticorrosivo comumente utilizado na indústria metalúrgica, o 1H-benzotiazol, além de surfactantes como o ácido dodecilbenzossulfônico, que tem ampla utilização em produtos de higiene pessoal. A presença de etilenoglicóis também é comum nos efluentes industriais, pois são utilizados como matéria prima para a produção de fármacos e são meios reacionais, dentre os quais podem ser citados undeca, deca e nona etilenoglicóis. Conforme esperado, estes achados suportam a presença de atividades industriais diversas, bem como a presença de esgoto sanitário.

Apesar da relevância das substâncias anteriormente citadas no escopo de MPE, o objetivo deste ensaio é buscar notadamente por fármacos para serem inseridos na rotina de monitoramento. Os fármacos identificados são apresentados na Tabela 2.12.

Tabela 2.12: Fármacos identificados pela plataforma GNPS na amostra de efluente coletada na saída da ETE-DAIA, e parâmetros utilizados para confirmar a identificação das substâncias não-alvo.

Substância	Fórmula Molecular	Cosine	Erro de massa (ppm)	Molécula detectada	Classe
Fosinopril	C ₃₀ H ₄₆ NO ₇ P	0,7	540882	[C ₁₂ H ₁₃ O ₃ PNa] ⁺	Anti hipertensivo
Sulfapiridina	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	0,75	3854	[M+H] ⁺	Bactericida veterinário
Carbamazepina	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	0,98	0	[M+H] ⁺	Anti epileptico
Ranitidina	C ₁₃ H ₂₂ N ₄ O ₃ S	0,91	3	[M+H] ⁺	anti ácido
Erlotinib	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₄	0,74	365482	MS ² = 250	Antineoplásico
LL-Z1272. Epsilon	C ₂₃ H ₃₂ O ₄	0,83	212807	[M+NH ₄] ⁺	Antibiótico
Tropisetron	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₂	0,88	249122	MS ² = 124	Antiemético
Ácido Cólico	C ₂₄ H ₄₀ O ₅	0,88	150617	[C ₂₃ H ₃₇ O ₂ +NH ₃] ⁻	Regulador lipídico
Teobromina	C ₇ H ₈ N ₄ O ₂	0,87	0	[M+H] ⁺	Vaso dilatador

Para cada *match* apresentado, exceto para o fármaco tropisetron e para teobromina, os quais tiveram 2 transições confirmadas, todos os demais tiveram três transições em comum com o espectro de referência na base de dados, além de *cosine* superior a 0,7. Nesta tabela, também são apresentados os erros de massa (em ppm) referentes a razão m/z do íon precursor. Devido a diferenças entre resoluções de massa entre o equipamento utilizado para realizar a aquisição dos dados (QTOF) e aqueles que compõe a biblioteca de espectros (Triplo quadrupolo, QTRAP, etc), erros da ordem de 4000 ppm costumam representar diferenças de até 0,9 Da, compatíveis com resoluções unitárias. Valores mais elevados são associados a formação de adutos (NH₄⁺, Na⁺), perda de grupos funcionais, ou referente a razão m/z de seus íons produto, conforme identificados na Tabela 2.12.

A diferença de massa obtida para Fosinopril corresponde a 305 Da, e deve-se a quebra da estrutura original, seguida de formação de aduto com Na⁺ [166]. Já ácido cólico, foi detectado por meio de seu fragmento com m/z 345, que em modo de ionização negativo pode formar adutos com NH₃, sendo detectada a molécula ionizada com m/z 362

[167]. De maneira semelhante, Para o antibiotico LLZ1272-Epsilon foi detectado o fragmento com m/z 307, que foi identificado como um aduto com NH_4^+ com íon produto com $m/z = 289$ [168]. Tropisetron e erlotinib foram identificados pelos íons produto, não sendo encontrados os precursores.

Alguns dos fármacos identificados podem ter suas fontes associadas tanto ao esgoto industrial quanto ao doméstico. Carbamazepina, sulfapiridina, e ranitidina são comumente encontrados em águas brasileiras devido a ampla utilização, excreção humana e manejo de animais [169,170]. Ainda assim, o aporte devido à presença do empreendimento industrial não pode ser desconsiderado. Já a ocorrência de tropisetron, erlotinib e LL-Z1272 Epsilon foi atribuída ao efluente industrial, uma vez que tratam-se de fármacos dedicados a finalidades específicas, sendo o uso restrito. Erlotinib é um antineoplásico e tropisetron é um antiemético prescrito para pacientes em tratamento de neoplasias. Já LL-Z1272 Epsilon é antibiótico utilizado no tratamento de doenças causada por bactérias resistentes a demais antibióticos.

Baseado nos resultados oferecidos pela análise de substância não-alvo, padrões analíticos de erlotinib, tropisetron ranitidina, sulfapiridina e ácido cólico foram adquiridos como forma de incluí-los no método analítico voltado à quantificação de substâncias-alvo. Apesar dos esforços para realizar a compra de fosinopril e epsilon, seus padrões analíticos não estavam disponíveis para aquisição.

4.2 Quantificação de substâncias-alvo

4.2.1 Condições otimizadas para a separação cromatográfica

Diferentes gradientes de eluição foram utilizados para realizar as determinações das substâncias alvo. A Figura 2.8 mostra cromatogramas de soluções padrão para as substâncias analisadas em modo positivo e negativo.

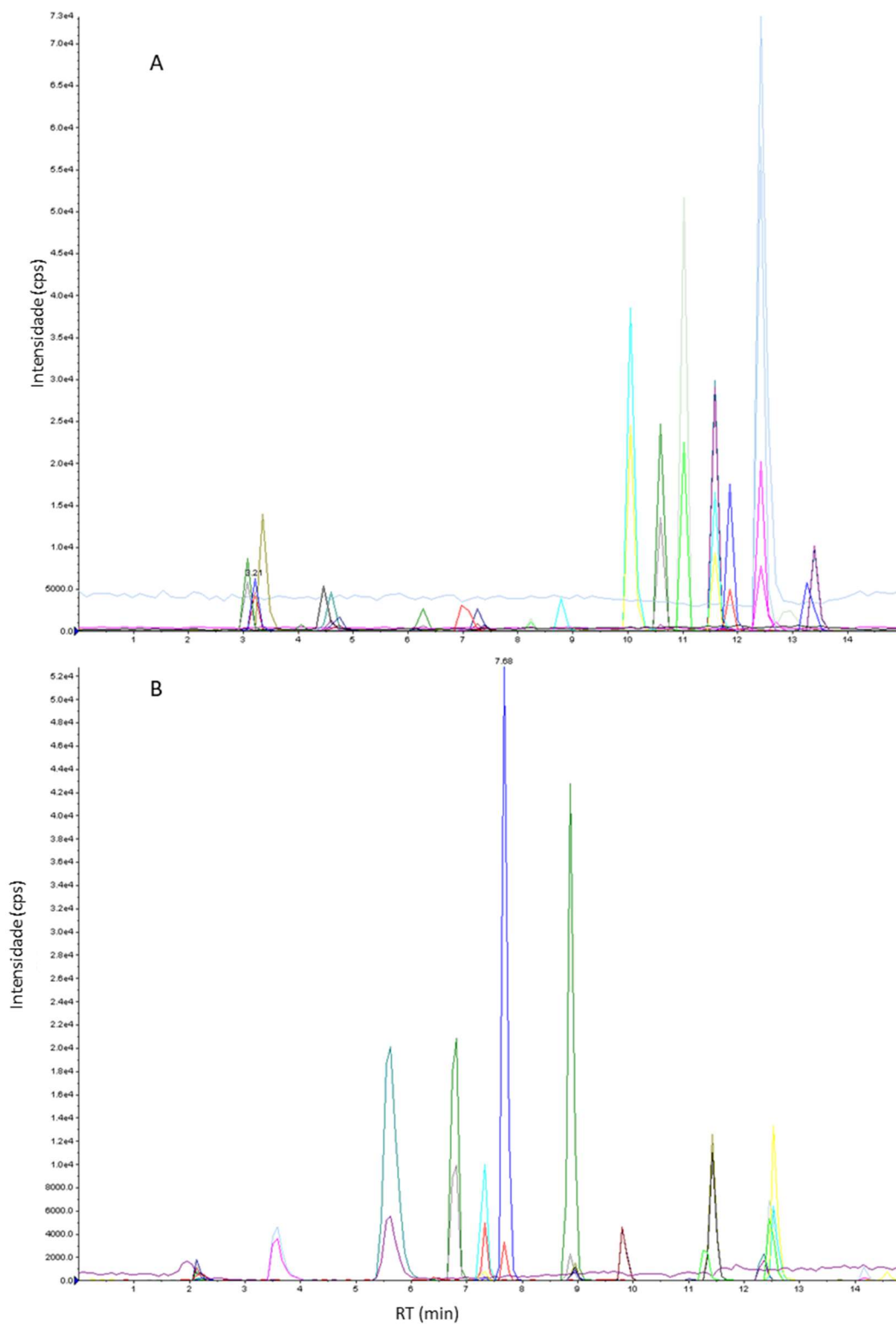


Figura 2.8. Cromatogramas de mistura de padrões analíticos obtidos para as substâncias analisadas em modo negativo (A) e positivo (B)

Em métodos multirésduos é comum ocorrer coeluição devido a presença de substâncias com propriedades físico-químicas semelhantes. Porém, devido a detecção *in tandem* LC-MS/MS, é possível distinguir cada substância por seu espectro de massa,

possibilitando a quantificação de diferentes substâncias eluindo no mesmo RT, desde que as transições monitoradas sejam diferentes. É possível verificar que ATN e RNT são eluídos em RT muito próximos, ocorrendo sobreposição de picos, entretanto as transições monitoradas são diferentes. O mesmo ocorre com CFX, CPX e CAF em 7,2 minutos, DIA e NPX em 13,3 min, além de CBZ e NTP em 11,6. Já no modo negativo, pode-se observar coeluição dos hormônios E1 e E2, e em RT muito próximo, ocorre a eluição de EE2. Apesar de EE2 e E1 apresentarem o mesmo íon produto (m/z 143,1) a transição é precursor-produto é diferente. No modo de aquisição MRM a transição é detectada, assim não há prejuízo para a quantificações dos analitos.

4.2.2 Otimização dos parâmetros de fonte

A Tabela 2.13 apresenta os valores dos efeitos principais de primeira ordem obtidos para as condições experimentais avaliadas na otimização multivariada. Nesta etapa, as substâncias RNT, TPS, ERL, SPY, AAS e CHO não foram contempladas, pois após sua aquisição, houve atraso na entrega de seus padrões analíticos, que chegaram após o início das campanhas amostrais.

Tabela 2.13. Efeitos principais de primeira ordem e seus erros padrão estimados para as condições experimentais avaliadas na etapa de otimização multivariada para os parâmetros da fonte de ionização em ESI.

Substância	Média	1	2	3	4
ATN	137 ± 19	19 ± 19	56 ± 19	83 ± 19	11 ± 19
TEO	157 ± 24	55 ± 24	47 ± 24	85 ± 24	-13 ± 24
PCT	93 ± 14	13 ± 14	25 ± 14	37 ± 14	-9 ± 14
DPS	76 ± 16	21 ± 16	27 ± 16	43 ± 16	17 ± 16
CFX	18 ± 4	6 ± 4	3 ± 4	6 ± 4	-3 ± 4
CAF	52 ± 10	17 ± 10	18 ± 10	21 ± 10	6 ± 10
CPX	12 ± 2	-2 ± 2	3 ± 2	3 ± 2	-3 ± 2
AMX	42 ± 7	10 ± 7	13 ± 7	14 ± 7	3 ± 7
SMX	40 ± 6	12 ± 6	10 ± 6	21 ± 6	6 ± 6
BPP	408 ± 58	161 ± 58	151 ± 58	118 ± 58	-32 ± 58
VLX	309 ± 69	105 ± 69	143 ± 69	106 ± 69	-22 ± 69
AMT	189 ± 15	63 ± 15	29 ± 15	73 ± 15	-47 ± 15
NTP	204 ± 29	-56 ± 29	51 ± 29	104 ± 29	18 ± 29
NGT	18 ± 3	3 ± 3	5 ± 3	6 ± 3	-0,6 ± 3
CBZ	240 ± 29	49 ± 29	66 ± 29	83 ± 29	-29 ± 29
ATZ	567 ± 80	122 ± 80	147 ± 80	270 ± 80	-0,8 ± 80
DEET	1187 ± 160	316 ± 160	299 ± 160	359 ± 160	-22,2 ± 160
NPX	35 ± 5	7 ± 5	8 ± 5	17 ± 5	3 ± 5
DIA	182 ± 2	62 ± 2	68 ± 2	61 ± 2	16 ± 2
HCT	183 ± 63	22 ± 63	20 ± 63	50 ± 63	183 ± 63
CFB	444 ± 164	-124 ± 164	16 ± 164	126 ± 164	444 ± 164
BZF	185 ± 24	62 ± 24	25 ± 24	45 ± 24	185 ± 24
IBU	16 ± 5	6 ± 5	2 ± 5	4 ± 5	16 ± 5
DCF	71,2 ± 12	27 ± 12	6 ± 12	15 ± 12	71 ± 12

Substância	Média	1	2	3	4
MEF	230 ± 37	80 ± 37	21 ± 37	46 ± 37	230 ± 37
GFB	192 ± 25	16 ± 25	20 ± 25	23 ± 25	192 ± 25
E3	26 ± 5	5 ± 5	4 ± 5	8 ± 5	26 ± 5
BPA	70 ± 13	10 ± 13	5 ± 13	18 ± 13	70 ± 13
EE2	17 ± 3	2,8 ± 3	2 ± 3	6 ± 3	18 ± 3
E2	53 ± 9	8 ± 9	5 ± 9	16 ± 9	53 ± 9
E1	100 ± 16	14 ± 16	12 ± 16	30 ± 16	100 ± 16
TCS	2,0 ± 0,4	-1 ± 0,4	0,9 ± 0,4	0,8 ± 0,4	2 ± 0,4

Atenolol (ATN); teobromina (TEO); paracetamol (PCT); dapsona (DPS); cefalexina (CFX); cafeína (CAF); ciprofloxacina (CPX); amoxicilina (AMX); sulfametoxazol (SMX); bupropiona (BPP); venlafaxina (VLX); amitriptilina (AMT); nortriptilina (NTP); levonorgestrel (NGT); carbamazepina (CBZ); atrazina (ATZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); naproxeno (NPX); diazepam (DIA); hidroclorotiazida (HCT); ácido clofibrato (CFB); bezafibrato (BZF); ibuprofeno (IBU); diclofenaco (DCF); ácido mefenâmico (MEF); genfibrozil (GFB); Estriol (E3); bisfenol A (BPA); 17- α -Ethinil-estradiol (EE2); 17- β Estradiol (E2); Estrona (E1); triclosan TCS).

Das 32 substâncias otimizadas, 22 apresentam maior sinal analítico quando utilizada a terceira condição experimental. A segunda condição favoreceu apenas três substâncias, das quais duas são produtos de higiene pessoal (TCS e DEET). De maneira a favorecer o sinal analítico dos fármacos estudados, os produtos de higiene pessoal não foram considerados prioridade para esta avaliação. Apenas quatro analitos foram favorecidos pela primeira condição experimental e três analitos tiveram o valor dos efeitos inferiores ao valor do erro padrão estimado. Apesar das condições de fonte não serem ideais para todos os analitos, quase 70% das substâncias estudadas apresentam boas respostas na terceira condição experimental. Sendo assim, as análises conduzidas em modo positivo têm a fonte de ionização operando à 500°C, com *curtain gas* à 30 psi, GS1 à 30 psi e GS2 à 30 psi. Já para o modo negativo, a temperatura da fonte foi de 500°C, com *curtain gas* à 30 psi, GS1 à 30 psi e GS2 à 25 psi. Após esta etapa de otimização, prosseguimos para a construção de curvas analíticas para realizar a quantificação dos analitos nas amostras a serem coletadas. Diversas figuras de mérito serão avaliadas, contribuindo para averiguar se as condições experimentais estabelecidas se mostram eficientes.

4.2.3 Desempenho do método analítico

Devido a indisponibilidade de demais padrões deuterados, um mesmo análogo foi utilizado para a normalização do sinal analítico de vários analitos, considerando como critério de utilização a proximidade de RT. A Tabela 2.14 apresenta o padrão interno utilizado para correção de sinal analítico de cada substância, e as figuras de mérito R² e valores de teste F para avaliar a significância estatística da regressão (SER) e falta de ajuste (Faj). Imagens das curvas analíticas são mostradas na Figura 1 do Material Suplementar.

Tabela 2.14. Figuras de mérito das regressões lineares para cada substância investigada e testes F para verificação da significância estatística (SER) e falta de ajuste (Faj).

Substância	Padrão Interno	R ²	SER		Faj	
			Fcrítico	Fcalculado	Fcrítico	Fcalculado
RNT	PCT-D4	0,999	4,38	40952,8	2,95	0,78
ATN	PCT-D4	0,996	4,38	1449,8	2,95	1,22
TEO	CAF-D9	0,997	4,38	1391,4	2,95	0,8
PCT	PCT-D4	0,996	4,38	2025,6	2,95	2,08
SPY	PCT-D4	0,998	4,38	6069,28	2,95	0,21
DPS	CAF-D9	0,999	4,38	17305,9	2,95	0,08
CFX	CAF-D9	0,999	4,38	6413,8	2,95	0,72
CAF	CAF-D9	0,998	4,38	4356	2,95	2,07
CPX	CAF-D9	0,995	4,38	864,7	2,95	0,77
AMOX	CAF-D9	0,998	4,38	2300,8	2,95	2,59
SMX	CAF-D9	0,999	4,38	1310,3	2,95	0,07
TPS	CAF-D9	0,999	4,38	2104,1	2,95	0,05
BPP	DIA-D5	0,996	4,38	1826,9	2,95	1,34
VLX	DIA-D5	0,997	4,38	2902,9	2,95	1,72
ERLO	DIA-D5	0,998	4,38	4615,9	2,95	1,75
AMT	DIA-D5	0,998	4,38	5645,7	2,95	1,92
NTP	DIA-D5	0,996	4,38	1676,2	2,95	1,63
NGT	DIA-D5	0,999	4,38	4343,12	2,95	0,07
CBZ	DIA-D5	0,993	4,38	1258,2	2,95	2,16
ATZ	DIA-D5	0,998	4,38	3629,3	2,95	1,44
DEET	DIA-D5	0,996	4,38	2441,9	2,95	2,27
NPX	CAF-D9	0,999	4,38	5410,1	2,95	1,24
DIA	DIA-D5	0,999	4,38	3309,1	2,95	0,16
AAS	IBU-D3	0,998	4,38	1286,3	2,95	0,43
HCT	IBU-D3	0,999	4,38	3724,4	2,95	0,29
CFB	IBU-D3	0,999	4,38	4305,5	2,95	0,25
BZF	IBU-D3	0,999	4,38	1371,6	2,95	0,08
IBU	IBU-D3	0,991	4,38	928,9	2,95	1,87
DCF	IBU-D3	0,997	4,38	1293,7	2,95	0,66
MEF	BPA-D16	0,995	4,38	1498,17	2,95	1,79
CHO	BPA-D16	0,999	4,38	2156,7	2,95	0,72
GFB	BPA-D16	0,997	4,38	1945,7	2,95	1,22
E3	BPA-D16	0,999	4,38	7886,1	2,95	2,4
BPA	BPA-D16	0,999	4,38	4227	2,95	0,02
EE2	BPA-D16	0,996	4,38	1376,7	2,95	1,18
E2	BPA-D16	0,999	4,38	3112,8	2,95	0,42
E1	BPA-D16	0,997	4,38	2897,8	2,95	1,84
TCS	BPA-D16	0,998	4,38	5650,6	2,95	2,08

SER = significância estatística da regressão; Faj = Falta de ajuste; . Ranitidina (RNT); atenolol (ATN); teobromina (TEO); paracetamol (PCT); sulfapiridina (SPY); dapsona (DPS); cefalexina (CFX); cafeína (CAF); ciprofloxacina (CPX); amoxicilina (AMX); sulfametoxazol (SMX); tropisetron (TPS); bupropiona (BPP); venlafaxina (VLX); erlotinib (ERL); amitriptilina (AMT); nortriptilina (NTP); levonorgestrel (NGT); carbamazepina (CBZ); atrazina (ATZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); naproxeno (NPX); diazepam (DIA); ácido acetilsalicílico (AAS); hidroclorotiazida (HCT); ácido clofibrato (CFB); bezafibrato (BZF); ibuprofeno (IBU); diclofenaco (DCF); ácido mefenâmico (MEF); ácido cólico (CHO); genfibrozil (GFB); Estriol (E3); bisfenol A (BPA); 17- α -Ethinil-estradiol (EE2); 17- β Estradiol (E2); Estrona (E1); triclosan (TCS).

As curvas analíticas de cada substância alvo apresentaram elevada linearidade ($R^2 \geq 0,98$) e as regressões por mínimos quadrados avaliadas por análise de variância (ANOVA) se mostraram significativas por meio de teste F. Em todos os casos, os valores de $F_{1,n-2}$ calculados pela Equação 5 foram superiores ao valor crítico de $F_{0,05;1,n-2}$. Já para a avaliação da falta de ajuste, todos os valores calculados de $F_{m-2;n-2}$ pela Equação

6 foram menores que os seus respectivos valores críticos de $F_{0,05:m-2;n-2}$, indicando que não há falta de ajuste. Para todos os analitos, no nível de concentração do limite de quantificação instrumental (LOQ_i) o coeficiente de variação das replicatas de injeção foi inferior a 15%, sendo considerado satisfatório para fins analíticos, bem como para as maiores concentrações. As curvas construídas para todos os analitos apresentaram extensa faixa linear, sendo de 2,5 até 3000 µg/L. Assim, os valores de mLOQ e mLOD estimados em 2,5 ng/L e 0,75 ng/L são validos para todas as substâncias e se mostram coerentes com outros estudos que empregam a determinação de MPE por LC-MS/MS em amostras de águas superficiais impactadas pelo lançamento de esgotos domésticos. Sendo assim, foram considerados adequados para este estudo onde as concentrações são presumidamente maiores.

4.2.4 Concentrações de fármacos e demais MPE nas amostras investigadas

Com o método validado, procedeu-se a quantificação dos analitos de interesse nas amostras. Soluções controle (branco processual) enriquecidas com todos os padrões internos foram analisadas periodicamente para averiguar possíveis contaminações. Antes de começar as análises, a calibração dos quadrupolos Q1 e Q3 foi verificada.

Seis campanhas amostrais foram realizadas com periodicidade mensal, entre setembro de 2019 e fevereiro de 2020. Devido a pandemia do novo Coronavírus, não foi possível realizar a quantificação dos MPE nas amostras referentes a janeiro e fevereiro de 2020. Dentre as 38 substâncias investigadas, 27 foram detectados pelo menos uma vez e 18 foram encontrados no ponto PL em todas as quatro campanhas amostrais. Os analitos AMT, NTP, TPS, ERLO, ATZ, SPY, E1 e E2, GFB, CFB e AAS não foram detectados e três amostras apresentaram concentrações abaixo de limite de detecção do método, sendo reportadas como não-detectadas (ND). Dentre os analitos com concentrações acima de mLOQ, valores individuais variaram entre $3,5 \pm 0,3$ ng/L e $11,7 \pm 0,1$ µg/L, e valores médios entre 15 ± 2 ng/L e 8 ± 3 µg/L. A Tabela 2.15 apresenta as concentrações individuais das substâncias investigadas em cada ponto amostral durante as quatro primeiras campanhas amostrais.

Tabela 2.15 concentrações individuais das substâncias alvo em µg/L, em cada ponto de coleta durante as quatro primeiras campanhas amostrais.

CA	Analito	MT	PL	J1	J2	J3
C1	RNT	ND	ND	ND	ND	ND
C1	ATN	ND	$5,4 \pm 0,4$	$5,2 \pm 0,4$	$4,1 \pm 0,4$	$0,46 \pm 0,05$

CA	Analito	MT	PL	J1	J2	J3
C1	TEO	ND	0,88 ± 0,09	1,06 ± 0,12	ND	ND
C1	PCT	ND	11,6 ± 0,1	8,91 ± 0,06	3,3 ± 0,1	0,12 ± 0,01
C1	DPS	18,5 ± 0,4(10 ⁻³)	16 ± 1 (10 ⁻³)	16 ± 1(10 ⁻³)	16,7 ± 0,5(10 ⁻³)	19 ± 1(10 ⁻³)
C1	CFX	ND	9,1 ± 0,8	5,5 ± 0,3	4,3 ± 0,5	0,44 ± 0,03
C1	CAF	ND	9,5 ± 0,3	6,7 ± 0,4	2,0 ± 0,1	0,33 ± 0,04
C1	CPX	34 ± 2 (10 ⁻³)	2,27 ± 0,07	74 ± 2(10 ⁻³)	34 ± 3(10 ⁻³)	16 ± 1(10 ⁻³)
C1	AMX	0,25 ± 0,02	8,9 ± 0,2	11,3 ± 0,6	8,8 ± 0,3	6,0 ± 0,4
C1	SMX	ND	0,70 ± 0,03	0,55 ± 0,04	0,43 ± 0,05	0,11 ± 0,01
C1	BPP	ND	ND	ND	ND	ND
C1	VLX	ND	51 ± 6(10 ⁻³)	ND	ND	ND
C1	NGT	ND	212 ± 9(10 ⁻³)	33 ± 5(10 ⁻³)	16 ± 1(10 ⁻³)	ND
C1	CBZ	42 ± 6 (10 ⁻³)	11,5 ± 0,3	10,4 ± 0,2	8,5 ± 0,5	3,6 ± 0,2
C1	DEET	ND	0,44 ± 0,06	0,10 ± 0,01	ND	ND
C1	NPX	0,16 ± 0,02	0,55 ± 0,06	0,50 ± 0,06	0,16 ± 0,02	0,06 ± 0,01
C1	DIA	ND	0,13 ± 0,01	0,09 ± 0,01	ND	ND
C1	BZF	ND	ND	ND	ND	ND
C1	IBU	ND	11,6 ± 0,4	10,5 ± 0,8	11,2 ± 0,3	2,50 ± 0,09
C1	DCF	ND	11,4 ± 0,3	8,4 ± 0,5	10,6 ± 0,7	6,6 ± 0,8
C1	MEF	ND	11,62 ± 0,07	10,0 ± 0,6	8 ± 1	33 ± 2(10 ⁻³)
C1	CHO	ND	10,6 ± 0,2	6,0 ± 0,7	0,49 ± 0,04	ND
C1	E3	ND	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,01	109 ± 4(10 ⁻³)	6 ± 1(10 ⁻³)
C1	BPA	40 ± 5 (10 ⁻³)	11,7 ± 0,2	9,1 ± 0,4	6,2 ± 0,6	0,28 ± 0,04
C1	EE2	ND	11,5 ± 0,4	9,6 ± 0,8	10,1 ± 0,7	0,65 ± 0,01
C1	TCS	ND	11,0 ± 0,3	10,8 ± 0,4	8,3 ± 0,8	2,6 ± 0,2
C2	RNT	ND	104 ± 1(10 ⁻³)	ND	ND	ND
C2	ATN	ND	9,2 ± 0,3	8,1 ± 0,2	2,56 ± 0,05	0,89 ± 0,06
C2	TEO	13,5 ± 0,3(10 ⁻³)	1,24 ± 0,07	0,29 ± 0,04	0,15 ± 0,02	23 ± 3(10 ⁻³)
C2	PCT	ND	6,8 ± 0,4	3,8 ± 0,3	1,11 ± 0,01	0,08 ± 0,01
C2	DPS	15 ± 1 (10 ⁻³)	15,9 ± 0,2 (10 ⁻³)	14 ± 2(10 ⁻³)	14 ± 2(10 ⁻³)	14 ± 2(10 ⁻³)
C2	CFX	ND	ND	5,2 ± 0,5	2,04 ± 0,06	0,27 ± 0,03
C2	CAF	2,6 ± 0,2	5,1 ± 0,7	2,4 ± 0,4	0,87 ± 0,06	0,84 ± 0,09
C2	CPX	ND	8,1 ± 0,5	0,48 ± 0,02	ND	ND
C2	AMX	57 ± 1 (10 ⁻³)	9,2 ± 0,4	8,0 ± 0,8	5,7 ± 0,3	4,5 ± 0,4
C2	SMX	ND	9,3 ± 0,4	8,3 ± 0,2	7,76 ± 0,05	2,0 ± 0,1
C2	BPP	ND	ND	ND	ND	ND
C2	VLX	ND	0,12 ± 0,01	ND	ND	ND
C2	NGT	ND	0,25 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,18 ± 0,02
C2	CBZ	ND	9,6 ± 0,2	9,2 ± 0,3	6,4 ± 0,1	3,5 ± 0,3
C2	DEET	ND	5,5 ± 0,2	3,7 ± 0,2	1,52 ± 0,08	0,31 ± 0,04
C2	NPX	0,17 ± 0,02	1,6 ± 0,2	0,49 ± 0,04	0,21 ± 0,02	0,21 ± 0,02
C2	DIA	ND	0,39 ± 0,01	0,27 ± 0,02	58 ± 3(10 ⁻³)	3,0 ± 0,3(10 ⁻³)
C2	BZF	ND	ND	ND	ND	ND
C2	IBU	ND	9,6 ± 0,1	8,2 ± 0,1	6,7 ± 0,5	3,7 ± 0,4
C2	DCF	ND	9,8 ± 0,1	8,2 ± 0,7	5,9 ± 0,5	3,9 ± 0,2
C2	MEF	14 ± 1(10 ⁻³)	1,3 ± 0,1	704 ± 6 (10 ⁻³)	0,29 ± 0,04	6,8 ± 0,6(10 ⁻³)
C2	CHO	90 ± 10 (10 ⁻³)	4,5 ± 0,3	0,15 ± 0,01	69 ± 5(10 ⁻³)	0,07 ± 0,01
C2	E3	ND	30 ± 1(10 ⁻³)	41 ± 4(10 ⁻³)	ND	ND
C2	BPA	ND	8,5 ± 0,7	6,8 ± 0,5	5,8 ± 0,9	0,74 ± 0,01
C2	EE2	0,48 ± 0,01	9,2 ± 0,6	7,1 ± 0,6	1,5 ± 0,2	0,85 ± 0,08
C2	TCS	ND	9,2 ± 0,5	7 ± 1	5,6 ± 0,6	1,73 ± 0,03
C3	RNT	ND	6,5 ± 0,5	1,21 ± 0,09	0,34 ± 0,03	ND
C3	ATN	ND	11,7 ± 0,2	3,1 ± 0,4	0,93 ± 0,03	ND
C3	TEO	ND	0,38 ± 0,05	0,59 ± 0,04	0,11 ± 0,01	ND
C3	PCT	ND	8,6 ± 0,1	3,8 ± 0,3	1,35 ± 0,02	0,25 ± 0,04
C3	DPS	ND	ND	ND	ND	ND
C3	CFX	ND	4,6 ± 0,4	9,6 ± 0,5	2,97 ± 0,05	2,0 ± 0,2
C3	CAF	0,22 ± 0,01	9,3 ± 0,5	6,2 ± 0,5	1,6 ± 0,1	215 ± 4(10 ⁻³)
C3	CPX	14 ± 1(10 ⁻³)	2,9 ± 0,3	0,10 ± 0,01	20 ± 1(10 ⁻³)	3,5 ± 0,3(10 ⁻³)
C3	AMX	ND	5,0 ± 0,4	6,9 ± 0,3	3,1 ± 0,3	0,84 ± 0,07

CA	Analito	MT	PL	J1	J2	J3
C3	SMX	ND	3,6 ± 0,3	2,3 ± 0,2	0,84 ± 0,04	0,30 ± 0,01
C3	BPP	ND	0,79 ± 0,06	0,44 ± 0,05	82 ± 3(10 ⁻³)	ND
C3	VLX	ND	ND	ND	ND	ND
C3	NGT	ND	ND	ND	ND	ND
C3	CBZ	ND	11,6 ± 0,4	11,1 ± 0,3	8,9 ± 0,4	5,5 ± 0,3
C3	DEET	ND	2,8 ± 0,1	2,3 ± 0,2	435 ± 7(10 ⁻³)	88 ± 8(10 ⁻³)
C3	NPX	0,24 ± 0,02	4,7 ± 0,2	3,25 ± 0,03	1,7 ± 0,2	0,96 ± 0,07
C3	DIA	ND	0,68 ± 0,05	0,26 ± 0,03	49 ± 2(10 ⁻³)	ND
C3	BZF	ND	ND	ND	ND	ND
C3	IBU	ND	11,39 ± 0,07	10,53 ± 1,01	8,2 ± 0,7	5,6 ± 0,4
C3	DCF	ND	10,9 ± 0,4	9,7 ± 0,4	7,1 ± 0,3	6,2 ± 0,6
C3	MEF	ND	0,97 ± 0,08	0,34 ± 0,04	0,20 ± 0,01	ND
C3	CHO	ND	0,61 ± 0,07	0,14 ± 0,01	ND	ND
C3	E3	ND	13 ± 1(10 ⁻³)	7,3 ± 0,1(10 ⁻³)	ND	ND
C3	BPA	17 ± 2(10 ⁻³)	11,3 ± 0,5	7,45 ± 0,09	9,3 ± 0,5	0,92 ± 0,08
C3	EE3	ND	2,1 ± 0,2	1,33 ± 0,02	0,42 ± 0,06	0,13 ± 0,01
C3	TCS	ND	11,0 ± 0,4	5,0 ± 0,4	1,2 ± 0,2	0,50 ± 0,06
C4	RNT	ND	ND	ND	ND	ND
C4	ATN	ND	7 ± 1	1,1 ± 0,1	0,99 ± 0,03	ND
C4	TEO	ND	ND	0,19 ± 0,01	ND	ND
C4	PCT	ND	4,51 ± 0,03	2,09 ± 0,07	0,73 ± 0,06	ND
C4	DPS	ND	ND	ND	ND	ND
C4	CFX	ND	2,5 ± 0,3	5,36 ± 0,63	0,63 ± 0,02	ND
C4	CAF	ND	28 ± 4(10 ⁻³)	0,54 ± 0,05	22 ± 2(10 ⁻³)	ND
C4	CPX	ND	4,2 ± 0,2	46 ± 3(10 ⁻³)	ND	ND
C4	AMX	ND	11,4 ± 0,2	10,7 ± 0,7	3,9 ± 0,5	0,50 ± 0,06
C4	SMX	ND	3,8 ± 0,3	1,05 ± 0,08	0,42 ± 0,04	10 ± 1(10 ⁻³)
C4	BPP	ND	ND	ND	ND	ND
C4	VLX	ND	ND	ND	ND	ND
C4	NGT	ND	ND	ND	ND	ND
C4	CBZ	ND	11,5 ± 0,5	10,7 ± 0,4	9,2 ± 0,3	5,6 ± 0,3
C4	DEET	ND	0,56 ± 0,05	0,06 ± 0,01	ND	ND
C4	NPX	ND	0,90 ± 0,01	0,68 ± 0,09	0,37 ± 0,05	ND
C4	DIA	ND	0,34 ± 0,01	0,16 ± 0,01	35 ± 2(10 ⁻³)	ND
C4	BZF	ND	ND	ND	34 ± 1(10 ⁻³)	16 ± 1(10 ⁻³)
C4	IBU	0,19 ± 0,01	4,6 ± 0,7	6,3 ± 0,8	11,4 ± 0,5	2,4 ± 0,3
C4	DCF	0,62 ± 0,06	11,2 ± 0,3	8,35 ± 0,07	11,2 ± 0,1	5,9 ± 0,4
C4	MEF	ND	1,0 ± 0,1	1,30 ± 0,09	0,26 ± 0,02	ND
C4	CHO	ND	ND	ND	ND	ND
C4	E4	ND	12 ± 1 (10 ⁻³)	12 ± 1(10 ⁻³)	ND	ND
C4	BPA	ND	10,43 ± 0,05	9,34 ± 0,08	3,8 ± 0,3	98 ± 3(10 ⁻³)
C4	EE4	ND	2,44 ± 0,07	1,73 ± 0,01	0,49 ± 0,06	0,24 ± 0,03
C4	TCS	ND	4,1 ± 0,3	5,0 ± 0,4	1,80 ± 0,09	0,38 ± 0,02

C1 realizada em setembro/2019; C2 em outubro/2019; C3 em novembro/2019 e C4 em dezembro/2019. Ranitidina (RNT); atenolol (ATN); teobromina (TEO); paracetamol (PCT); dapsona (DPS); cefalexina (CFX); cafeína (CAF); ciprofloxacina (CPX); amoxicilina (AMX); sulfametoxazol (SMX); bupropiona (BPP); venlafaxina (VLX); levonorgestrel (NGT); carbamazepina (CBZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); naproxeno (NPX); diazepam (DIA); hidroclorotiazida (HCT); bezafibrato (BZF); ibuprofeno (IBU); diclofenaco (DCF); ácido mefenâmico (MEF); ácido cólico (CHO); Estriol (E3); bisfenol A (BPA); 17- α -Etil-estradiol (EE2); triclosan (TCS).

Conforme pode ser observado na Tabela 2.15 as concentrações individuais dos MPE variam substancialmente entre campanhas amostrais, mesmo no ponto PL. Estes achados estão em conformidade com o ressaltado por Sim *et al* [135], que em estudo coreano, reportam ampla variação nas concentrações de fármacos em efluentes de ETEs receptoras de rejeitos líquidos industriais, com valores entre 51 ng/L – 44,1 mg/L. Os

autores afirmam que a ocorrência dos MPE nestes efluentes está associada ao processo produtivo das indústrias, de forma que sua composição é bastante variável em relação às substâncias determinadas, às suas concentrações e frequência de detecção (FD). Corroboram com estas observações os estudos realizados por Lin e Tsai [136] (34 µg/L – 1,5 mg/L), Collado *et al* [171] (3 ng/L – 2,6 µg/L) e Anliker *et al* [138] (5 ng/L – 57,5 µg/L), em Taiwan, Espanha e Suíça, respectivamente. As distribuições em percentis das concentrações individuais dos analitos em cada ponto amostral são representadas na Figura 2.9.

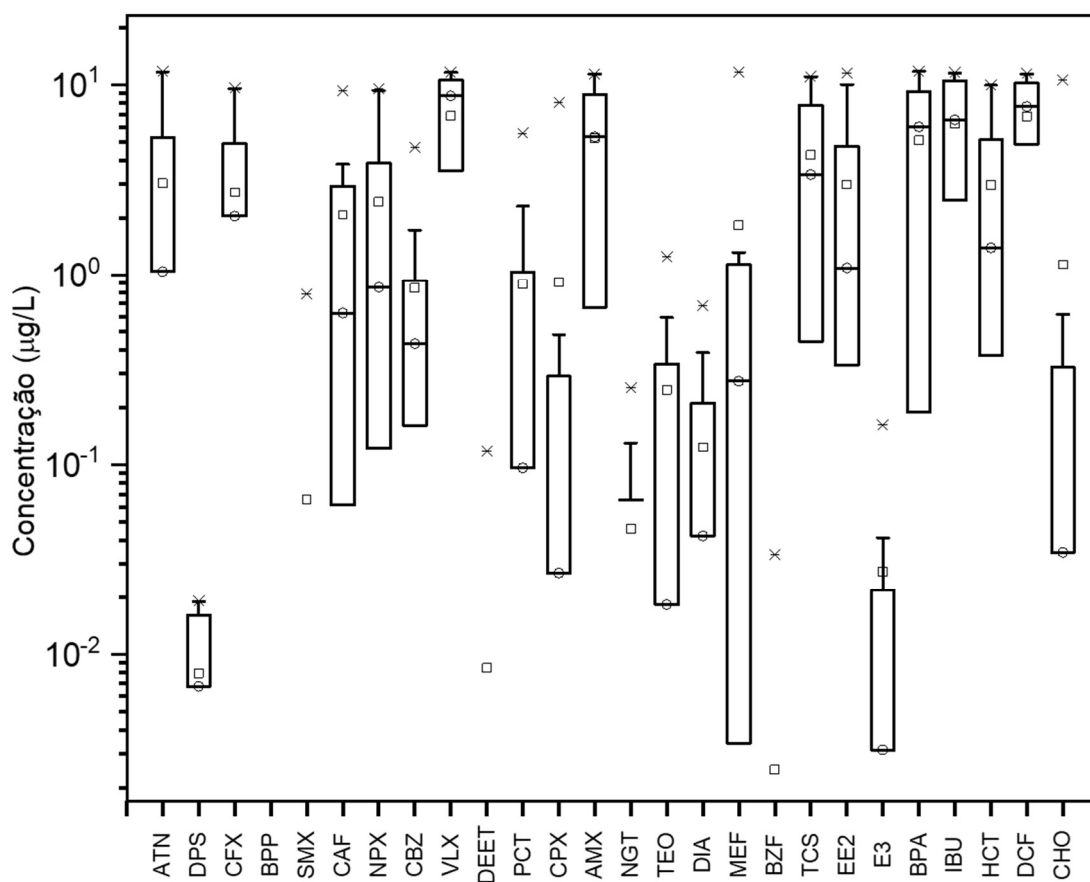


Figura 2.9. Distribuição em percentis das concentrações dos MPE nos cinco pontos de coleta durante 4 campanhas amostrais. Neste gráfico, o box representa de 25-75% dos valores; × corresponde a 1% e 99%; - (traço) denota valores máximos e mínimos; o quadrado menor representa o valor médio do conjunto de dados e o círculo representa sua mediana.

No presente estudo, dentre os MPE mais frequentemente detectados com elevadas concentrações estão BPA (média 5 ± 4 µg/L, FD de 90%) e TCS (média 5 ± 4 µg/L, FD de 80%), com valores médios acima de 5 µg/L. Estes valores devem-se às suas amplas aplicações em diversos setores industriais. BPA é utilizado na fabricação de plásticos, revestimento interno de enlatados do gênero alimentício, produção de papeis e tecidos dentre outros. No DAIA existem diversas indústrias dedicadas à produção de embalagens,

papeis, litografia e brinquedos. TCS é um biocida empregado como conservante em diversos produtos de higiene pessoal e limpeza. Diversos produtores deste tipo de item também estão presentes no distrito [172].

Frequências de detecção superiores a 65% e concentrações médias superiores a 2 µg/L foram encontradas para IBU (média 7 ± 4 µg/L, FD 85%), DCF (média $8, \pm 3$ µg/L, FD 85%), PCT (média 4 ± 4 µg/L, FD de 75%), MEF (média 2 ± 4 µg/L, FD 75%), CFX (média 4 ± 3 µg/L, FD 70%). Estes achados são condizentes com outros reportados na literatura, que apontam estes fármacos como alguns dos mais consumidos mundialmente pela população, e conseqüente alguns dos mais produzidos. Em particular, os anti-inflamatórios PCT, DCF, IBU e MEF por serem facilmente adquiridos sem a necessidade de receita médica [135,149,173], com atenção à DCF e IBU, que exibem os maiores valores médios. Em estudo taiwanês, Lin Tsai [171] investigaram a ocorrência de 21 fármacos nos efluentes de 4 ETEs receptoras de rejeitos de produtores de medicamentos. Os autores obtiveram FD de 100% para PCT, com concentrações média e máxima de 124 ng/L e 417,5 µg/L respectivamente. Valores semelhantes foram determinados pelos autores para DCF (FD de 75%, valor médio 53 ng/L e máximo de 228,5 µg/L) e IBU (FD de 75%, valor médio 45,8 µg/L e máximo 1,5 mg/L). Por meio de dados disponíveis no sistema de saúde pública, os autores reportam que PCT foi o fármaco mais prescrito nos anos de 2004-2009 e que em hospitais e clínicas, mais de 500 milhões de doses foram aplicadas em pacientes taiwaneses, semelhantemente a DCF e IBU. Nesse sentido, as observações de Lin e Tsai [149] corroboram com as de Sim *et al* [135] que afirmam que apesar das diferenças nos níveis de concentração e composição do efluente serem associadas ao padrão de produção, também podem refletir o padrão de uso [135].

No presente estudo, outros fármacos com elevadas FD e concentrações médias são AMX (média 6 ± 4 µg/L, FD 90%), SMZ (média 3 ± 3 µg/L, FD 80%), CBZ (média 8 ± 4 µg/L, FD 85%) e ATN (média 4 ± 4 µg/L, FD 70%), os quais são bastante prescritos para tratar de infecções (de maneira genérica), problemas cardiovasculares e transtornos do SNC, respectivamente. HCT (média 3 ± 3 µg/L, FD 95%), CPX (média 1 ± 2 µg/L, FD 70%) e EE2 (média 4 ± 4 µg/L, FD 85%) também tem elevadas concentrações e FD, sugerindo que o mesmo princípio ativo pode ser produzido por mais de uma indústria, conforme verificado segundo informações disponíveis nos sites oficiais das empresas.

A ocorrência de SMX também tem sido investigada nos efluentes industriais, por ser um antibiótico associado ao desenvolvimento de bactérias resistentes. No presente estudo, este fármaco apresentou FD de 80% com valor máximo de $9,4 \pm 0,4$ µg/L. Lin e

Tsai [171] reportaram seu uso extenso, tanto humano quanto animal. Nas ETEs estudadas pelas autoras, SMX teve FD de 100%, com valor máximo de 1,34 mg/L. Novamente, as autoras ressaltam a ampla produção em função de extensão de uso, sendo o SMX um dos 10 fármacos mais produzidos em Taiwan, durante os anos de 2004-2009. Já Sim *et al* [135] reportaram baixas frequências de detecção para SMX, tanto no esgoto afluente quanto no efluente (25% em ambos os casos), com valores médios de 166 e 13,7 µg/L, possivelmente devido a menor extensão de uso e de produção.

Frequências medianas (entre 35-65%) foram obtidas para DIA (55%), TEO (55%), CHO (50%), E3 (50%), DPS (50%) e NGT (35%), e inferiores a 35% foram registradas para RNT (20%), BPP (15%), BZF (10%) e VLX (10%). É possível que estas FD sejam decorrentes de menor produção ou perda de detectabilidade devido a mecanismos diversos de degradação. Nesse sentido, Sim *et al* [135] associam baixas FD (inferiores a 60%) para PCT, MEF e NPX nos efluentes de ETE receptoras de rejeitos líquidos industriais, às elevadas eficiências de remoção, estimadas em cerca de 90%.

4.2.5 *Comportamento dos MPE durante o período estudado.*

A Figura 2.10 mostra os perfis de variação nas concentrações das substâncias analisadas nos pontos amostrais.

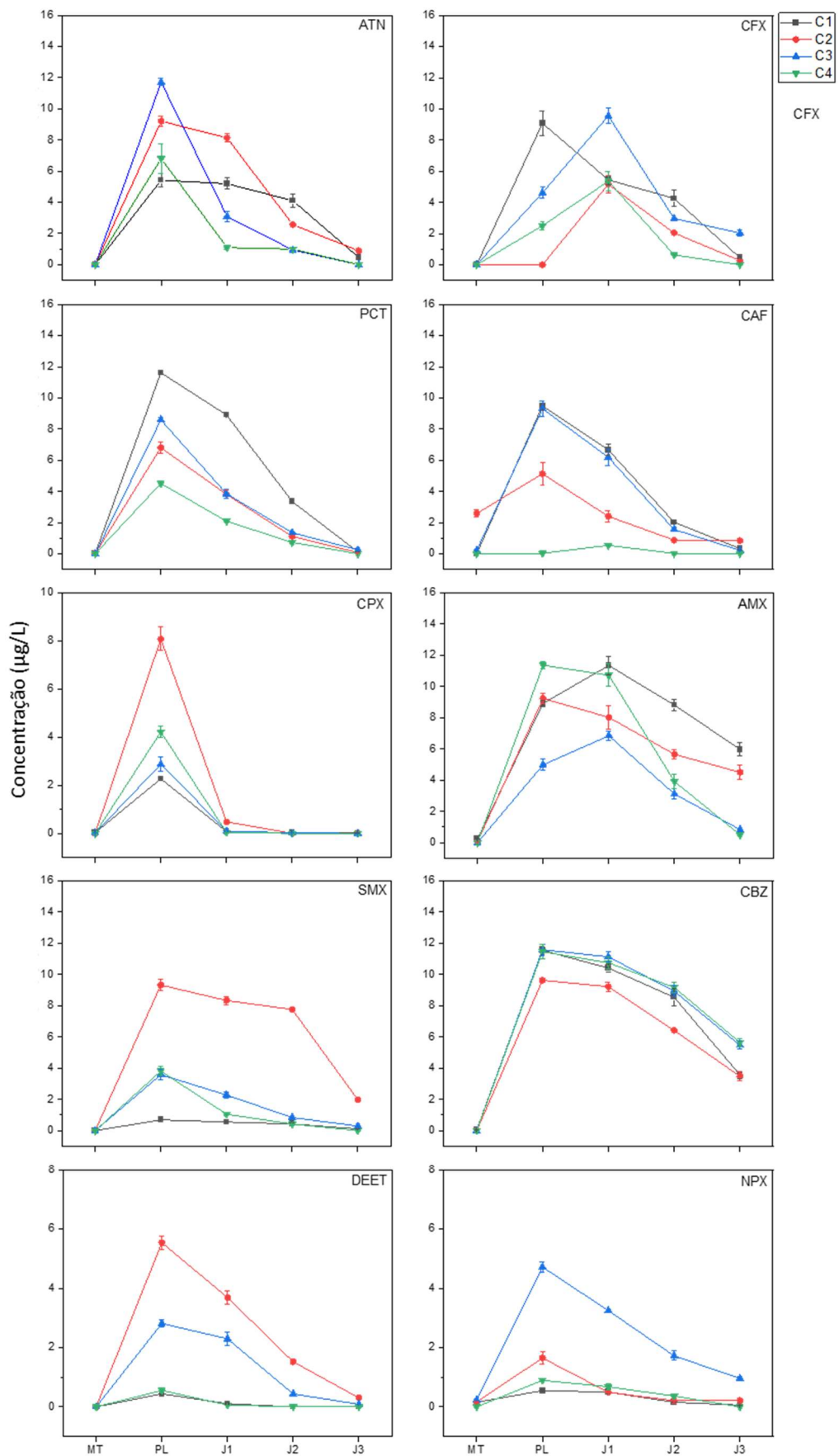


Figura 2.10: Perfil de variação individual das concentrações das substâncias alvo nos pontos de coleta das quatro primeiras campanhas amostrais (*continua*)

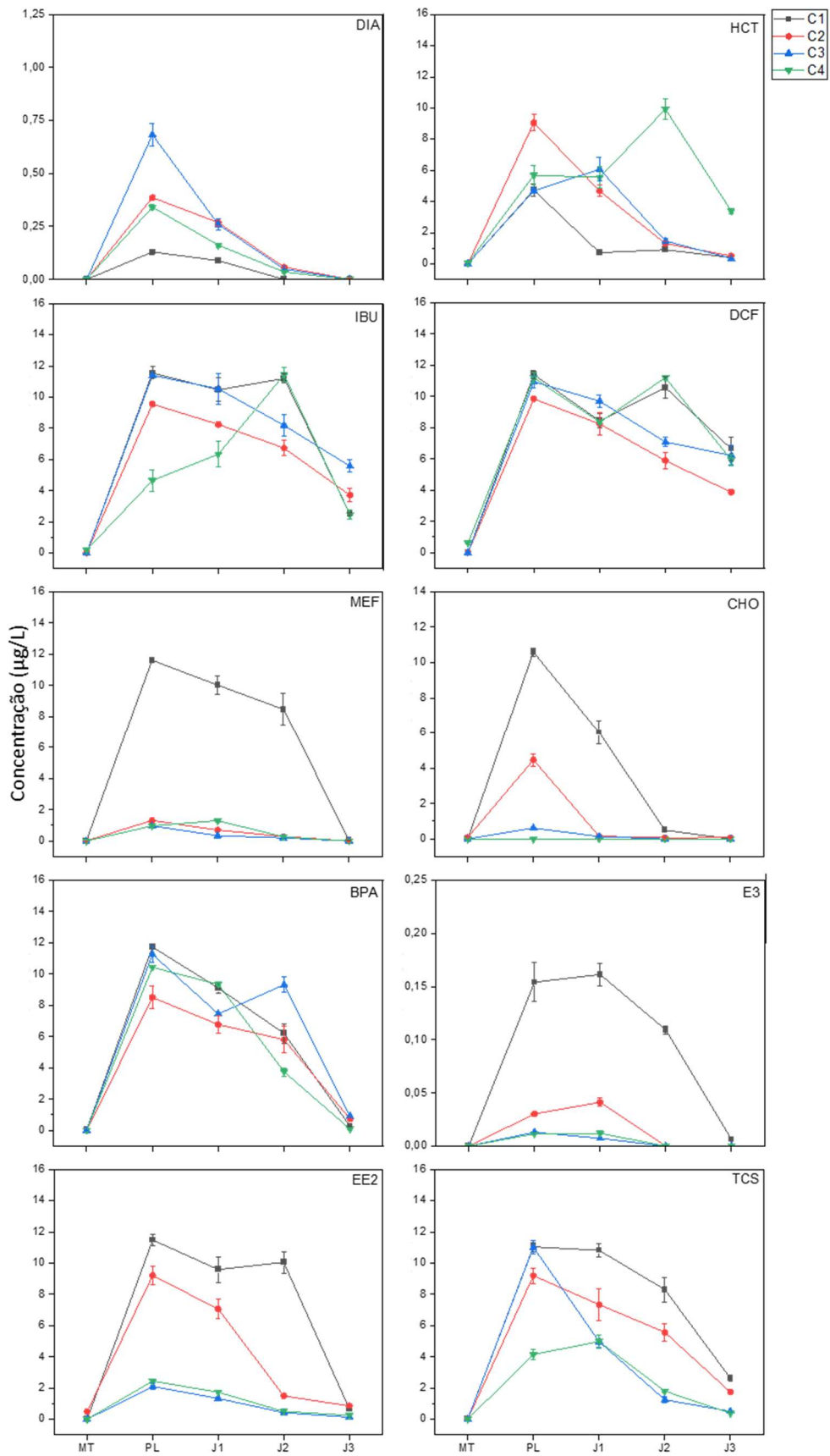


Figura 2.10: Continuação: Perfil de variação individual das concentrações das substâncias alvo nos pontos de coleta das quatro primeiras campanhas amostrais.

Para as substâncias estudadas, observa-se uma tendência de serem menores em MT, com aumento abrupto em PL e sofrem gradual diminuição à medida que a distância em relação a PL aumenta. Mecanismos diversos podem estar associados a redução das concentrações totais, dentre os quais, podem ser citados diluição, fotólise, sedimentação e biodegradação. Maiores alturas de lâmina d'água são observadas nos pontos J1, J2 e J3 devido a confluências com outros pequenos córregos, possivelmente favorecendo diluição. Estes mecanismos podem ser responsáveis pela perda de detectabilidade de vários MPE como DIA, NGT e DEET em C1, VLX, CPX, E3 e RNT em C2, ATN, MEF em C3 e ATN, PCT, NPX, MEF e DEET em C4.

Neste estudo, vários MPE foram detectados no ponto MT, como DPS, NPX, CBZ, CPX, AMX, BPA, HCT, CAF, EE2, MEF, DCF, IBU, EE2, CAF e BPA, com atenção para EE2 ($0,42 \pm 0,02 \mu\text{g/L}$), DCF ($0,63 \pm 0,06 \mu\text{g/L}$), CAF ($2,6 \pm 0,2 \mu\text{g/L}$) e AMX ($0,25 \pm 0,02 \mu\text{g/L}$). Às elevadas concentrações sugerem a existência de aportes irregulares de origem industrial. Outras observações corroboram com esta hipótese: na região do DAIA, além das indústrias, existem diversas chácaras onde há manejo de animais e plantio de grãos. Dentro das mesmas encontram-se nascente e vários pequenos córregos, por vezes, utilizados pelos moradores para dessedentação de animais e até consumo humano. Moradores locais atestam ter observado, em diversas ocasiões, colorações não naturais (azuladas) além de mal cheiro e espuma em diversos córregos dentro das chácaras. Estas observações são amparadas pela existência de atividades industriais que englobam o uso e produção de corantes sintéticos, bem como de produtos de limpeza e sugerem contaminação por aportes irregulares provenientes de indústrias.

É possível verificar na Figura 2.10 e na Tabela 2.15 que frequentemente ocorre incremento de concentração de alguns MPE principalmente nos pontos J1 e J2, como para AMX e TEO em J1 na primeira e terceira campanhas amostrais, HCT em J1 na terceira amostragem e em J2 na quarta. Outros exemplos podem ser verificados para CAF, CFX, MEF, TCS, E3, e IBU, no ponto J1 da quarta campanha, e para IBU, DCF e HCT em J2 também na quarta campanha e para E3 em J1 durante as campanhas 1, 2 e 4.

Conforme o disposto por Anliker *et al* [138], é possível que esses incrementos de concentração posteriores à PL estejam associados aos processos produtivos em *batch*. Dessa forma, os eventos de lançamento de carga de MPE pela ETE-DAIA não devem apresentar constância em sua composição. Como há um lapso temporal (cerca de 3 h) entre as amostragens dos pontos PL e J2, é possível que as amostras coletadas representem distintos eventos de lançamentos de MPE. Nesse sentido, cabe ressaltar que houve

incremento de alguns MPE como, IBU, DCF e E2 na primeira amostragem, no mesmo ponto amostral, conforme pode ser visto na Figura 2.10. Nesta CA, estima-se que o lapso temporal tenha sido superior a 3 h. Dessa forma, as características dos efluentes provenientes da ETE-DAIA poderiam ser consideravelmente diferentes entre o momento da amostragem em PL e em J2. Ainda assim, conforme discutido para o MT, a ocorrência de lançamentos clandestinos não deve ser descartada.

4.2.5.1 Variações na somatória das concentrações

A Figura 2.11 mostra a variação das concentrações totais das substâncias alvo por ponto de coleta, durante as quatro campanhas amostrais.

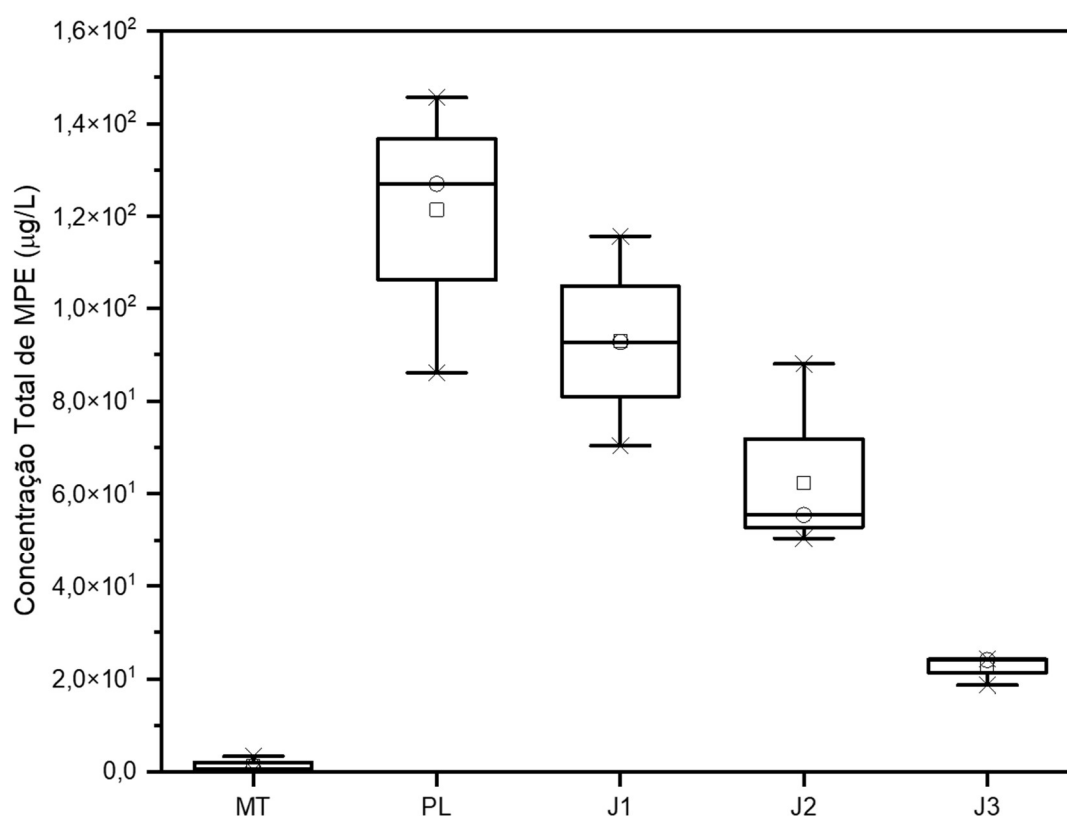


Figura 2.11: Distribuição das somatórias de concentração de MPE por ponto amostral considerando as quatro campanhas amostrais. Neste gráfico, o box representa de 25-75% dos valores; × corresponde a 1% e 99%; - (traço) denota valores máximos e mínimos; o quadrado menor representa o valor médio do conjunto de dados e o círculo representa sua mediana.

Com respeito aos valores totais estimados neste trabalho no ponto PL (máximo em $145 \pm 1 \mu\text{g/L}$), são substancialmente menores do que os obtidos por Sim *et al* [135] ($44 \times 10^3 \mu\text{g/L}$), Larsson [118] ($38 \times 10^3 \mu\text{g/L}$) e Lin e Tsai [149] ($4 \times 10^3 \mu\text{g/L}$), sendo mais próximos dos obtidos por Collado *et al* [171] ($14 \mu\text{g/L}$). Estas diferenças podem estar

relacionadas a diversos fatores, como volume de efluente, vazão da ETE, tipo de tratamento aplicado, composição do rejeito líquido proveniente das indústrias, tipos de indústrias presentes nos polos industriais, dentre outros. Cabe ressaltar que Lin e Tsai [149] reportam que os efluentes provenientes dos hospitais e produtores de medicamentos estudados somam mais de 6000 m³/dia enquanto Larsson *et al* [118] estimou vazão de 1500 m³/dia. Mesmo com vazão equivalente a ¼ de Lin e Tsai [149], Larsson *et al* [118] exibe concentração total cerca de dez vezes maior. Assim, verifica-se que comparações dificilmente são possíveis.

4.2.5.2 Distribuição percentual de classes terapêuticas nas amostras

Os analitos detectados foram agrupados segundo suas classes terapêuticas, a saber antianginosos (ANG), reguladores lipídicos (RL), anti-inflamatórios (AI), psicotrópicos (PSC), antibióticos (ATB), hormônios (HRM), estimulantes (EST), conforme descrito anteriormente na Tabela 2.1. Já a classe “Outros” (OTR) contempla RNT. MPE de uso industrial e produtos de higiene pessoal, como TCS, BPA e DEET, foram agrupados como “não fármacos” (NF). Ainda com respeito a variabilidade intrínseca da composição de MPE nos lançamentos de águas residuárias de origem industrial, a Figura 2.12 mostra a composição percentual de classes terapêuticas em cada CA no ponto PL.

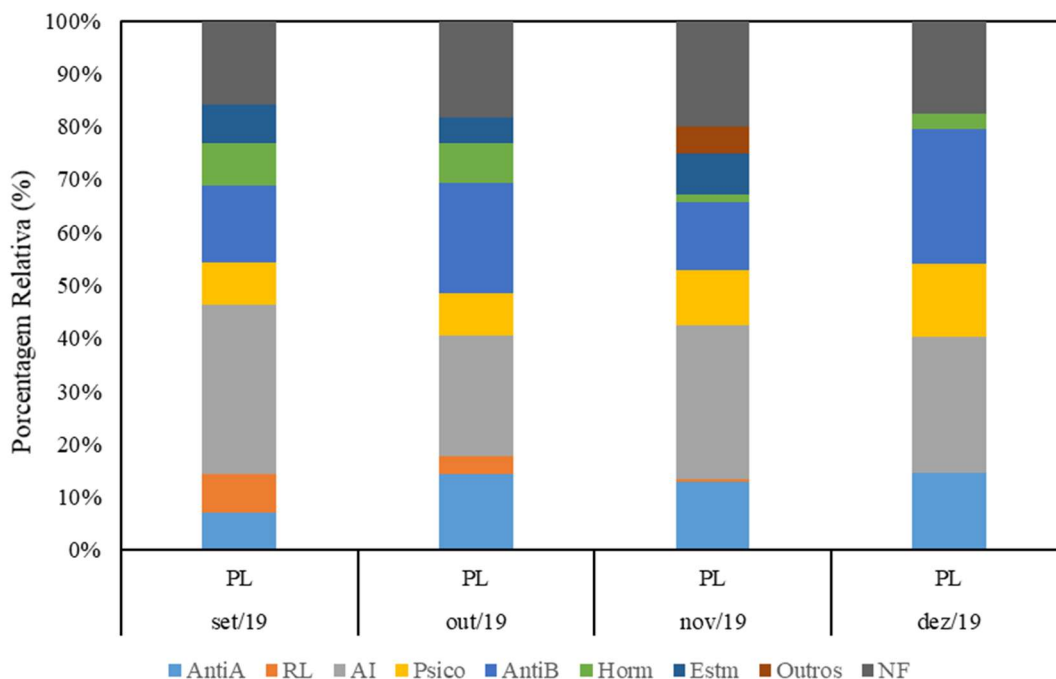


Figura 2.12. Distribuição percentual das classes terapêuticas de MPE nas amostras de água superficial no ponto PL durante as campanhas amostrais. Nesta figura AntiA = anti-inflamatórios,

RL = reguladores lipídicos; Psico = psicotrópicos; AntiB = antibióticos; Horm = hormônios; Estm = estimulantes; NF = não fármaco.

No presente estudo verifica-se a prevalência de AI em todas as CA, semelhantemente a Lin e Tsai [136]. Sim *et al* [135] identificaram prevalência de antibióticos no efluente devido às baixas ou moderadas eficiências de remoção estimadas pelos autores para estas substâncias (entre 50-35%). Já Collado *et al* [171] obtiveram prevalência de drogas psiquiátricas. Ambos os autores reportam elevadas remoções para AI (superiores a 60 %) devido ao tratamento de esgoto por AS. Dessa forma, é possível que a prevalência de AI obtida neste estudo seja em decorrência de maior produção, ou ainda devido à ausência de etapa aeróbica.

4.2.5.3 Diminuição das concentrações totais dos MPE durante o período amostral.

Dentre os mecanismos que proporcionam a diminuição das concentrações de MPE no ambiente podem ser citados fotólise, adsorção no sedimento, diluição, biodegradação, dentre outros. De maneira a verificar a diminuição das concentrações dos MPE nos pontos amostrais posteriores PL, para cada campanha, foram observados os valores de concentração total, os valores de precipitação acumulada nas datas da amostragem e a redução percentual da concentração total nos pontos J1, J2 e J3, em relação àquelas medidas em PL, mostrados na Figura 2.13.

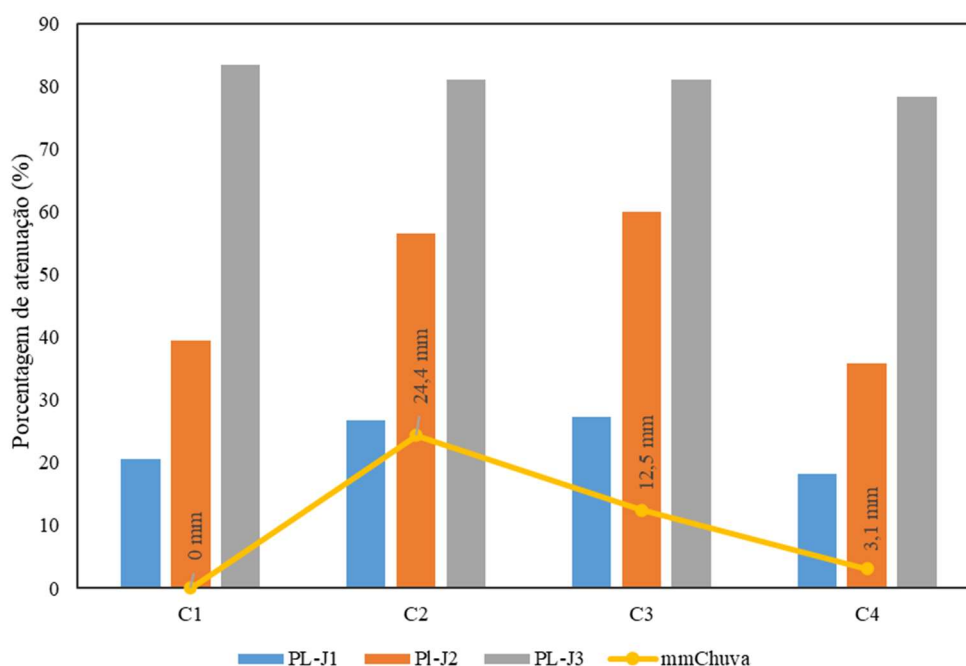


Figura 2.13. Atenuação percentual da concentração total em relação aos valores determinados em PL e precipitação acumulada.

As barras em azul mostram a diminuição percentual em J1, em laranja são valores de redução em J2, e em no ponto J3. O gráfico em linha mostra os valores de precipitação acumulada, de forma a verificar se os eventos de chuvas podem favorecer a diminuição das concentrações. Notadamente, as maiores diminuições são observadas em J3, onde verificam-se que as concentrações totais reduzem em $83,36 \pm 0,04\%$ na C1, $81,03 \pm 0,03\%$ em C2, $81,09 \pm 0,04$ em C3 e $78,30 \pm 0,04$ em C4. Ademais, a precipitação acumulada não aparenta ter efeito pronunciado sobre a diminuição da concentração.

Mesmo com elevadas porcentagens de diminuição da concentração total, é possível verificar na Tabela 2.15 que no ponto J3 diversos MPE são frequentemente detectados em concentrações acima de $1 \mu\text{g/L}$, como SMX ($1,9 \pm 0,1 \mu\text{g/L}$), CBZ ($3,5 \pm 0,3 \mu\text{g/L}$), AMX ($4,5 \pm 0,4 \mu\text{g/L}$), TCS ($1,77 \pm 0,03 \mu\text{g/L}$), IBU ($3,7 \pm 0,4 \mu\text{g/L}$), DCF ($3,87 \pm 0,02 \mu\text{g/L}$), CFX ($2,0 \pm 0,2 \mu\text{g/L}$) e HCT ($3,4 \pm 0,1 \mu\text{g/L}$). Cabe ressaltar que J3 está localizado a mais de 15 km de PL.

Collado *et al* [171] determinaram as concentrações dos MPE estudados no rio Ter, corpo receptor dos efluentes, em um ponto amostral 1 km à jusante do lançamento da ETE em estudo. Os autores observaram pronunciada diminuição das concentrações, avaliada em cerca de 90%, levando a valores de concentrações abaixo de 50 ng/L para NPX (de 347 para 31 ng/L), DCF (de 347 para 19 ng/L), ATN (529 para 38 ng/L), e RNT (de 259 para 27 ng/L), além de perda de detectabilidade para CPX, VLX e BZF.

Lin e Tsai [136] também determinaram as concentrações dos fármacos investigados ao longo de três rios receptores de efluentes tratados, sendo estes o Sindian, Dahan e Gaoping. Dentre os fármacos mais frequentemente detectados nas amostras de água superficial, estão PCT e SMX, cujas concentrações nos rios Sindian, Dahan e Gaoping são 3,3, 15,7 e $0,085 \mu\text{g/L}$ para PCT, e 0,05, 0,11 e $0,01 \mu\text{g/L}$ para SMX. As diminuições das concentrações também são apreciáveis, uma vez que, nos efluentes das ETE investigadas, PCT apresentou uma concentração média de $417,5 \mu\text{g/L}$ e SMX teve $1,34 \text{ mg/L}$ respectivamente. A diminuição das concentrações é particularmente importante por favorecer a redução de potenciais riscos associados a presença de MPE.

4.3 Avaliação de risco ambiental

A avaliação de risco ambiental foi realizada por meio do cálculo do RQ baseado na razão MEC/PNEC [158]. De maneira a avaliar se os mecanismos diversos de diminuição de concentração, ao longo dos 15 km de extensão do corpo hídrico estudado,

são suficientes para diminuir substancialmente as concentrações dos MPE estudados, também foram estimados RQ para os pontos J1, J2 e J3. Três grupos de valores para QR foram adotados para efetuar a classificação de risco sendo considerado sem risco ($QR < 0,01$), risco em potencial ($0,1 \leq QR < 1$) e com risco ($QR \geq 1$) [163]. A Tabela 2.16 apresenta os valores de PNEC mais restritivos obtidos na literatura para cada MPE e a Figura 2.14 apresenta os RQ calculados para os MPE nos pontos de coleta durante as quatro campanhas amostrais e suas classificações de risco.

Tabela 2.16. Valores de PNEC obtidos da literatura para os MPE estudados.

Substância	PNEC (ng/L)	Referência
ATN	77700	[162]
DPS	1000	[162]
CFX	100000	[162]
BPP	10000	[162]
SMX	10	[162]
CAF	5200	[174]
NPX	2000	[162]
CBZ	250	[174]
VLX	888	[175]
DEET	5200	[174]
PCT	1000	[162]
CPX	50	[162]
AMX	100000	[162]
NGT	0,01	[176]
TEO	300000	[176]
DIA	14100	[176]
RNT	582000	[177]
MEF	430	[176]
BZF	6000	[176]
TCS	12	[162]
EE2	0,1	[178]
E3	60	[178]
BPA	60	[162]
IBU	2300	[162]
HCT	100000	[176]
DCF	1000	[162]

Ranitidina (RNT); atenolol (ATN); teobromina (TEO); paracetamol (PCT); dapsona (DPS); cefalexina (CFX); cafeína (CAF); ciprofloxacina (CPX); amoxicilina (AMX); sulfametoxazol (SMX); bupropiona (BPP); venlafaxina (VLX); levonorgestrel (NGT); carbamazepina (CBZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); naproxeno (NPX); diazepam (DIA); hidroclorotiazida (HCT); bezafibrato (BZF); ibuprofeno (IBU); diclofenaco (DCF); ácido mefenâmico (MEF); ácido cólico (CHO); Estriol (E3); bisfenol A (BPA); 17- α -Ethinil-estradiol (EE2); triclosan (TCS).

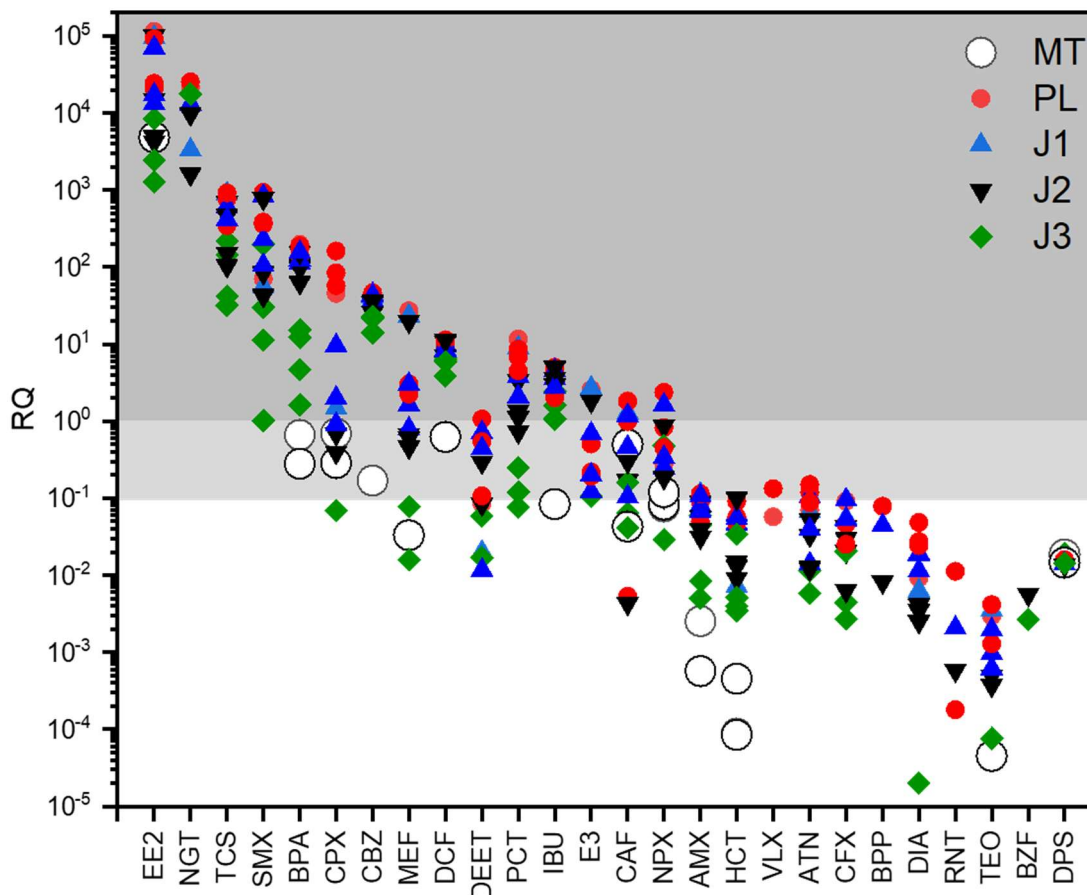


Figura 2.14: RQ para cada substância detectada nos pontos de coleta durante as quatro campanhas amostrais. $RQ < 0,01$ não representam risco; $0,1 > RQ > 1$ representam risco em potencial e $RQ > 1$ equivale a com risco.

Conforme pode ser observado na Figura 2.14, os valores de RQ tendem a ser maiores no ponto PL e sofrem gradual redução conforme a distância à PL aumenta. OS menores RQs normalmente são atribuídos aso pontos MT e J3. Dentre os MPE investigados, DPS, CFX, BPP, TEO, DIA, BZF, HCT, CHO não representaram risco à biota em nenhuma campanha amostral. De maneira geral, estes MPE possuem elevados valores de PNEC, cerca de 10 vezes superiores aos seus respectivos valores médios, indicando baixa tendencia a apresentarem riscos. ATN, VLX, AMX esporadicamente apresentaram RQ superior a 0,1 nos pontos PL e J1, indicando necessidade de atenção, porém a mecanismos de atenuação das concentrações foram suficientes para reduzir o risco.

DEET apresentou $RQ > 1$ apenas em PL na segunda amostragem e teve o risco eliminado no percurso até J3. Este produto de higiene pessoal também teve $RQ > 0,1$ em PL nas campanhas C3 e C4, porém devido a atenuação da concentração, não houve risco em J3. Mesmo com elevado valor de PNEC, NPX demonstrou a necessidade de atenção

em todas as campanhas amostrais nos pontos PL e J1, e até em MT da terceira amostragem, na qual apresentou $RQ > 1$. Um comportamento semelhante pode ser observado para CAF, que teve RQ superior a 1 nos pontos PL e J1 na C1 e C3, porém sem apresentar risco em J3. Já na segunda amostragem, este MPE requer atenção em todos os pontos amostrais, incluindo MT.

No ponto PL, MEF, NGT, CPX e PCT, apresentaram elevados valores de RQ, superiores a 1. Mecanismos de diminuição das concentrações foram suficientes para eliminar o risco de MEF em J3, entretanto CPX, NGT e PCT tiveram redução na classificação de risco, sem sua eliminação em J3. Enquanto NGT, permaneceu com $RQ > 1$ em J3 na segunda amostragem, CPX teve $RQ > 0,1$ em J3 na primeira, além de também requerer atenção no ponto MT em C1 e C3, possivelmente devido à aportes irregulares. PCT também necessita atenção em J3 nas campanhas C1 e C3. SMX, CBZ, TCS, EE2, BPA, IBU e DCF apresentaram elevado risco à biota aquática nos pontos PL, J1, J2 e J3 em todas as campanhas amostrais, além de BPA também representar risco moderado no ponto MT em C1 e C3. Apesar de, normalmente, o valor de QR diminuir à medida que a distância de PL aumenta, mecanismos de degradação, como fotólise, degradação térmica, precipitação, adsorção e diluição não são suficientes para proporcionar a adequada redução das concentrações destes MPE. Dessa forma, o risco à biota aquática não foi nem eliminando, ou atenuando efetivamente, mesmo após 15 km de extensão.

Dentre estes MPE, SMX, CBZ e DCF são descritos como substâncias recalcitrantes, e assim, a literatura descreve a necessidade de etapas avançadas de tratamento para proporcionar maiores eficiências de remoção. BPA, EE2, TCS são MPE cuja presença no ambiente é sobremaneira preocupante, por serem considerados IE. Estes foram MPE detectados em elevadas concentrações e FD. Já SMX é um biocida, e sua presença no ambiente está associada ao desenvolvimento de bactérias resistentes. Anti-inflamatórios como PCT e DCF já têm sido amplamente investigados em águas superficiais devido a quadros de pseudo-persistência, onde mesmo quando encontrados em baixas concentrações, o aporte constante favorece sua ocorrência. Cabe ressaltar ainda a incorrência de RQs maiores que 1 para CAF, NPX, que apresentam altos valores de PNEC, evidenciando o impacto dos polos industriais. A abordagem do RQ considera apenas as concentrações individuais dos MPE, sendo que, no ambiente, são encontrados na forma de misturas complexas, de forma que efeitos sinérgicos e antagônicos são

esperados, porém, dificilmente avaliados. Novas abordagens para avaliação de risco ambiental, devem, portanto, ser exploradas.

4.4 Avaliação da qualidade da água

4.4.1 Parâmetros de qualidade da água

Utilizando os métodos descritos na Tabela 2.9, procedeu-se a determinação dos parâmetros de qualidade da água. Os valores brutos de cada parâmetro são apresentados na Tabela 2.A e 2.B, disponíveis no Material Suplementar e a Figura 2.15 mostra seus perfis de comportamento nas 6 campanhas amostrais.

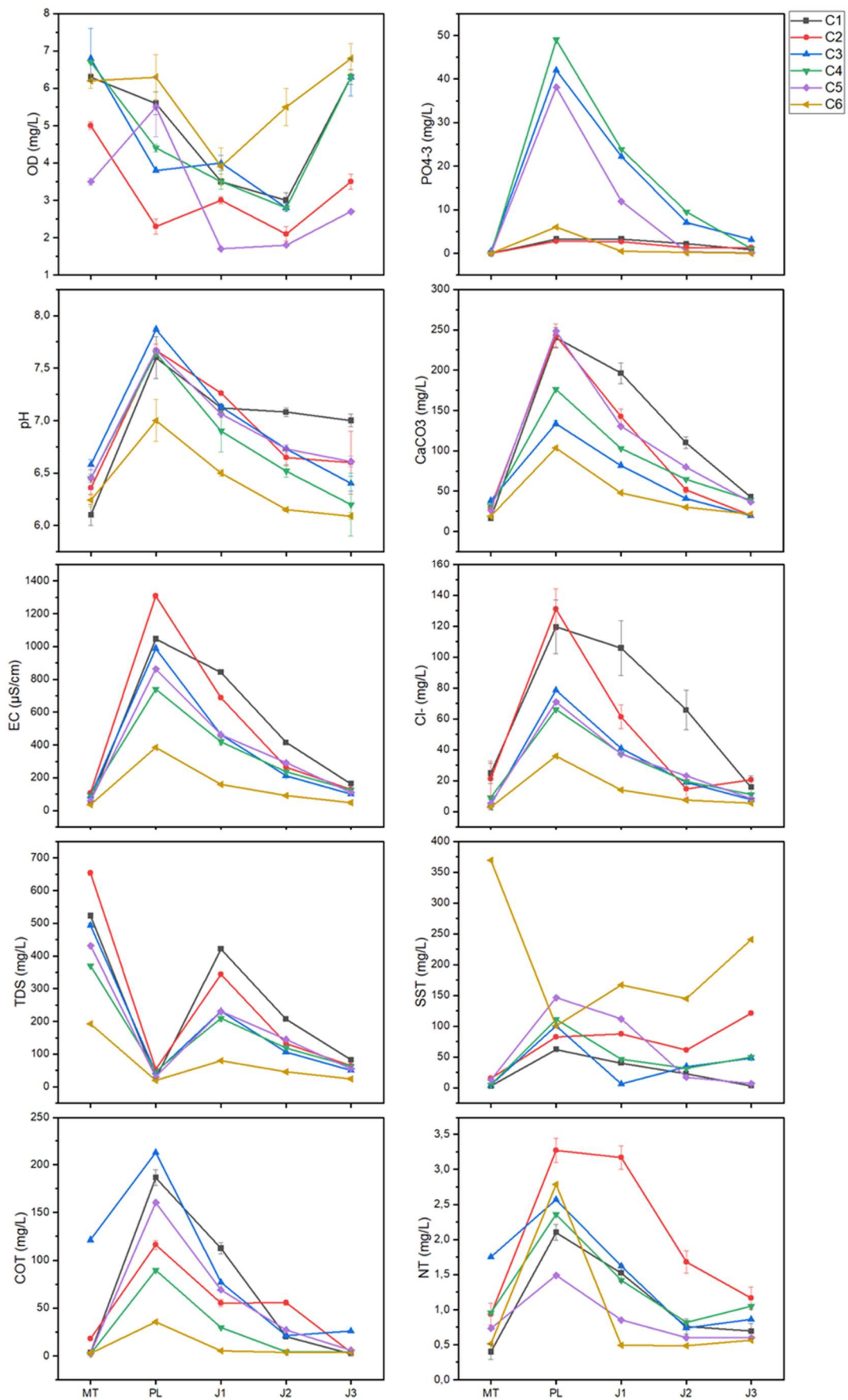


Figura 2.15. Perfis de variação para os parâmetros de qualidade da água nos pontos de coleta durante as seis campanhas amostrais.

Semelhantemente ao perfil de concentração total de MPE encontrado, os valores de cloreto (média 36 ± 36 mg/L), fosfato (média 36 ± 7 mg/L), alcalinidade (média 85 ± 26 mg/L), COT (média 49 ± 12 mg/L), NT (média $1,3 \pm 0,4$ mg/L), condutividade elétrica (média 394 ± 313 μ S/cm), e pH (média $6,8 \pm 0,5$), apresentam pronunciado aumento no ponto PL e sofrem gradual redução à medida que a distância em relação ao mesmo aumenta. Estas observações estão em concordância com diversos estudos que atestam que os efluentes industriais apresentam elevados teores de substâncias nitrogenadas, fosfatos, íons diversos (SO_4^{2-} , SO_3^{2-} , NH_4^+ , Cl^- , NO_3^- , NO_2^-) e elevada carga orgânica [120–123]. Em estudo realizado na ETE-DAIA no ano de 2016, Resende [152] ressalta que o córrego Abraão tem baixa vazão, diminuindo seu potencial para diluir o fluxo advindo da ETE-DAIA. O autor também exhibe diversos valores para parâmetros comumente analisados no efluente industrial, e de fato o pH do efluente (7,2) é maior que o do esgoto afluente (6,6), devido ao tratamento químico aplicado (adição de cal). Justifica-se, portanto, o aumento no valor de pH do ponto PL em relação à MT no presente estudo.

Ademais o autor reporta valores de condutividade elétrica em 500 μ S/cm, NT de $6,4$ mg/L, fosfato de $5,2$ mg/L e SST de 335 mg/L no efluente final, enquanto no presente estudo, em PL foram obtidos os valores médios de 888 ± 311 μ S/cm, além de $2,6 \pm 0,6$ mg/L para NT, 23 ± 21 para fosfato e 100 ± 28 mg/L de SST, considerando-se as 6 campanhas amostrais. Em viagem exploratória no ano de 2018, os integrantes do nosso grupo de pesquisa foram informados que a ETE-DAIA se encontrava em processo de ampliação, uma vez que era subdimensionada para o volume de rejeitos recebidos. É possível, que os menores valores de NT e SST sejam resultados das obras de ampliação, enquanto os elevados valores de condutividade e fosfato podem ser advindos dos processos produtivos nas indústrias.

Já os valores de OD (média 4 ± 1 mg/L), são influenciados pela carga orgânica proveniente da ETE-DAIA. Entretanto, considerando a baixa altura da lâmina d'água ($40 - 70$ cm) e a presença de cascalho e pedras maiores no leito do córrego, seu fluxo apresenta bastante turbulência, o que poderia favorecer a oxigenação, aumentando o valor de OD nas proximidades de PL. O mesmo efeito não aparenta ser proeminente nos pontos J1 e J2, onde a turbulência é reduzida. Devido a afluência com demais córregos, no ponto J3 é possível observar tendência ao aumento de OD.

Em seguida, os valores individuais dos padrões de qualidade foram comparados com os preconizados na Resolução CONAMA 357/2005 [117], para um corpo hídrico de água doce Classe 2, conforme com o enquadramento dos corpos hídricos da região. A

Tabela 2.17 mostra os valores máximos permitidos (VPM) contemplados na referida Resolução Federal.

Tabela 2.17. Padrões de qualidade da água para corpo hídrico Classe 2, valores máximos permitidos segundo a classificação, preconizados pela Resolução CONAMA 357/2005 e valores médios dos padrões de qualidade

Parâmetro	Padrão de qualidade	Valor médio em MT	Valor médio em PL	Valor médio em J1	Valor médio em J2	Valor médio em J3
pH	$9 \geq \text{pH} \geq 6$	$6,3 \pm 0,2$	$7,5 \pm 0,3$	$6,9 \pm 0,2$	$6,6 \pm 0,1$	$6,4 \pm 0,4$
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	$\geq 5 \text{ mg/L}$	$5,75 \pm 0,8$	4 ± 1	$3,2 \pm 0,6$	$3,0 \pm 0,5$	$5,3 \pm 0,7$
Cloreto (mg/L)	250 mg/L	11 ± 13	83 ± 21	49 ± 19	24 ± 14	11 ± 7
*Fósforo Total (mg/L)	0,1 mg/L	$0,08 \pm 0,03$	$23,5 \pm 0,2$	$10,7 \pm 0,3$	$3,4 \pm 0,1$	$1,05 \pm 0,06$
Sólido Total Dissolvido (mg/L)	500 mg/L	443 ± 9	36 ± 4	252 ± 9	$126,0 \pm 0,6$	56 ± 8

; *Foi considerado ambiente lótico. Valor médio considerando todos os pontos das seis campanhas amostrais.

Como pode ser observado nos valores médios exibidos a Tabela 2.17 e nos valores individuais mostrados nas Tabela 2.A e 2.B (Material suplementar), em todos os pontos amostrais, os parâmetros pH e cloreto se apresentam dentro do preconizado pela Resolução CONAMA 357/2005. Já OD e fosfato frequentemente infringem os limites estabelecidos. Fosfato foi identificado em concentração superior ao VPM em todas as campanhas amostrais nos pontos PL, J1 e J2 além de em J3, exceto na sexta amostragem. Maiores concentrações foram observadas em PL, evidenciando seu aporte pelos efluentes industriais. No ponto MT, o valor de fosfato ultrapassa o VPM na segunda campanha amostral ($2,80 \pm 0,08 \text{ mg/L}$), possivelmente devido a aportes irregulares provenientes de outras indústrias. Corroborando com esta observação a elevada somatória de concentração de MPE no ponto MT desta campanha amostral, com valor de $3,4 \pm 0,2 \mu\text{g/L}$, sugerindo origem industrial. Dentre os principais impactos ambiental associado a presença deste macro-nutriente e seu excesso está nos processos de eutrofização [179].

Já o OD é considerado uma variável ambiental crítica para a manutenção da vida aquática, de forma que, valores abaixo de 5 mg/L são inadequados para a maioria das espécies de peixes de água quente, restringindo substancialmente espécies aquáticas capazes de sobreviver em tais condições [129]. No ponto PL, os valores de DO encontram-se abaixo do limite estabelecido em C2, C3 e C4, além de nos pontos J1 e em J2 nas cinco primeiras amostragens. É possível verificar que em J3 na segunda e quinta

campanha, além de MT na quinta campanha os valores de OD também se encontravam abaixo do valor mínimo estabelecidos pela Resolução. Estes resultados mostram que os lançamentos provenientes da ETE-DAIA continuam conferindo ao corpo receptor características em desacordo com sua classe, apesar do uso do tratamento químico emergencial instalado, que visa aumentar a remoção de substâncias orgânicas.

Resende [152] ressalta que a capacidade reduzida do córrego de diluir poluentes, ocasiona prejuízos aos usuários à jusante do lançamento da ETE-DAIA, e destaca que melhoramentos na estação devem ser implementados. Primeiramente, deseja-se aumentar a capacidade de tratamento da estação, além da inserção de outras etapas de tratamentos, como lagoas de estabilização e tratamento aeróbico. Estas operações devem proporcionar menor variação de pH, DBO, DQO, de maneira que favoreçam a tratabilidade do rejeito. Segundo o autor, variações abruptas nestes parâmetros influenciam diretamente a eficiência de remoção de carga orgânica, e assim, uma vez otimizadas, podem proporcionar um efluente dentro das especificações, e que não leve o corpo receptor a estar em desacordo com o estipulado pela sua classe.

Em seguida, buscou-se avaliar a qualidade da água durante as 6 campanhas amostrais por meio de IQACCME. Este IQA foi desenvolvido para reportar a qualidade associada a todos os pontos monitorados em um único valor. Recomenda-se utilizar no mínimo 4 parâmetros em seu cálculo. Uma vez que os parâmetros SST, Alcalinidade, COT, NT e EC não são padrões de qualidade segundo as legislações pertinentes brasileiras, neste estudo, de maneira a realizar uma avaliação de qualidade da água visando à proteção da vida aquática, sugestões de VMP presentes em legislações estrangeiras foram utilizados no cálculo do IQA CCME, e são mostradas na Tabela 2.18.

Tabela 2.18. Recomendação de VMP para parâmetros de qualidade da água obtidos de legislações estrangeiras.

Parâmetro	Recomendação	Referência
Sólido suspenso total (mg/L)	≤ 25	United Kingdon Freshwater Fisheries Directive.
Alcalinidade (mg CaCO₃/L)	200 -600	Bureau of Indian Standards
Carbono Orgânico Dissolvido (mg/L)	≤ 4	British Columbia Drinking Water Quality Guidelines
Nitrogênio Total (mg/L)	≤ 0,3	Irish Environmental Protection Agency Parameter of Water Quality
Condutividade Elétrica (µS/cm)	≤ 400	Guidelines for Drinking water Quality, World Health Organization

O IQACCME avalia a qualidade da água como sendo “excelente” quando o valor de CCME estiver entre 100 e 95, “bom” para valores entre 90-84, “regular” entre 79-65, “ruim” entre 64-45 e “péssimo” para valores abaixo de 45. A Tabela 2.19 mostra os valores calculados de IQACCME para as 6 campanhas amostrais, utilizando a Equação 9. Para efeito de comparação, o IQACCME foi calculado considerando os VMP estabelecidos na Resolução CONAMA 357/2005 como diretrizes, e foi denominado $CCME_{CONAMA}$. Em seguida, foi novamente calculado, utilizando os valores preconizados na Resolução 357/2005 e foram acrescidos os VMPs sugeridos em legislações estrangeiras, mostrados na Tabela 2.18. Neste caso, foi denominado de $CCME_{Total}$.

Tabela 2.19. Valores de IQA CCME calculados para cada campanha amostral, considerando os padrões de qualidade da Resolução CONAMA 357/05 e os 11 parâmetros de qualidade obtidos.

Campanha Amostrai	C1	C2	C3	C4	C5	C6
CCME (CONAMA)	41	41	36	37	37	51
CCME_{(Total)*}	35	34	32	33	31	49

*CCME Total Considera os 11 parâmetros físico-químicos obtidos.

Ao observarmos os valores de $IQACCME_{CONAMA}$, pode-se verificar que nas cinco primeiras campanhas, o estado de qualidade atribuído aos 15 km de corpo hídrico monitorados foi “péssimo”, e na sexta amostragem, apesar do aumento no valor de $IQACCME_{CONAMA}$, que denota melhora na qualidade, ainda apresenta estado de qualidade classificado como “ruim”. As mesmas classificações foram atribuídas pelo $IQACCME_{Total}$, mesmo considerando diferentes parâmetros, de forma que há concordância nos estados de qualidade atribuídos. Na Figura 2.16 encontra-se uma memória de cálculo, em planilha de Excel, mostrando valores calculados de excursão não normalizadas associadas a cada um dos pontos de coleta, onde pode-se perceber que a maior contribuição para excursão é proveniente do ponto PL em todas as campanhas amostrais.

	Parametro	T (C)	pH	EC (µS/cm)	O.D (mg/L)	TDS	ALCALI	CL	PO4-3	TOC	TN	SST
	Objetivo	Δ T ≤ 3C	6 a 9	400	5	500	200	250	0,1	4	0,3	25
18/09/2019	MT_C1	23,8	6,1	51,3	6,3	522,9	16,4	24,8	0,0	3,2	0,4	2,8
	PL_C1	25,8	7,6	1046,0	5,6	25,6	240,2	119,5	3,2	186,3	2,1	62,3
	J1_C1	27,4	7,1	843,0	3,5	421,4	196,1	105,8	3,3	112,4	1,5	40,2
24/10/2019	J2_C1	26,4	7,1	414,1	3,0	207,0	110,0	65,8	2,1	20,3	0,8	22,7
	J3_C1	22,4	7,0	164,0	6,3	82,2	42,8	15,7	0,7	2,3	0,7	3,2
	MT_C2	24,1	6,4	106,4	5,0	653,5	30,4	21,1	0,0	18,2	0,9	15,1
28/11/2019	PL_C2	26,9	7,7	1307,0	2,3	53,2	242,5	131,0	2,8	115,9	3,3	82,5
	J1_C2	26,3	7,3	687,6	3,0	343,9	142,3	61,2	2,6	54,9	3,2	87,3
	J2_C2	26,5	6,7	266,0	2,1	133,0	51,5	14,6	1,3	55,5	1,7	61,1
18/12/2019	J3_C2	23,3	6,6	129,7	3,5	65,0	20,4	20,4	1,3	3,5	1,2	120,6
	MT_C3	25,8	6,6	90,0	6,8	493,8	38,1	4,3	0,5	121,2	1,8	4,2
	PL_C3	26,3	7,9	988,0	3,8	44,7	133,8	78,5	42,0	212,6	2,6	100,9
16/01/2020	J1_C3	26,6	7,1	461,6	4,0	231,0	81,8	40,8	22,2	77,0	1,6	6,4
	J2_C3	27,3	6,7	213,0	2,8	106,6	40,7	18,8	7,0	21,4	0,7	34,4
	J3_C3	24,3	6,4	100,1	6,3	50,0	19,5	7,9	3,1	26,0	0,9	48,4
20/02/2020	MT_C4	26,9	6,5	94,0	6,7	370,0	31,2	9,0	0,0	2,3	1,0	4,6
	PL_C4	26,2	7,8	740,5	4,4	47,0	176,3	66,2	49,0	89,6	2,4	111,2
	J1_C4	26,7	6,9	420,0	3,5	209,8	103,0	37,6	23,9	29,7	1,4	46,7
16/01/2020	J2_C4	26,9	6,5	237,6	2,8	119,0	64,7	19,6	9,5	4,4	0,8	31,9
	J3_C4	24,7	6,2	126,4	6,3	63,0	39,2	10,9	1,1	4,4	1,0	49,5
	MT_C5	29,2	6,5	61,3	3,5	431,2	26,3	5,3	0,0	2,4	0,7	12,7
20/02/2020	PL_C5	28,1	7,7	862,4	5,5	31,0	248,2	71,0	38,1	160,5	1,5	146,1
	J1_C5	28,9	7,1	461,9	1,7	231,0	130,3	37,1	11,9	69,1	0,9	112,0
	J2_C5	29,8	6,7	290,9	1,8	145,1	79,8	23,2	0,3	27,3	0,6	16,9
20/02/2020	J3_C5	26,1	6,8	111,0	2,7	55,0	36,8	8,3	0,1	6,0	0,6	6,9
	MT_C6	27,2	6,2	37,0	6,2	192,5	18,8	3,0	-0,1	2,9	0,5	369,2
	PL_C6	25,2	7,0	385,0	6,3	19,0	103,7	35,9	6,0	35,7	2,8	100,4
20/02/2020	J1_C6	26,3	6,5	160,5	3,9	80,0	48,0	13,9	0,4	5,3	0,5	167,1
	J2_C6	25,5	6,2	91,6	5,5	45,9	30,2	7,3	0,2	3,8	0,5	144,7
	J3_C6	24,1	6,1	48,8	6,8	24,5	21,7	5,3	0,0	3,6	0,6	240,6
IQACCME todos os parâmetros físico-químicos.	C1	Total	Falho	Documentação:								
	Parâmetros	11	8	P57 =	P72*5							
	Testes	55	19	Q74 =	(((G74/\$G\$73)-1)+((L74/\$L\$73)-1))							
	Excursão não normalizada	MT	0	Q75 =	(((E75/\$E\$73)-1)+((H75/\$H\$73)-1)+((J75/\$J\$73)-1)+((K75/\$K\$73)-1)+((L75/\$L\$73)-1)+((M75/\$M\$73)-1))							
		PL	86	Q76 =	(((E76/\$E\$73)-1)+((F76/\$F\$73)-1)+((J76/\$J\$73)-1)+((K76/\$K\$73)-1)+((L76/\$L\$73)-1)+((M76/\$M\$73)-1))							
		J1	64	Q77 =	(((E77/\$E\$73)-1)+((F77/\$F\$73)-1)+((J77/\$J\$73)-1)+((K77/\$K\$73)-1)+((L77/\$L\$73)-1))							
		J2	25	Q78 =	(((J78/\$J\$73)-1)+((L78/\$L\$73)-1))							
	J3	8	Q79 =	SCOMA(Q74:Q78)								
	Soma		184	Q80 =	Q79/P80							
	nse	55	3	Q82 =	(Q72/P72)*100							
F1	F2	F3	P82 =	(Q73/P73)*100								
F3	35	77	Q82 =	Q80/(Q80^0,01+0,01)								
CCME		35	P83 =	100-(((RAI2(Q82^2+P82^2+Q82^2)))^1,723)								

Figura 2.16. Memória de cálculo para IQACCME considerando todos os parâmetros físico-químicos. Mostrados valores de excursão não normalizada para os pontos amostrais do corpo hídrico em estudo, durante a primeira campanha amostral.

O IQACCME calculado conforme a Equação 9 não considera a variabilidade espacial na qualidade da água do corpo hídrico avaliado, possivelmente devido a grande quantidade de lagos na região canadense. Entretanto, devido ao seu algoritmo flexível, em trabalho brasileiro, Almeida e Oliveira [180] adaptaram este índice para obter uma avaliação de qualidade da água por ponto amostral ao longo do rio Joanes (BA), corpo hídrico fortemente influenciado pelo descarte de efluentes industriais. Ao comparar o estado de qualidade reportado pelo IQACCME adaptado com os resultados obtidos quando utilizado o IQA desenvolvido pela CETESB, as autoras identificaram discrepâncias de classificação que foram atribuídas às diferenças no número de parâmetros utilizados em cada IQA. Enquanto o IQA CETESB utiliza 9 parâmetros, no IQA CCME adaptado pelas autoras, foram utilizados apenas 7, devido à ausência de diversos VMP na legislação brasileira. Os resultados obtidos pelas autoras ressaltam a necessidade de se adaptar os IQA para necessidades específicas, bem como os padrões de qualidade da água contemplados nas legislações pertinente. Considerando estes fatores,

no presente estudo deseja-se adaptar o IQA CCME para reportar a variação espacial na qualidade da água, e utilizando como critério de avaliação a proteção da vida aquática.

4.4.2 Proposta de um IQA visando a proteção da vida aquática frente MPE

4.4.2.1 Adaptação do IQA CCME para reportar variação espacial de qualidade da água.

O IQA CCME obtido conforme a Equação 9, considera todos os pontos monitorados em um único valor, e por este motivo, há diferença entre o número de parâmetros avaliados (F1) e o número de testes realizados (F2). Ao considerarmos a aplicação do algoritmo do IQA CCME para reportar a qualidade da água por ponto amostral, o número de parâmetros avaliados e o de testes realizados se iguala. Dessa forma, apenas dois fatores tornam-se necessários para o cálculo do índice, sendo estes a frequência no descumprimento às diretrizes estabelecidas e sua magnitude. Dessa forma, o IQA CCME será adaptado segundo a Equação 10, onde o fator de normalização 1,414 equivale a raiz quadrada de 2, semelhante ao descrito anteriormente.

$$IQA\ CCME = 100 - \frac{\sqrt{F1^2 + F2^2}}{1,414} \quad (10)$$

4.4.2.2 Triagem de variáveis

Os IQA podem ser utilizados para reportar a qualidade da água em diferentes escalas espaço-temporais e podem ser adaptados diante de necessidades específicas. Nesse sentido, para realizar estas adaptações, são utilizadas variáveis ambientais consideradas críticas para estes usos, de maneira evitar o chamado efeito eclipse, no qual o valor de IQA pode ser fortemente influenciado pelo comportamento estável de algumas variáveis em detrimento de outras que apresentem maior variação [129]. Este tipo de índice entretanto, dependem de uma criteriosa triagem de variáveis para oferecer avaliações apropriadas [181]. Nesse sentido, a Análise de Componentes Principais (do inglês *principal component analysis*, PCA) tem sido amplamente utilizada na elaboração destes índices, possibilitando identificar quais são os fatores que mais influenciam a qualidade da água.

Esta técnica de análise multivariada busca explicar o comportamento da variância dos dados dentro de uma população e como ela se distribui. As variáveis iniciais,

normalmente multicorrelacionadas, são combinadas linearmente, por meio da Equação 12, e a transformação matemática envolvida redistribui as variâncias dos dados originais em eixos ortogonais não correlacionados, denominados de componentes principais (PC_s). A transformação matemática consiste, resumidamente em escrever vetorialmente os valores das variáveis em estudo, expressos por $X = [x_1, x_2, \dots, x_p]$, onde o subíndice denota cada uma das p variáveis. Cada variável possui um valor médio (μ) e variância (σ^2) associados. Em seguida, a matriz de covariância entre as p variáveis das n unidades amostrais é escrita e denotada por Σ , conforme a Equação 11.

$$\Sigma = \begin{matrix} \sigma_{11}^2 & \dots & \sigma_{1p}^2 \\ \dots & \dots & \dots \\ \sigma_{1n}^2 & \dots & \sigma_{nn}^2 \end{matrix} \quad (11)$$

A partir de Σ , são obtidos pares de autovalores e autovetores (e) associados, e a componente principal é representada pela Equação 12. O valor de PC é expresso em porcentagem e representa quanto da variação total do conjunto de dados é explicada por ela. Esta transformação possibilita que a variabilidade total obtidas de todas as PC_s calculadas, seja igual à variação total dos dados originais.

$$PC_i = e_{i1}X_1 + e_{i2}X_2 + e_{ip}X_p \quad (12)$$

Uma vez obtidas as PC , pode-se observar como a variância dos dados originais se distribui ao se observar os eixos das componentes em gráficos do tipo *biplot* $PC_i \times PC_j$. Variáveis agrupadas nos eixos das PC_s apresentam comportamento semelhante dentro do conjunto de dados, e dessa forma torna-se necessário um menor número de variáveis para descrever a população, diminuindo o volume de dados e mantendo a maior parte da informação contida neles.

Feitas estas considerações, os parâmetros físico-químicos obtidos durante as seis campanhas amostrais, bem como os dados pluviométricos nas datas das amostragens foram avaliados por PCA. As duas últimas campanhas amostrais foram consideradas, devido a necessidade de se obter maior conjunto de amostras, totalizando 30. Isto porque serão consideradas 12 variáveis, incluindo o volume de precipitação, e a análise por PCA requer que sejam utilizadas mais unidades amostrais do que parâmetros, do contrário não

seria possível a redução de variáveis. A Tabela 2.20 apresenta os valores de ponderação para cada variável dentro das PC_s .

Tabela 2.20: Porcentagem explicada, valores de autovalores e autovetores para os parâmetros físico-químicos e dados pluviométricos nas PCS.

Componente	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Porcentagem Explicada	47,21 %	60,77%	72,60%	81,71%	87,85%
Autovalor	5,66	1,62	1,42	1,09	0,73
Parâmetro	Autovetores				
T (°C)	0,14254	-0,22422	-0,66557	-0,02229	0,32015
pH	0,40199	0,01604	0,0019	0,03488	-0,17412
EC	0,41166	0,00425	0,03004	0,0175	0,06094
OD	-0,14444	0,46328	0,41918	0,40976	0,2266
STD	-0,10642	-0,49092	0,13128	0,44878	0,5198
mgCaCO₃/L	0,39545	0,05107	-0,06585	0,12155	0,11684
Cl	0,38091	-0,02932	0,06547	0,13103	0,11784
PO₄⁻³	0,26268	0,23214	-0,10842	0,05335	-0,3038
COT	0,36282	0,06009	0,10703	0,16657	0,13337
NT	0,33125	-0,07251	0,35172	-0,14102	0,07464
SST	-0,00379	0,51331	-0,09575	-0,46994	0,62659
PPTC	0,06766	-0,40511	0,44549	-0,57045	0,07827

Conforme pode ser observado, as duas primeiras PCs explicam cerca de 60% da variância dos dados, sendo considerado satisfatório. A Figura 2.17 mostra um gráfico biplot PC1 X PC2, além da distribuição dos pontos amostrais nos quadrantes.

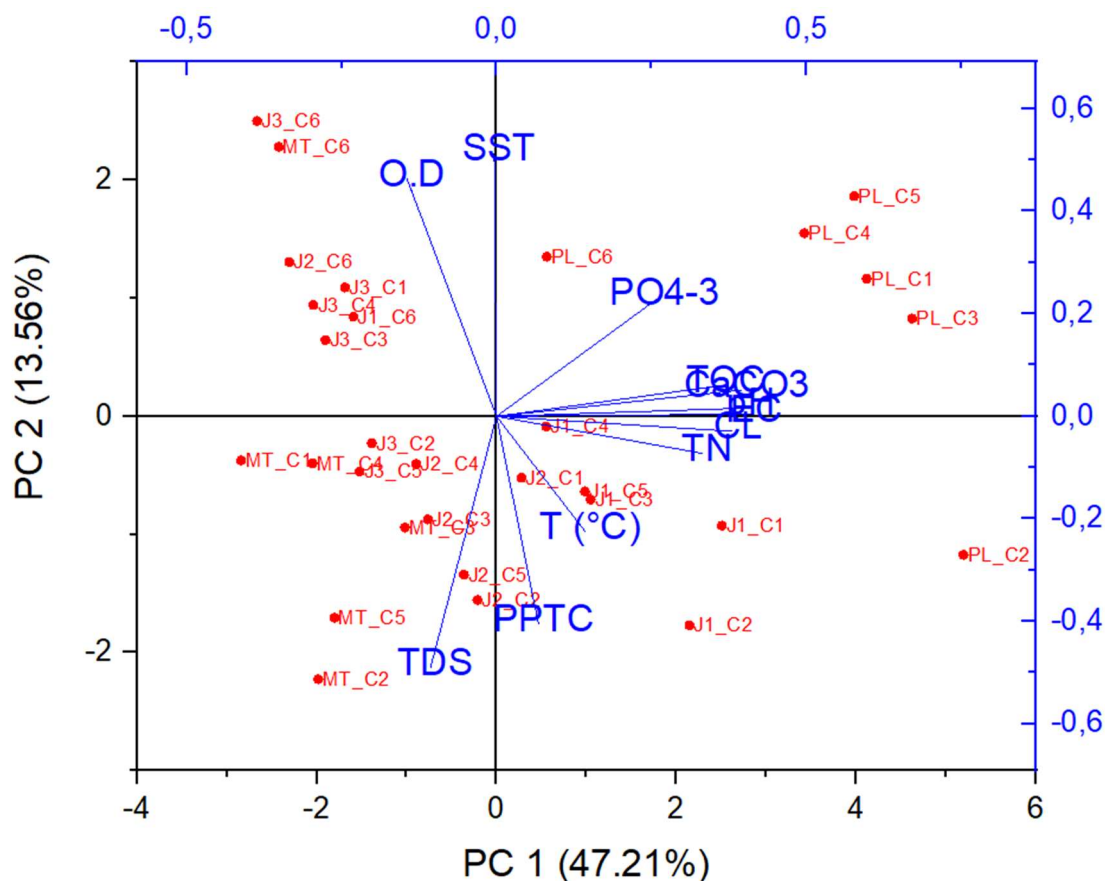


Figura 2.17. Gráfico *biplot* dos autovetores das variáveis em PC1 e PC2 e distribuição dos pontos amostrais nos quadrantes assinalados numericamente.

Conforme pode ser observado no gráfico *biplot*, os pontos PL, J1 e J2 estão distribuídos do lado positivo de PC1, enquanto MT e J3 do lado negativo. Estas observações indicam contraste entre estes conjuntos de pontos amostrais, que são consideravelmente diferentes em termos de qualidade da água, sendo MT e J3 os pontos com maiores valores de IQA. Corroboram com estas observações o agrupamento dos parâmetros COT, NT, Cl, CE, alcalinidade no lado positivo de PC1, que indica a semelhança de comportamento, notadamente devido aos seus elevados valores estarem associado a piores estados de qualidade, observados em PL, J1 e J2.

Em PC2 pode-se observar outro contraste entre os quadrantes 2 e 3, que compreende majoritariamente aos pontos PL e MT respectivamente, como para a variável SDT. PL apresenta baixos valores de SDT, diferentemente de MT, e em PC2 verifica-se que pontos distribuídos no quadrante 4 apresentam baixos valores de OD diferentemente daqueles presentes no quadrante 1. Dentre os pontos amostrais, pode-se dizer que aqueles com menores valores de IQA estão distribuídos no quadrante 4, que além de apresentarem baixos valores de OD, tem maior tendência a elevados valores de COT, NT, fosfato,

cloreto e EC. Cabe ressaltar o ponto PL da segunda campanha amostral, o qual apresentou o menor valor de IQA dentre todos os estimados.

Os parâmetros de qualidade que se encontram agrupados apresentam variâncias semelhantes, produzindo efeito similar no IQA, de forma que a utilização de todos é, portanto, desnecessária. Para construção de índices, recomenda-se obter máxima variância, ou seja, maior quantidade de informações, com o menor número possível de variáveis. Nesse sentido, os resultados produzidos pela PCA norteiam a escolha de quais parâmetros são mais adequados por meio de seus pesos nas PCs, notadamente aqueles com maiores ponderações. Dessa forma, variáveis de elevado peso e com maior contraste descrevem com eficiência o corpo hídrico em estudo, e discriminam pontos onde há maior impacto ambiental.

Considerando que o objetivo é utilizar o menor número possível de parâmetros físico-químicos, e preferencialmente os mais facilmente obtidos, foram selecionados para a construção do IQACCME adaptado as variáveis EC, DO, PO_4^{3-} e SST. Os valores de IQACCME foram novamente calculados e são mostrados na Figura 2.18. Para efeito de comparação, o IQACCME foi calculado segundo a Equação 10, considerando-se os 11 parâmetros de qualidade, e depois considerando apenas os parâmetros selecionados na etapa de triagem, de maneira a verificar diferenças de classificação. Na figura 2.18, a marcação em verde escuro indica estado qualidade “ótimo”, em verde claro está assinalado o estado “bom”, amarelo é indicativo de “regular”, laranja denota o estado “ruim”, e a marcação em vermelho indica estado de qualidade “péssimo”, segundo as faixas de classificação do IQA CCME.

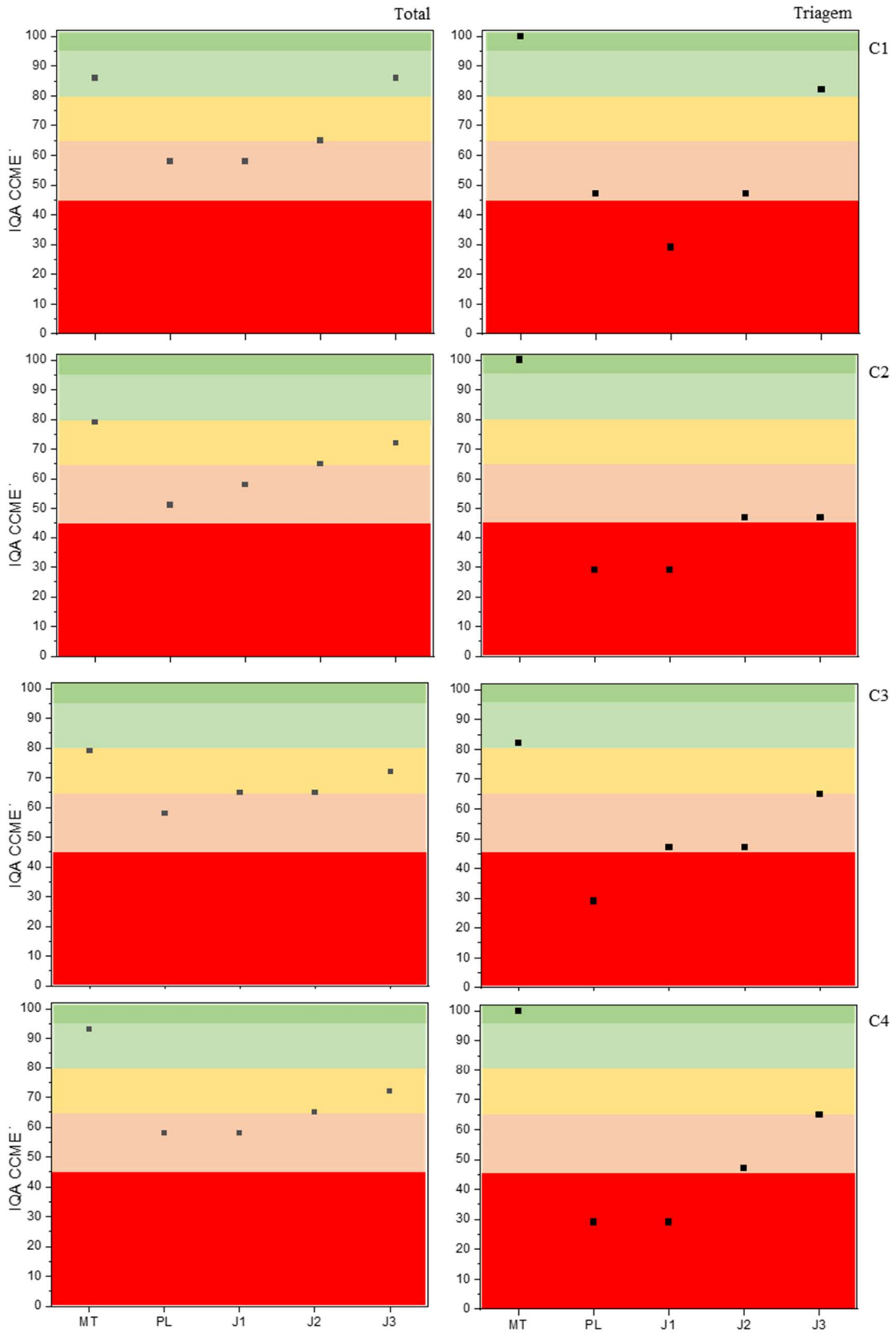


Figura 2.18: Valores de IQACCME adaptado obtidos para cada ponto amostral durante as 6 campanhas amostrais. Valores mostrados considerando todos os parâmetros físico-químicos (Total) e após a triagem de variáveis (Triagem). *Continua.*

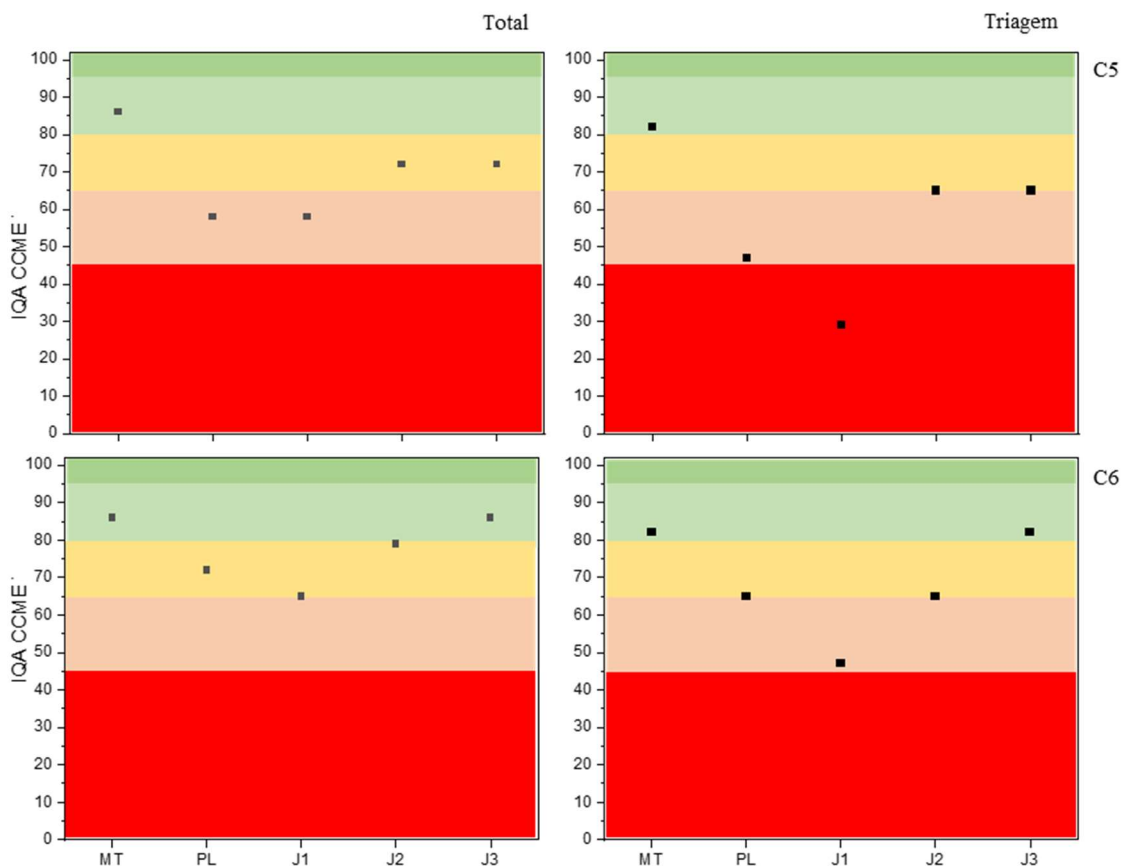


Figura 2.18: *Continuação*. Valores de IQACCME adaptado obtidos para cada ponto amostral durante as 6 campanhas amostrais. Valores mostrados considerando todos os parâmetros físico-químicos (Total) e após a triagem de variáveis (Triagem).

Conforme pode ser observado, quando utilizadas as variáveis selecionadas por PCA, os estados de qualidade sofrem alterações, normalmente, mostrando piora na qualidade. Ao compararmos o IQACCME calculado com as 11 variáveis físico-químicas, pode-se perceber incoerências entre o estado de qualidade reportado com a quantidade e de parâmetros testados “falhos” frente às diretrizes estabelecidas, como o reportado para o ponto J2, que apesar de falhar em mais de cinco parâmetros, a qualidade atribuída é “razoável”. Já o estado de qualidade atribuído a este ponto amostral pelo IQACCME após a triagem de variáveis, normalmente é dado por “ruim”, sendo mais condizente. A redução do valor de IQACCME, e consequentemente do estado de qualidade, está associada a frequência e magnitude da falha perante as diretrizes estabelecidas, e não somente ao número de parâmetros escolhidos, e assim, considera-se que as quatro variáveis selecionada proporcionam melhora na discriminação de pontos com maior e menor grau de contaminação, conforme também pode ser observado para os pontos PL e J1.

No que diz respeito às diferenças de classificação, é possível que as demais variáveis favoreçam o efeito eclipse, em particular, as variáveis COT e NT, que não discriminam adequadamente pontos de maior e menor impacto ambiental. A exclusão destes parâmetros do cálculo de IQA, já tem sido reportada, por serem consideradas inadequadas. No primeiro caso, o carbono total na fração dissolvida contempla tanto a fração biodegradável, quanto a não biodegradável, semelhantemente a NT, que agrega nitrato, nitrito e amônio, sendo que a espécie nitrogenada de maior toxicidade no ambiente aquático é o íon amônio. Outras variáveis, como alcalinidade, cloreto, SDT aparentar um comportamento constante frente a variação das variáveis EC, DO, SST e PO_4^{3-} nos pontos de maior contaminação.

Para verificar se há correlação entre a pluviosidade e a qualidade da água, foi utilizada a correlação de Pearson, com intervalo de confiança de 95%, onde a significância da correlação é dada para valor de $p < 0,05$. Assim, não foi verificada influência sazonal na qualidade da água nem considerando os 11 parâmetros físico-químicos (Coeficiente = -0,22; $p = 0,22$), nem após a triagem de variáveis (Coeficiente = -0,17 $p = 0,35$), indicando que qualidade da água é mais influenciada pelo processo produtivo, conforme ressaltado anteriormente.

4.4.2.3 Inclusão de MPE em avaliação de qualidade da água.

Nos IQA mais comumente utilizados, poluentes orgânicos não estão contemplados, devido ao elevado custo para realizar suas determinações. Assim, comumente são utilizados parâmetros físico-químicos. Entretanto, considerando a toxicidade de diversos MPE e que muitos destes são fortes candidatos a serem incluídos em legislações pertinente, faz-se necessário sua inclusão em IQAs dedicados a avaliar a qualidade da água visando a proteção da vida aquática. Uma vez feita a triagem das variáveis físico-químicas, deseja-se inserir alguns MPE no IQACCME, notadamente aqueles considerados de maior preocupação e cuja presença nos ambientes aquáticos já tem sido extensamente reportada. Para esta adaptação, não foi utilizada a técnica de PCA, devido a pequena quantidade de unidades amostrais (20) frente ao número de substâncias avaliadas (27 substâncias em cada uma das 20 unidades amostrais), de maneira que não há efetiva redução de variáveis.

Dentre os diversos fármacos que tem sido alvo de investigação, a literatura tem expressado preocupação particular com os anti-inflamatórios, antibióticos e interferentes endócrinos. Dentre os 27 MPE detectados, dez substâncias pertencentes a estas

classificações, e assim foram selecionados para integrar o IQACCME adaptado, sendo estes os antibióticos SMX, CPX e AMX, os anti-inflamatórios PCT, IBU e DCF e ao interferentes endócrinos TCS, BPA e EE2 além do psicotrópico CBZ. Após a inserção destes MPE, o IQA CCME foi recalculado e os valores para os pontos de coleta das 4 campanhas amostrais são mostrados na Figura 2.19. Não foram consideradas as seis campanhas devido a ausência de dados referentes aos MPE nas campanhas C5 e C6. Novamente, para efeito de comparação, os valores de IQACCME considerando apenas parâmetros físico-químico, após a etapa de triagem, também são exibidos na Figura 2.19

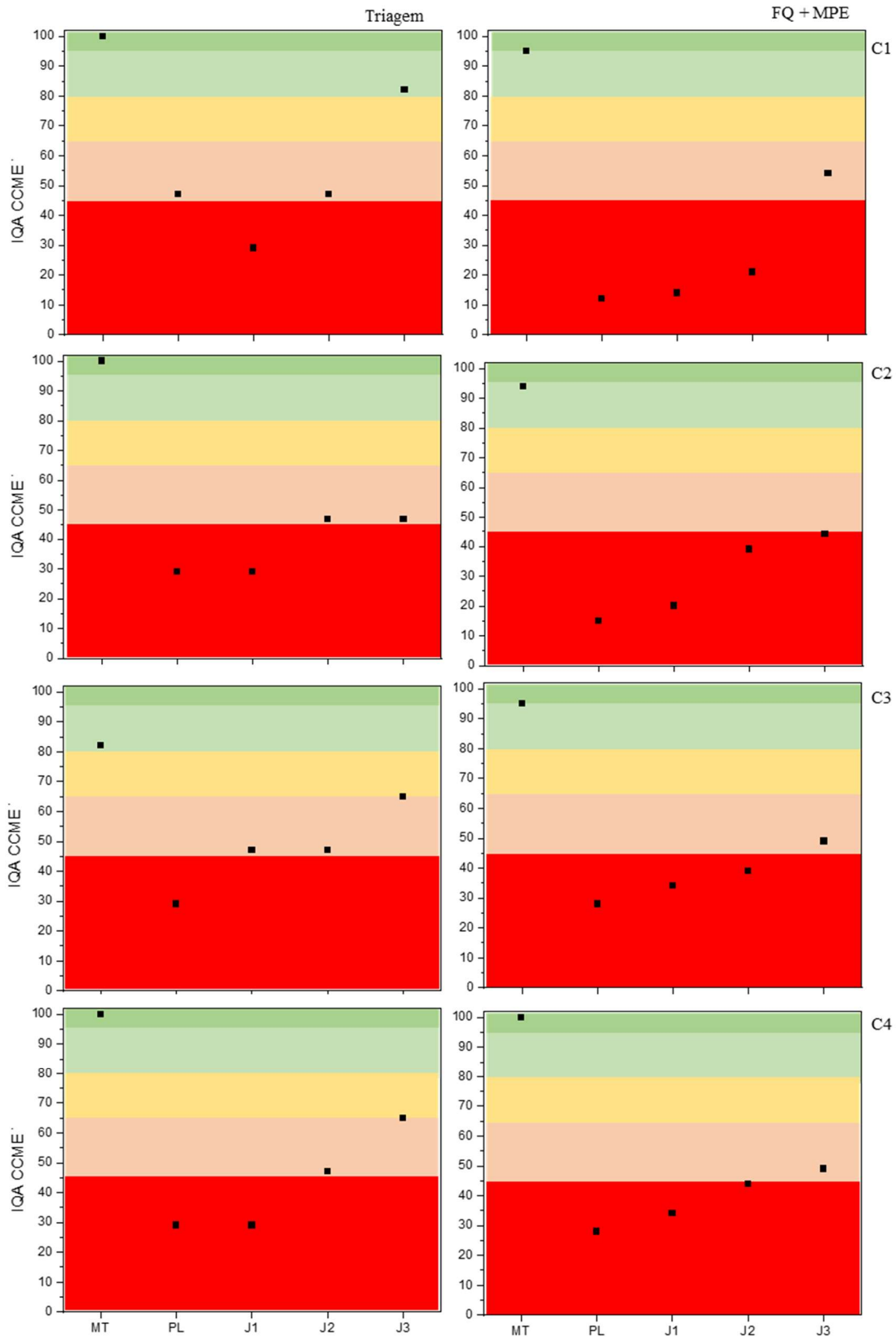


Figura 2.19: Valores de IQACCME adaptado calculados considerando parâmetros físico-químicos obtido na triagem de variáveis (Triagem) e com a inserção dos MPE selecionados (FQ + MPE), considerando as quatro primeiras campanhas amostrais.

Conforme pode ser observado, em todas as campanhas amostrais ocorre a diminuição do valor de $IQACCME_{(PFQ+MPE)}$ quando considerados os MPE, exceto para o ponto MT. A adição de mais variáveis, que não incorrem em “falha” perante as diretrizes estabelecidas, favorece o aumento do valor de IQA. Apesar de, no ponto MT frequentemente serem detectadas elevadas concentrações de MPE, o valor de excursão normalizada diminui, e assim apenas este ponto apresenta características consideradas apropriadas para se preservar a vida aquática. O efeito contrário pode ser observado nos demais pontos, onde ocorre maior frequência e magnitude das falhas perante as diretrizes escolhidas, levando a piores estados de qualidade.

Em todas as campanhas amostrais, pode-se verificar que o valor de $IQACCME_{(PFQ+MPE)}$ que contempla os MPE, sofre gradual incremento à medida que a distância em relação a PL aumenta, porém, sem proporcionar adequadas condições para proteger a vida aquática. Em particular, cabe ressaltar a redução de qualidade da água no ponto J3 em todas as campanhas, visto que a atenuação das concentrações por mecanismos diversos não foi suficiente para reduzir às concentrações de todos os MPE à valores abaixo de seus respectivos PNECs.

Os estados de qualidade reportados pelo $IQACCME$ após triagem de variáveis por PCA e inclusão de MPE se mostram condizente com o cenário reportado pelos moradores da região e por Resende [152], ao afirmar que os usuários a jusante da ETE não usufruem de águas com adequada qualidade. Em relato verbal, um morador afirmou que, por ocasião do transbordamento de uma represa nas proximidades das áreas de chácara, alguns peixes foram arrastados para as águas dos córregos das regiões circunvizinhas ao DAIA. Este morador afirma que em pouco tempo, peixes mortos foram encontrados pela extensão dos córregos. Este relato mostra o quanto as águas impactadas pelo lançamento de efluentes indústrias apresentam condições hostis à vida aquática. Baseado nestes relatos, pode-se verificar que o $IQACCME$ adaptado apresenta resultados condizentes com o cenário atual dos corpos hídrico estudados.

5 CONCLUSÕES

Este trabalho contribuiu para aumentar o conhecimento no que diz respeito a ocorrência de MPE em decorrência de lançamentos de efluentes industriais e seus riscos associados. No melhor do nosso conhecimento, não foram encontrados trabalhos brasileiros dedicados a esta finalidade. O método analítico desenvolvido se mostrou adequado para realizar as determinações das concentrações de mais 20 MPE,

apresentando adequada detectabilidade (mLOQ e mLOD de 2,5 ng/L e 0,75 ng/L) e precisão (CV% inferior a 17% no nível de concentração de mLOQ). Concentrações totais de MPE da ordem de $145 \pm 1 \mu\text{g/L}$ foram determinadas, sendo mais de dez vezes superiores às concentrações estimadas em rios e lagos fortemente impactados pelos lançamentos de esgotos domésticos, evidenciando a relevância das fontes industriais no escopo de contaminações de águas superficiais por MPE. Devido a interrupção das atividades de pesquisa em função da pandemia no Coronavírus, avaliações quanto a recuperação dos analitos e efeito de matriz não foram realizadas. O DAIA apresenta elevada importância no cenário nacional no que diz respeito a produção de medicamentos, entretanto, a ETE-DAIA encontra-se subdimensionada, dificultando o eficiente tratamento dos rejeitos provenientes das mais de 150 indústrias presentes no Distrito. Segundo informações disponibilizadas e dados obtidos neste trabalho, os efluentes conferem ao corpo receptor características em desacordo com seu enquadramento, considerando padrões de qualidade e diretrizes contemplados nas Resoluções CONAMA 357/2005 e 430/2011 para corpo hídrico classe 2. Ademais, inviabilizam a manutenção da vida aquática devido aos baixos valores de OD. No que diz respeito a MPE, elevados riscos à biota aquática foram identificados para diversos fármacos como PCT, NPX, DCF SMX, além de hormônios (EE2 e NGT), além de PHP como TCS e DEET, por vezes exibindo valores de RQ > 5. Mecanismos de degradação não foram capazes de atenuar os riscos associados a presença de MPE, mesmo após mais de 15 km de extensão do CH, evidenciando o severo impacto ambiental proporcionado pelo DAIA.

Comparações com os padrões de qualidade estabelecidos em legislações pertinentes, nem sempre reportam adequadamente o grau de impacto proporcionado pelos polos industriais. Dessa forma, a proposta de avaliação da qualidade da água por meio do IQACCME adaptado para discriminar variação espaço temporal e incorporando MPE, se mostrou abrangente e condizente com o quadro ambiental observado. Estratégias baseadas na seleção de variáveis FQ representativas juntamente com MPE de maior periculosidade no ambiente foram utilizadas, e a discriminação de pontos amostrais com maior e menor impacto ambiental foi realizada com eficiência.

Enquanto diversos organismos internacionais almejam a inclusão de MPE em legislações pertinentes visando salvaguardar a vida aquática, no Brasil diversos trabalhos apontam para a falta de fiscalização sobre fontes de poluição pontuais, além de reportar aportes irregulares e até lançamentos de esgotos não tratado por estas fontes. No DAIA, apesar de diversas denúncias referentes ao descumprimento do previsto em legislações

pertinentes, as indústrias operam sem sanções e a ETE-DAIA não apresenta a adequada capacidade e nem estrutura para realizar o tratamento dos rejeitos provenientes do Distrito. Como consequências, severos impactos ambientais são observados, sem previsão de remediação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [88] A.A. Oketola, O. Osibanjo, Industrial pollution load assessment by industrial pollution projection system (IPPS), *Toxicol. Environ. Chem.* 91 (2009) 989–997. <https://doi.org/10.1080/02772240802614564>.
- [89] P.A. Nese, J. Galandak, J.A. Frederick, J.A. Frederick, P.A. Nese, Composting of industrial disposal wastewater sludge, *Water Environ. Fed.* 52 (2015) 183–191.
- [90] E. Benfenati, G. Facchini, P. Pierucci, R. Fanelli, Identification of organic contaminants in leachates from industrial waste landfills, 1996.
- [91] M.S. Goldberg, N. Al-Homsi, L. Goulet, H. Riberdy, Incidence of cancer among persons living near a municipal solid waste landfill site in montreal, québec, *Arch. Environ. Health.* 50 (1995) 416–424. <https://doi.org/10.1080/00039896.1995.9935977>.
- [92] S.P. Ferraro, R.C. Swartz, F.A. Cole, D.W. Schults, Temporal changes in the benthos along a pollution gradient: Discriminating the effect of natural phenomena from sewage-industrial wastewater effects, *Estuar. Coast. Shelf Sci.* (1991). [https://doi.org/10.1016/0272-7714\(91\)90064-I](https://doi.org/10.1016/0272-7714(91)90064-I).
- [93] D.J. McCabe, Environmental assessment of the disposal of industrial wastewater residuals in a sanitary landfill, *J. Environ. Sci. Heal. . Part A Environ. Sci. Eng.* 14 (1979) 443–460. <https://doi.org/10.1080/10934527909374891>.
- [94] EUR-Lex, European Law, Water Framew. Dir. (2014). <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2000/60/oj> (accessed August 8, 2021).
- [95] Y. Brems, A. Lapkin, J. Baeyens, Pollution prevention in the pharmaceutical industry, *Int. J. Sustain. Eng.* 6 (2013) 344–351. <https://doi.org/10.1080/19397038.2012.730070>.
- [96] R. Abrahão, M. Carvalho, W. Raimundo Da, S. Júnior, T. Tamara, V. Machado, C. Lúcia, M. Gadelha, M.I. Medina Hernandez, Use of index analysis to evaluate the water quality of a stream receiving industrial effluents, (2007).

- <http://www.wrc.org.za>.
- [97] M.A.S. Cruz, A. de A. Gonçalves, R. de Aragão, J.R.A. de Amorim, P.V.M. da Mota, V.S. Srinivasan, C.A.B. Garcia, E.E. de Figueiredo, Spatial and seasonal variability of the water quality characteristics of a river in Northeast Brazil, *Environ. Earth Sci.* 78 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12665-019-8087-5>.
- [98] R.P. Singh, Effect of wastewater disposal and extent of industrial pollution in and around Kanpur, Uttar Pradesh, India, *Bull. Eng. Geol. Environ.* (2001). <https://doi.org/10.1007/s100640000079>.
- [99] R. Patnaik, Impact of Industrialization on Environment and Sustainable Solutions - Reflections from a South Indian Region, in: IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci., Institute of Physics Publishing, 2018. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/120/1/012016>.
- [100] O.O. Zacchaeus, M.B. Adeyemi, A. Azeem Adedeji, K.A. Adegoke, A.O. Anumah, A.M. Taiwo, S.A. Ganiyu, Effects of industrialization on groundwater quality in Shagamu and Ota industrial areas of Ogun state, Nigeria, *Heliyon.* 6 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04353>.
- [101] M. Aklin, P. Bayer, S.P. Harish, J. Urpelainen, Who blames corruption for the poor enforcement of environmental laws? Survey evidence from Brazil, *Environ. Econ. Policy Stud.* 16 (2014) 241–262. <https://doi.org/10.1007/s10018-014-0076-z>.
- [102] T. Reemtsma, B. Zywicki, M. Stueber, A. Kloepper, M. Jekel, Removal of sulfur-organic polar micropollutants in a membrane bioreactor treating industrial wastewater, *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002) 1102–1106. <https://doi.org/10.1021/es010185p>.
- [103] M. Castillo, M.C. Alonso, J. Riu, D. Barceló, Identification of polar, ionic, and highly water soluble organic pollutants in untreated industrial wastewaters, *Environ. Sci. Technol.* 33 (1999) 1300–1306. <https://doi.org/10.1021/es981012b>.
- [104] L. Yang, D.H. Han, B.M. Lee, J. Hur, Characterizing treated wastewaters of different industries using clustered fluorescence EEM-PARAFAC and FT-IR spectroscopy: Implications for downstream impact and source identification, *Chemosphere.* 127 (2015) 222–228. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.02.028>.
- [105] NBR 9800/1987, Assoc. Bras. Normas Técnicas. (1987) 1–4.
- [106] M. do M. Ambiente, Resolução CONAMA 430/2011, 2011. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703993104>.

- [107] W.S. Kuo, Effects of photolytic ozonation on biodegradability and toxicity of industrial wastewater, *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* 34 (1999) 919–933. <https://doi.org/10.1080/10934529909376873>.
- [108] A. Battimelli, D. Loisel, D. Garcia-Bernet, H. Carrere, J.P. Delgenes, Combined ozone pretreatment and biological processes for removal of colored and biorefractory compounds in wastewater from molasses fermentation industries, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 85 (2010) 968–975. <https://doi.org/10.1002/jctb.2388>.
- [109] M. Mouiya, A. Abourriche, A. Bouazizi, A. Benhammou, Y. El Hafiane, Y. Abouliatim, L. Nibou, M. Oumam, M. Ouammou, A. Smith, H. Hannache, Flat ceramic microfiltration membrane based on natural clay and Moroccan phosphate for desalination and industrial wastewater treatment, *Desalination*. 427 (2018) 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2017.11.005>.
- [110] E. Katsou, S. Malamis, K. Haralambous, Pre-treatment of Industrial Wastewater Polluted with Lead Using Adsorbents and Ultrafiltration or Microfiltration Membranes, *Water Environ. Res.* 83 (2011) 298–312. <https://doi.org/10.2175/106143010x12681059117256>.
- [111] B. Niu, J. Cai, W. Song, G. Zhao, Novel Electrochemical Pretreatment for Preferential Removal of Nonylphenol in Industrial Wastewater: Biodegradability Improvement and Toxicity Reduction, *Environ. Sci. Technol.* 54 (2020) 1258–1266. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03153>.
- [112] A.S. Stasinakis, Use of selected advanced oxidation processes (AOPs) for wastewater treatment-A mini review. USE OF SELECTED ADVANCED OXIDATION PROCESSES (AOPs) FOR WASTEWATER TREATMENT-A MINI REVIEW, 2008. <https://www.researchgate.net/publication/224849774>.
- [113] H. Cheng, W. Xu, J. Liu, H. Wang, Y. He, G. Chen, Pretreatment of wastewater from triazine manufacturing by coagulation, electrolysis, and internal microelectrolysis, *J. Hazard. Mater.* 146 (2007) 385–392. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.12.038>.
- [114] Statista, • Global pharmaceutical market size 2001-2019 | Statista, *Stat. Portal Mark. Data, Mark. Res.* (n.d.). <https://www.statista.com/statistics/263102/pharmaceutical-market-worldwide-revenue-since-2001/> (accessed August 8, 2021).
- [115] United States Environmental Protection Agency, Profile of the Pharmaceutical

- Industry, 1997.
- [116] United States Environmental Protection Agency, Clean Water Act, Law Regul. (1972). <https://www.epa.gov/history/epa-history-clean-water-act> (accessed December 14, 2021).
- [117] CONAMA, Resolução n 357, 18 de março de 2005, Diário Of. (2005) 58–63. <https://doi.org/nº 053, de 18/03/2005>.
- [118] D.G.J. Larsson, C. de Pedro, N. Paxeus, Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals, *J. Hazard. Mater.* 148 (2007) 751–755. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.008>.
- [119] K. Ma, Z. Qin, Z. Zhao, C. Zhao, S. Liang, Toxicity evaluation of wastewater collected at different treatment stages from a pharmaceutical industrial park wastewater treatment plant, *Chemosphere.* 158 (2016) 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.052>.
- [120] Z. Chen, H. Wang, N. Ren, M. Cui, S. Nie, D. Hu, Simultaneous removal and evaluation of organic substrates and NH₃-N by a novel combined process in treating chemical synthesis-based pharmaceutical wastewater, *J. Hazard. Mater.* 197 (2011) 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.053>.
- [121] Z. Chen, N. Ren, A. Wang, Z.P. Zhang, Y. Shi, A novel application of TPAD-MBR system to the pilot treatment of chemical synthesis-based pharmaceutical wastewater, *Water Res.* 42 (2008) 3385–3392. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.04.020>.
- [122] Y.A. Oktem, O. Ince, P. Sallis, T. Donnelly, B.K. Ince, Anaerobic treatment of a chemical synthesis-based pharmaceutical wastewater in a hybrid upflow anaerobic sludge blanket reactor, *Bioresour. Technol.* 99 (2008) 1089–1096. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.02.036>.
- [123] J.A. Melero, F. Martínez, J.A. Botas, R. Molina, M.I. Pariente, Heterogeneous catalytic wet peroxide oxidation systems for the treatment of an industrial pharmaceutical wastewater, *Water Res.* 43 (2009) 4010–4018. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.04.012>.
- [124] E.P. da Costa, C.C. Pinto, A.L.C. Soares, L.D.V. Melo, S.M.A.C. Oliveira, Evaluation of violations in water quality standards in the monitoring network of São Francisco River basin, the third largest in Brazil, *Environ. Monit. Assess.* 189 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6266-y>.
- [125] P. de Melo Gurgel, J.A. Navoni, D. de Moraes Ferreira, V.S. do Amaral,

- Ecotoxicological water assessment of an estuarine river from the Brazilian Northeast, potentially affected by industrial wastewater discharge, *Sci. Total Environ.* 572 (2016) 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.002>.
- [126] F. Hamaidi-Chergui, M. Brahim Errahmani, Water quality and physicochemical parameters of outgoing waters in a pharmaceutical plant, *Appl. Water Sci.* 9 (2019). <https://doi.org/10.1007/s13201-019-1046-1>.
- [127] Y. Tian, Y. Jiang, Q. Liu, M. Dong, D. Xu, Y. Liu, X. Xu, Using a water quality index to assess the water quality of the upper and middle streams of the Luanhe River, northern China, *Sci. Total Environ.* 667 (2019) 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.356>.
- [128] S. Tyagi, B. Sharma, P. Singh, R. Dobhal, Water Quality Assessment in Terms of Water Quality Index, *Am. J. Water Resour.* 1 (2020) 34–38. <https://doi.org/10.12691/ajwr-1-3-3>.
- [129] G. Silvério Da Silva, W. De, F. Jardim, UM NOVO ÍNDICE DE QUALIDADE DAS ÁGUAS PARA PROTEÇÃO DA VIDA AQUÁTICA APLICADO AO RIO ATIBAIA, REGIÃO DE CAMPINAS/PAULÍNIA-SP, 2006.
- [130] T. Poonam, B. Tanushree, C. Sukalyan, WATER QUALITY INDICES-IMPORTANT TOOLS FOR WATER QUALITY ASSESSMENT: A REVIEW, 2013.
- [131] T. Ouyang, Z. Zhu, Y. Kuang, Assessing impact of urbanization on river water quality in the Pearl River Delta Economic Zone, China, *Environ. Monit. Assess.* 120 (2006) 313–325. <https://doi.org/10.1007/s10661-005-9064-x>.
- [132] K.-S.D.-K.K.-K.H.J.-Y.C.J.-D.Y. and G.-J.J. Jeong, Relationships among a Habitat-Riparian Indexing System (HIS), Water Quality, and Land Coverage_ a Case Study in the Main Channel of the Yangsan Stream (South Korea), *Korean J. Limnol.* 42 (2009) 502–509.
- [133] U. Damodhar, M. Vikram Reddy, Impact of pharmaceutical industry treated effluents on the water quality of river Uppanar, South east coast of India: A case study, *Appl. Water Sci.* 3 (2013) 501–514. <https://doi.org/10.1007/s13201-013-0098-x>.
- [134] B.C. Manzano, M.M. Roberto, M.M. Hoshina, A.A. Meneg??rio, M.A. Marin-Morales, Evaluation of the genotoxicity of waters impacted by domestic and industrial effluents of a highly industrialized region of S??o Paulo State, Brazil, by the comet assay in HTC cells, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (2014) 1399–1407.

- <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3476-5>.
- [135] W.J. Sim, J.W. Lee, E.S. Lee, S.K. Shin, S.R. Hwang, J.E. Oh, Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures, *Chemosphere*. 82 (2011) 179–186. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.026>.
- [136] A.Y.C. Lin, Y.T. Tsai, Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan’s surface waters: Impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities, *Sci. Total Environ.* 407 (2009) 3793–3802. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.03.009>.
- [137] S. Anliker, M. Loos, R. Comte, M. Ruff, K. Fenner, H. Singer, Assessing Emissions from Pharmaceutical Manufacturing Based on Temporal High-Resolution Mass Spectrometry Data, *Environ. Sci. Technol.* 54 (2020) 4110–4120. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07085>.
- [138] S. Anliker, M. Patrick, K. Fenner, H. Singer, Quantification of Active Ingredient Losses from Formulating Pharmaceutical Industries and Contribution to Wastewater Treatment Plant Emissions, *Environ. Sci. Technol.* 54 (2020) 15046–15056. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c05178>.
- [139] B. Du, J.M. Lofton, K.T. Peter, A.D. Gipe, C.A. James, J.K. McIntyre, N.L. Scholz, J.E. Baker, E.P. Kolodziej, Development of suspect and non-target screening methods for detection of organic contaminants in highway runoff and fish tissue with high-resolution time-of-flight mass spectrometry, *Environ. Sci. Process. Impacts*. (2017). <https://doi.org/10.1039/c7em00243b>.
- [140] M. Wang, J.J. Carver, V. V Phelan, L.M. Sanchez, N. Garg, Y. Peng, D.D. Nguyen, J. Watrous, C.A. Kapon, T. Luzzatto-Knaan, C. Porto, A. Bouslimani, A. V Melnik, M.J. Meehan, W.-T. Liu, M. Crüsemann, P.D. Boudreau, E. Esquenazi, M. Sandoval-Calderón, R.D. Kersten, L.A. Pace, R.A. Quinn, K.R. Duncan, C.-C. Hsu, D.J. Floros, R.G. Gavilan, K. Kleigrew, T. Northen, R.J. Dutton, D. Parrot, E.E. Carlson, B. Aigle, C.F. Michelsen, L. Jelsbak, C. Sohlenkamp, P. Pevzner, A. Edlund, J. McLean, J. Piel, B.T. Murphy, L. Gerwick, C.-C. Liaw, Y.-L. Yang, H.-U. Humpf, M. Maansson, R.A. Keyzers, A.C. Sims, A.R. Johnson, A.M. Sidebottom, B.E. Sedio, A. Klitgaard, C.B. Larson, C.A.B. P, D. Torres-Mendoza, D.J. Gonzalez, D.B. Silva, L.M. Marques, D.P. Demarque, E. Pociute, E.C. O’Neill, E. Briand, E.J.N. Helfrich, E.A. Granatosky, E. Glukhov, F. Ryffel, H. Houson, H. Mohimani, J.J. Kharbush, Y. Zeng, J.A. Vorholt, K.L. Kurita, P.

- Charusanti, K.L. McPhail, K.F. Nielsen, L. Vuong, M. Elfeki, M.F. Traxler, N. Engene, N. Koyama, O.B. Vining, R. Baric, R.R. Silva, S.J. Mascuch, S. Tomasi, S. Jenkins, V. Macherla, T. Hoffman, V. Agarwal, P.G. Williams, J. Dai, R. Neupane, J. Gurr, A.M.C. Rodríguez, A. Lamsa, C. Zhang, K. Dorrestein, B.M. Duggan, J. Almaliti, P.-M. Allard, P. Phapale, L.-F. Nothias, T. Alexandrov, M. Litaudon, J.-L. Wolfender, J.E. Kyle, T.O. Metz, T. Peryea, D.-T. Nguyen, D. VanLeer, P. Shinn, A. Jadhav, R. Müller, K.M. Waters, W. Shi, X. Liu, L. Zhang, R. Knight, P.R. Jensen, B.O. Palsson, K. Pogliano, R.G. Lington, M. Gutiérrez, N.P. Lopes, W.H. Gerwick, B.S. Moore, P.C. Dorrestein, N. Bandeira, Global Natural Products Social Molecular Networking, (n.d.). <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/static/gnps-splash.jsp?redirect=auth> (accessed January 12, 2019).
- [141] S. Terzic, M. Ahel, Nontarget analysis of polar contaminants in freshwater sediments influenced by pharmaceutical industry using ultra-high-pressure liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, *Environ. Pollut.* 159 (2011) 557–566. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.009>.
- [142] D. Barceló, · P Fabian, · H Fiedler, · H Frank, · J P Giesy, R.A. Hites, M.A.K. Khalil, · D Mackay, · A H Neilson, · J Paasivirta, · H Parlar, S.H. Safe, · P J Wangersky, *The Handbook of Environmental Chemistry*, n.d.
- [143] M.S. Hosseini Hashemi, F. Eslami, R. Karimzadeh, Organic contaminants removal from industrial wastewater by CTAB treated synthetic zeolite Y, *J. Environ. Manage.* 233 (2019) 785–792. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.003>.
- [144] N. Jiang, R. Shang, S.G.J. Heijman, L.C. Rietveld, High-silica zeolites for adsorption of organic micro-pollutants in water treatment: A review, *Water Res.* 144 (2018) 145–161. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.07.017>.
- [145] J.M. Monteagudo, A. Durán, R. Culebradas, I. San Martín, A. Carnicer, Optimization of pharmaceutical wastewater treatment by solar/ferrioxalate photocatalysis, *J. Environ. Manage.* 128 (2013) 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.05.013>.
- [146] X. Xu, Y. Cheng, T. Zhang, F. Ji, X. Xu, Treatment of pharmaceutical wastewater using interior micro-electrolysis/Fenton oxidation-coagulation and biological degradation, *Chemosphere.* 152 (2016) 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.100>.
- [147] M.B. Campanha, A.T. Awan, D.N.R. de Sousa, G.M. Grosseli, A.A. Mozeto, P.S.

- Fadini, A 3-year study on occurrence of emerging contaminants in an urban stream of São Paulo State of Southeast Brazil, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (2014) 7936–7947. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3929-x>.
- [148] C.C. Montagner, W.F. Jardim, Spatial and seasonal variations of pharmaceuticals and endocrine disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil), *J. Braz. Chem. Soc.* (2011). <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011000800008>.
- [149] A.Y.C. Lin, Y.T. Tsai, Occurrence of pharmaceuticals in Taiwan’s surface waters: Impact of waste streams from hospitals and pharmaceutical production facilities, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.03.009>.
- [150] ANVISA, Anuário Estatístico do Mercado Farmacêutico 2020, (n.d.). <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/cmed/anuario-estatistico-2019-versao-para-impressao.pdf/view> (accessed August 8, 2021).
- [151] F.M. Corrêa, Impactos antrópicos sobre a qualidade da água no rio das Antas na área urbana da cidade de Anápolis-Goiás: uma abordagem para gestão ambiental., 2005.
- [152] J.A.V. Resende, Avaliação do Projeto de Tratamento de Efluente Industriais do Distrito Agroindustrial de Anápolis-Goiás, INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ, 2016.
- [153] HIDROWEB - Sistema de Informações Hidrológicas, (n.d.). http://www.snirh.gov.br/hidroweb/publico/mapa_hidroweb.jsf (accessed January 12, 2019).
- [154] D. Kasper, B.R. Forsberg, R. De Almeida, W.R. Bastos, O. Malm, Metodologias de coleta, preservação e armazenamento de amostras de água para análise de mercúrio - Uma revisão, *Quim. Nova.* (2015). <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150020>.
- [155] K.C. Machado, M.T. Grassi, C. Vidal, I.C. Pescara, W.F. Jardim, A.N. Fernandes, F.F. Sodr e, F. V. Almeida, J.S. Santana, M.C. Canela, C.R.O. Nunes, K.M. Bichinho, F.J.R. Severo, A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil, *Sci. Total Environ.* (2016). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.210>.
- [156] F.F. Sodr e, M.A.F. Locatelli, W.F. Jardim, Sistema limpo em linha para extração em fase sólida de contaminantes emergentes em águas naturais, 2010. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422010000100037>.

- [157] F.F. Sodré, T.R. Sampaio, Development and application of a SPE-LC-QTOF method for the quantification of micropollutants of emerging concern in drinking waters from the Brazilian capital, *Emerg. Contam.* 6 (2020) 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2020.01.001>.
- [158] F.F. Sodr , P.M. Dutra, V.P. Dos Santos, Pharmaceuticals and personal care products as emerging micropollutants in Brazilian surface waters: A preliminary snapshot on environmental contamination and risks, in: *Ecl t. Quim., Atlantis Livros Ltda.*, 2018: pp. 22–34. <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v43.1SI.2018.p22-34>.
- [159] H. Yang, G. Lu, Z. Yan, J. Liu, H. Dong, R. Jiang, R. Zhou, P. Zhang, Y. Sun, M. Nkoom, Occurrence, spatial-temporal distribution and ecological risks of pharmaceuticals and personal care products response to water diversion across the rivers in Nanjing, China, *Environ. Pollut.* 255 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113132>.
- [160] J.A. Rivera-Jaimes, C. Postigo, R.M. Melgoza-Alem n, J. Ace a, D. Barceló, M. López de Alda, Study of pharmaceuticals in surface and wastewater from Cuernavaca, Morelos, Mexico: Occurrence and environmental risk assessment, *Sci. Total Environ.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.134>.
- [161] K. Komori, Y. Suzuki, M. Minamiyama, A. Harada, Occurrence of selected pharmaceuticals in river water in Japan and assessment of their environmental risk, *Environ. Monit. Assess.* 185 (2013) 4529–4536. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2886-4>.
- [162] F.F. Sodr , P.M. Dutra, V.P. Dos Santos, Pharmaceuticals and personal care products as emerging micropollutants in Brazilian surface waters: a preliminary snapshot on environmental contamination and risks, *Ecl tica Química J.* (2018). <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v43.1SI.2018.p22-34>.
- [163] M.D. Hernando, M. Mezcu , A.R. Fernández-Alba, D. Barceló, Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments, *Talanta.* 69 (2006) 334–342. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.037>.
- [164] Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, *Stand. Methods.* (1999) 541. <https://doi.org/10.2105/AJPH.51.6.940-a>.
- [165] H. Boyacioglu, Utilization of the water quality index method as a classification tool, *Environ. Monit. Assess.* 167 (2010) 115–124.

- <https://doi.org/10.1007/s10661-009-1035-1>.
- [166] P. Uutela, M. Monto, I. Iso-Mustajärvi, M. Madetoja, M. Yliperttula, R.A. Ketola, Identification of metabolites of fosinopril produced by human and rat liver microsomes with liquid chromatography-mass spectrometry, *Eur. J. Pharm. Sci.* 53 (2014) 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.12.009>.
- [167] Vigitel: o que é, como funciona, quando utilizar e resultados, (n.d.). <https://antigo.saude.gov.br/saude-de-a-z/vigitel> (accessed June 30, 2021).
- [168] MassBank of North America, (n.d.). <https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/CCMSLIB00000848082> (accessed July 1, 2021).
- [169] S. Foureaux, J.S. Rodrigues, V.R. Moreira, E.O. Reis, A. Fl, Y.A.R. Lebron, L.V.S. Santos, M.C.S. Amaral, Occurrence , removal and seasonal variation of pharmaceuticals in Brazilian drinking water treatment plants, 250 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.102>.
- [170] A. Novo, S. André, P. Viana, O.C. Nunes, C.M. Manaia, Antibiotic resistance, Antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater, *Water Res.* (2013). <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.010>.
- [171] N. Collado, S. Rodriguez-Mozaz, M. Gros, A. Rubirola, D. Barceló, J. Comas, I. Rodriguez-Roda, G. Buttiglieri, Pharmaceuticals occurrence in a WWTP with significant industrial contribution and its input into the river system, *Environ. Pollut.* 185 (2014) 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.040>.
- [172] CODEGO - Distritos Industriais, (n.d.). http://www.codego.com.br/projetos/distritos_industriais/ok.php?titulo=Anápolis (accessed May 11, 2021).
- [173] A. Lolić, P. Paíga, L.H.M.L.M. Santos, S. Ramos, M. Correia, C. Delerue-Matos, Assessment of non-steroidal anti-inflammatory and analgesic pharmaceuticals in seawaters of North of Portugal: Occurrence and environmental risk, *Sci. Total Environ.* (2015). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.097>.
- [174] K. Komori, Y. Suzuki, M. Minamiyama, A. Harada, Occurrence of selected pharmaceuticals in river water in Japan and assessment of their environmental risk, *Environ. Monit. Assess.* 185 (2013) 4529–4536. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2886-4>.
- [175] M.O. Uslu, S. Jasim, A. Arvai, J. Bewtra, N. Biswas, A Survey of Occurrence and Risk Assessment of Pharmaceutical Substances in the Great Lakes Basin, *Ozone*

- Sci. Eng. 35 (2013) 249–262. <https://doi.org/10.1080/01919512.2013.793595>.
- [176] M. Papageorgiou, C. Kosma, D. Lambropoulou, Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece, *Sci. Total Environ.* 543 (2016) 547–569. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.047>.
- [177] M. Isidori, A. Parrella, P. Pistillo, F. Temussi, Effects of ranitidine and its photoderivatives in the aquatic environment, *Environ. Int.* 35 (2009) 821–825. <https://doi.org/10.1016/J.ENVINT.2008.12.002>.
- [178] D.J. Caldwell, F. Mastrocco, P.D. Anderson, R. L??nge, J.P. Sumpter, Predicted-no-effect concentrations for the steroid estrogens estrone, 17??-estradiol, estriol, and 17??-ethinylestradiol, *Environ. Toxicol. Chem.* 31 (2012) 1396–1406. <https://doi.org/10.1002/etc.1825>.
- [179] CETESB, QUALIDADE DAS ÁGUAS INTERIORES NO ESTADO DE SÃO PAULO - SIGNIFICADO AMBIENTAL E SANITÁRIO DAS VARIÁVEIS DE QUALIDADE DAS ÁGUAS E DOS SEDIMENTOS E METODOLOGIAS ANALÍTICAS E DE AMOSTRAGEM, 2009.
- [180] G.S. de Almeida, I.B. de Oliveira, Application of the index WQI-CCME with data aggregation per monitoring campaign and per section of the river: case study—Joanes River, Brazil, *Environ. Monit. Assess.* 190 (2018). <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6542-5>.
- [181] A.R.M. de Oliveira, A.C. Borges, A.T. Matos, M. Nascimento, Viability of the use of minimum water quality indices: A comparison of methods, *Eng. Agric.* 38 (2018) 616–623. <https://doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v38n4p616-623/2018>.

CAPÍTULO 3

Variabilidade da concentração de micropoluentes de interesse emergentes nas águas do Lago Paranoá.

1 INTRODUÇÃO

O Lago Paranoá (LP) é um reservatório artificial formado pelo represamento do Rio Paranoá durante a construção de Brasília, no Distrito Federal (DF). Possui área de aproximadamente 37,5 km², volume de 498×10⁶ m³ e profundidade média de 38 m. Tem como principais tributários os ribeirões Torno e Gama além dos córregos Bananal e Riacho Fundo. O LP foi represado com o intuito de fornecer energia e aclimação da região, uma vez que Brasília está localizada no topo do planalto central, em região de clima tropical sazonal, caracterizado por longos períodos secos e curtos períodos de chuva.

Apesar de ser o corpo receptor de efluentes de duas importantes estações de tratamento de esgoto (ETE), usos para recreação e pesca são igualmente preconizados. Mais recentemente, uma mudança de paradigma tornou-se necessária devido ao acelerado crescimento populacional: o planejamento original do DF compreendia 500.000 habitantes, entretanto, Brasília e suas regiões administrativas acumulavam mais de 2,5 milhões de pessoas em 2010 [182], com estimativa atual em cerca de 3 milhões. Com a elevada demanda por água para consumo humano, dentre as diversas alternativas propostas, o LP passou a ser também utilizado para captação de água para consumo humano no final de 2017.

Este cenário, no qual as águas do Lago Paranoá possuem diversos usos pretendidos, ilustra a importância da adequada gestão de recursos hídricos, com ênfase ao atendimento de diferentes critérios de qualidade da água relacionados aos usos múltiplos do LP. Dentre estes, a preservação da vida aquática ainda é um dos usos mais nobres e, igualmente, o mais exigente em termos de gestão de águas. Neste escopo, além de parâmetros de qualidade contemplados em legislações pertinentes, há uma demanda crescente pelo monitoramento de potenciais poluentes associados ao estilo de vida das sociedades urbanas. Estes micropoluentes de preocupação emergente (MPE) incluem fármacos, hormônios, produtos de higiene pessoal (PHP), subprodutos de desinfecção, pesticidas e outros produtos industriais. Mesmo que sejam encontrados no ambiente sob concentrações traço [183,184], os MPE têm despertado o interesse de pesquisadores e agências regulatórias em função de potenciais efeitos adversos à vida aquática [158], dentre eles, a mutagenicidade, a interferência no sistema endócrino, e a associação com o desenvolvimento de resistência bacteriana. Dessa forma, vários MPE devem ser

investigados no ambiente, incluindo sua ocorrência, variabilidade, comportamento e riscos associados [185].

Estudos anteriores realizados no LP identificaram diversos MPE [157,186–189]. Nestes trabalhos, ficou demonstrada a contribuição das duas ETEs conhecidas como ETE-Sul e ETE-Norte, como as fontes majoritárias de aporte, além de possíveis contribuições por fontes difusas, como drenagem pluvial e aporte descentralizado de esgoto bruto. No que diz respeito ao saneamento ambiental, Brasília apresenta uma realidade diferente de várias outras regiões brasileiras. Segundo dados da Secretaria Nacional de Saneamento [87], o Distrito Federal apresenta índice de coleta de esgoto superior a 70%, sendo muito acima da média da maioria dos municípios brasileiros. Mesmo assim, diversos MPE são apenas parcialmente removidos nas etapas de tratamento de esgoto operantes nas ETEs Sul e Norte, levando a um aporte constante de potenciais MPE no ambiente. Majewsky *et al* [187] atribuíram 12 % do volume hidráulico do LP ao lançamento de águas residuárias, enquanto Abbt-Braun *et al* [190] estimaram que cerca de 63% advém de tributários, sendo que alguns destes, como os tributários Gama e Riacho Fundo, apresentam qualidade da água fortemente influenciada pelo crescimento desordenado, aporte de esgoto bruto e de resíduos de cimenteiras. Demais contribuições incluem a precipitação, a recarga de lençóis freáticos e a drenagem pluvial. Esta última pode estar associada ao aporte de MPE durante a estação chuvosa.

Diante do cenário de crescimento populacional, é razoável considerar que o aporte de MPE também deve aumentar, uma vez que está associado a extensão do uso de inúmeros bens de consumo [191]. Assim, a exposição constante da biota aquática frente estas substâncias pode resultar em riscos ambientais crônicos ainda pouco avaliados [186]. Nesse escopo, critérios de qualidade mais restritivos certamente contribuiriam para usos mais sensíveis das águas do LP. Acredita-se que esta condição será satisfeita quando valores máximos permitidos para inúmeros contaminantes forem baseados na proteção da vida aquática, especialmente em um cenário que contempla a inclusão de MPE. Dessa forma, o monitoramento e a identificação de tendências de acumulação, diluição, degradação e/ou estabilidade de MPE no ambiente tornam-se importantes para acessar a qualidade da água [192] e modo mais amplo e condizente com o cenário atual de contaminação de águas, notadamente em meios urbanos, locais onde há grande uso e exposição a diferentes MPE.

Em revisão, Petrie *et al* [193] destacaram algumas dificuldades encontradas para realizar o monitoramento de MPE, como a amostragem não padronizada, a falta de

conhecimento quanto ao padrão de uso e pouco conhecimento quanto ao comportamento dos MPE nos ambientes aquáticos. Diversos fatores podem estar relacionados com as flutuações da concentração de MPE no ambiente, sendo alguns destes relacionados ao consumo ou à taxa de utilização, à porcentagem metabolizada/excretada e ao padrão temporal do uso. Outros são relacionados às propriedades físico-química da substância, que influenciam a remoção nas ETEs, a resistência a biodegradação, a fotólise, a tendência a adsorção no sedimento, a solubilidade na fase aquosa e a distribuição na coluna d'água [188,191,194].

Com relação à amostragem, há estudos baseados em amostragens discretas, do tipo *grab sample*, enquanto outros lançam mão de amostragem composta, dependentes ou não da vazão. Outros são realizados com amostradores passivos como os baseados em gradientes difusivos em filmes finos (DGT, do inglês *diffusive gradients in thin films*) e amostradores integrativos para compostos orgânicos polares (POCIS, do inglês *polar organic chemical integrative samplers*) que realizam amostragens em diferentes escalas temporais [195,196]. Diversas abordagens são exploradas, porém, nem sempre a amostragem é considerada representativa para avaliação da variabilidade espaço-temporal associada ao corpo hídrico em estudo. Com respeito a padrão e extensão de uso, apesar da existência de controle de compra para alguns MPE, como para pesticidas, antibióticos, e medicamentos psicotrópicos, informações referentes ao consumo de demais medicamentos são escassas, visto que muitos podem ser adquiridos sem prescrição médica.

Quanto ao comportamento de MPE em ambiente aquáticos, os desafios envolvem o entendimento das taxas de aporte e remoção, bem como a distribuição de MPE em corpos hídricos considerando diferentes escalas temporais e espaciais. Mesmo com elevados índices de tratamento de esgotos, informações referentes a remoção de MPE nas ETEs do DF são escassas e de difícil comparação devido às diferentes características dos afluentes e das condições de tratamento. Mar-da-Costa *et al* [188] investigaram efluentes das duas ETEs que usam o Lago Paranoá como corpo receptor, as ETEs Sul e Norte. Nestes efluentes, as concentrações de cafeína variaram entre 1000-3200 ng/L, com valor máximo de 3190 ng/L. Já Abbt-Braun *et al* [190], reportaram concentrações de até 18000 ng/L de cafeína nas mesmas ETEs. Considerando que a taxa de remoção da cafeína em ETEs baseadas em lodos ativados oscila entre 84 e 94% [197,198], variações nas concentrações de cafeína no efluente podem ser atribuídas a diferentes condições de operação.

Abbt-Braun *et al* [190] também pontuaram que o monitoramento de MPE ocorre em estudos de curta duração, com poucos dados gerados e longos *gaps* temporais entre um estudo e o outro, de forma que a não-continuidade impossibilita a construção de uma base de dados adequada. Como consequência, o suporte para possíveis tomadas de decisão referentes ao gerenciamento de recursos hídricos se tornam inviáveis [187].

Dentre os estudos conduzidos no LP, observações sobre a sazonalidade têm sido amparadas pelo fato de existirem, no Distrito Federal, estações chuvosa e seca bastante distintas e bem-definidas. Neste caso, elevadas concentrações de MPE durante o período chuvoso são atribuídas a fontes difusas associadas às chuvas e ao escoamento superficial resultante, enquanto que na estação seca, maiores concentrações são atribuídas à menor disponibilidade hídrica e, conseqüentemente, à menor diluição [189]. Outra tendência observada envolve a diminuição da concentração de MPE com o aumento da distância das ETEs, indicando variação de concentração por diluição e/ou degradação por fotólise sob maiores temperaturas da água e constante radiação solar [199].

Estudos envolvendo diferentes escalas temporais, como variações mensais, diárias e horárias, não foram realizados neste corpo hídrico para amparar estas observações.

2 OBJETIVOS

Este trabalho buscou acessar variações nas concentrações de MPE em amostras do Lago Paranoá obtidas em escalas temporais distintas como forma de investigar a representatividade amostral para fins de monitoramento. Para tal, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- i. Selecionar MPE associados ao estilo de vida urbano;
- ii. Adaptar método baseado em SPE-LC/MS/MS para quantificar MPE em amostras do Lago Paranoá;
- iii. Monitorar a variação semanal das concentrações dos MPE nos períodos seco e chuvoso do DF;
- iv. Identificar possíveis fontes de variação da concentração dos MPE;
- v. Avaliar o risco ambiental para os MPE monitorados.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Metanol (MeOH, grau HPLC) foi adquirido da Scharlau Chemie SA (Barcelona, Espanha). Água ultrapura do tipo 1 foi produzida em sistema Milli-Q *Reference A+* (Millipore, Milford, EUA). Hidróxido de amônio (grau MS, 25%) e ácido fórmico (grau MS, 50 %) foram adquiridos da Sigma Aldrich (St. Louis, EUA). A procedência dos padrões analíticos, seus usos primários e acrônimos utilizados são mostrados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Analitos investigados, acrônimos, usos primários e procedência dos padrões utilizados neste estudo.

Analito	Acrônimo	Uso primário	Padrão analítico	
			Pureza (%)	Procedência
Ácido clofibríco	CFB	Regulador lipídico	≥99	Sigma-Aldrich
Ácido mefenâmico	MEF	Anti-inflamatório	≥99	Sigma-Aldrich
Amitriptilina	AMT	Antidepressivo	≥98	Sigma-Aldrich
Atenolol	ATN	Anti-hipertensivo	≥98	Sigma-Aldrich
Atrazina	ATZ	Herbicida	≥98	Sigma-Aldrich
Bisfenol A	BPA	Precursor de plásticos	≥99	Sigma-Aldrich
Cafeína	CAF	Estimulante	≥99	Sigma-Aldrich
Carbamazepina	CBZ	Anticonvulsivo	≥98	Sigma-Aldrich
Diazepam	DIA	Ansiolítico	≥98	Sigma-Aldrich
Ibuprofeno	IBU	Anti-inflamatório	≥98	Sigma-Aldrich
N,N dietil-m-toluamida	DEET	Repelente de insetos	≥98	Sigma-Aldrich
Nortriptilina	NTP	Antidepressivo	≥98	Sigma-Aldrich
Sulfametoxazol	SMX	Antimicrobiano	≥98	Sigma-Aldrich
Triclosan	TCS	Biocida	≥99	Sigma-Aldrich
Venlafaxina	VLX	Antidepressivo	≥99	Sigma-Aldrich

Padrões deuterados de diazepam (DIA-d5, ≥99%), ibuprofeno (IBU-d3, ≥98%) e bisfenol A (BPA-d16, ≥98%) foram obtidos da Sigma-Aldrich, enquanto cafeína-d9 (CAF-d9, ≥99%) foi obtida da CDN Isotopes (Quebec, Canadá). As substâncias deuteradas foram usadas como padrões internos. Cartuchos de extração em fase sólida (SPE) Oasis HLB com 500 mg do sorvente foram adquiridos da Waters (Milford, EUA).

3.2 Preparo de soluções

As soluções estoques individuais dos analitos foram preparadas na concentração de 200 mg/L pela dissolução da massa apropriada da substância sólida em MeOH e soluções de trabalho foram preparadas diariamente, em MeOH e água purificada a partir de diluições sucessivas das soluções estoque. Soluções de trabalho dos padrões internos foram preparadas por diluição em ACN. Todas foram mantidas em refrigerador a -20 °C.

3.3 Amostragem e preparo de amostra

Como ponto amostral, foi escolhido o Pier Norte do Lago Paranoá, localizado à montante da ETE-Norte. Amostras de água superficial (1 L) foram coletadas diariamente, às 11 h (am), entre os dias 11 e 24 de fevereiro (período chuvoso) e 15 e 28 de agosto (período seco) do ano 2019. A amostragem deu-se conforme Kasper *et al* [154]. Brevemente, uma garrafa de vidro âmbar de 1 L foi acomodada em um amostrador de cabo longo (3,7 m) e retrátil do tipo Swing (Nasco, Fort Atkinson, EUA). A garrafa foi ambientada com uma porção de água superficial, no ponto amostral, descartada à jusante, e, em seguida, totalmente imersa no corpo aquático. A garrafa foi retirada, selada com uma folha de alumínio, tampada e ensacada individualmente em saco de polipropileno de baixa densidade. O saco plástico foi lacrado com abraçadeira de nylon e a garrafa foi então armazenada em *cooler*. Todas as garrafas foram previamente limpas com sabão neutro Extran a 5% (MA 02, Merck, Taquara, Brasil), e calcinadas em forno mufla (SP-1200, SP Labor, Presidente Prudente, Brasil) à 400 °C durante 4 horas. No momento da coleta, foi utilizado o medidor multiparâmetro (HI9829, Hanna, Barueri, Brasil) para medir os parâmetros físico-químicos condutividade elétrica (EC), oxigênio dissolvido (OD), pH e temperatura (T) *in situ*. A Figura 3.1 mostra a localização do ponto amostral.

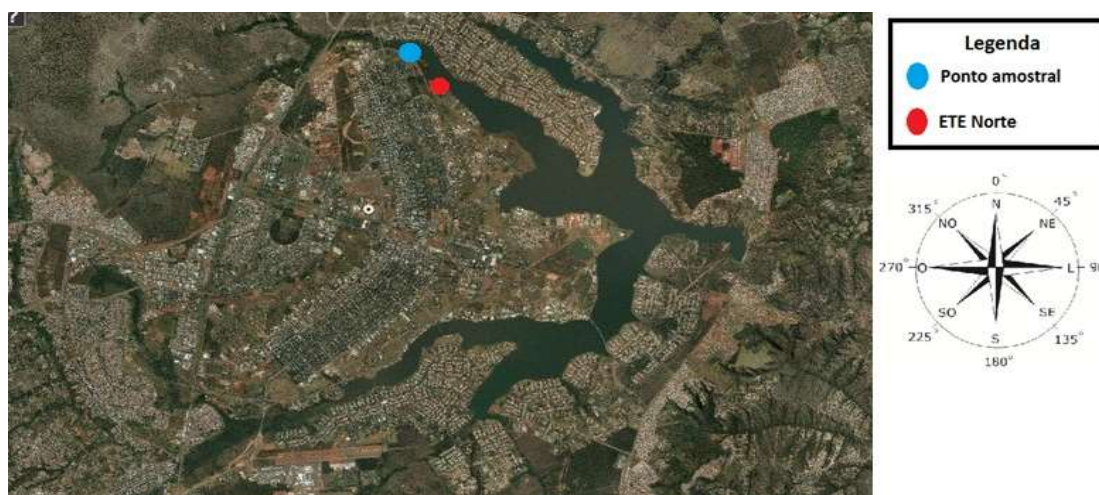


Figura 3.1: Localização do ponto amostral no Pier norte do Lago Paranoá e da ETE Brasília Norte. Retirada do Relatório Final de PIBIC do aluno Fábio Nascimento, colaborador em nível de graduação.

As amostras foram mantidas refrigeradas em caixa térmica, durante o transporte para o laboratório. Em seguida, foram pré-filtradas em papel filtro semiquantitativo (47 mm, Unifil, Guarulhos, Brasil), filtro de fibra de vidro (GF-C, Sartorius Stedim, Gottingen, Alemanha) e em membrana de ésteres de celulose com porosidade de 0,45 µm

(Millipore, Massachusetts, EUA), mediante auxílio de um sistema de filtração de vidro com pressão negativa exercida por uma bomba mecânica. A extração dos analitos deu-se de acordo com o método previamente desenvolvido e validado por Sodré e Sampaio [157]. Brevemente, o pH das amostras filtradas foi ajustado (pH 6) com auxílio de solução de HCl em um pHmetro previamente calibrado (HI3221, Hanna, Barueri, Brasil). Em seguida, utilizando um sistema de extração *labmade* [156]. As amostras foram individualmente passadas (1 mL/min) por cartuchos do tipo HLB com 500 mg de fase sorvente (Oasis, Waters) previamente condicionados com 6 mL de MeOH e 6 mL de água purificada (pH 6) [200]. Os cartuchos foram então centrifugados por 5 min à 4000 rpm (KC-5, Kindly, Jacarei, Brasil) e os analitos eluídos com duas alíquotas de 3 mL de MeOH em *manifold* de 12 canais (Visipred DL, Supelco, Vila Gea, Brasil). O volume do eluato foi reduzido para 0,5 mL em evaporador paralelo à vácuo (Syncore® Analyst, Buchi, Valinhos, Brasil).

O eluato foi fracionado em duas alíquotas de 250 µL. A primeira foi avolumada para 500 µL na proporção 50:50 de MeOH:H₂O. A segunda alíquota foi avolumada para 500 µL na proporção 25:75 MeOH:H₂O, segundo as condições iniciais do gradiente cromatográfico. Amostras de água de torneira (1 L) foram preparadas de acordo com este mesmo procedimento, e seus extratos foram utilizados para construção de curvas analíticas por superposição de matriz.

3.4 Quantificação de MPE por LC-MS/MS

Análises quantitativas foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) modelo (G1311A, Agilent, Santa Clara, EUA) acoplada a espectrometria de massas (MS, do inglês, *mass spectrometry*) *in tandem* (LC-MS/MS), em equipamento híbrido com analisadores de quadrupolo e captura de íons (QTRAP, 3200+, Sciex, Toronto, Canada). O software Analyst® (versão 1.4.2) foi utilizado para aquisição e tratamento dos dados. A calibração dos quadrupolos Q1 e Q3 foi realizada usando soluções recomendadas pelo fabricante, PPG *Positive* e PPG *Negative Calibration Standard* (Part N. 4412399, Sciex, Forster City, EUA).

Transições precursor-produto para cada analito foram selecionadas com base em dados disponíveis na literatura e razões massa carga (*m/z*) dos íons foram aferidas, segundo a resolução do equipamento. Experimentos de fragmentação por infusão direta

foram realizados, com soluções estoque individuais dos analitos (500 µg/L) utilizando seringa cromatográfica do tipo *gastight* (1702N, Hamilton Marca, Reno, EUA) sob vazão de 20 µL/min. As soluções foram preparadas em MeOH com 0,1% de ácido fórmico para favorecer a ionização de analitos no modo positivo e com 0,1% de hidróxido de amônio para espécies analisadas no modo negativo. Os parâmetros “analito-dependentes” potencial de orifício (DP, do inglês *Declustering Potential*), potencial de entrada (EP, do inglês *Entrance Potential*), a energia de colisão (CE, do inglês *Collision Energy*) e o potencial de saída, (CXP, do inglês *Collision Exit Potential*), foram otimizados de maneira automática pela ferramenta *Quantitative Optimization* disponível no software *Analyst* 1.4.2.

A separação cromatográfica foi realizada na coluna de fase reversa Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6×150 mm, 5.0 µm) por meio de um gradiente construído com água e MeOH como fases móveis. Para determinações conduzidas em modo de ionização positivo, ambas foram enriquecidas com 0,1% de ácido fórmico. A separação cromatográfica foi realizada à temperatura ambiente, sob vazão inicial de 600 µL/min, mantendo-se a concentração relativa de MeOH em 50% por 1,0 min. Em seguida foi aumentada para 100% em 5,0 min juntamente com a vazão, até 700 µL/min. Essa condição foi mantida por 1,0 min e reestabelecida a condição inicial em 4,0 min para limpeza e condicionamento da coluna cromatográfica.

Para modo de ionização negativo, as fases móveis foram enriquecidas com 0,03% de hidróxido de amônio. A separação cromatográfica foi realizada à temperatura ambiente, sob vazão 650 µL/min, mantendo-se a concentração relativa de MeOH em 15% por 1,0 min, seguido do aumento para 60% em 0,5 min e mantida por 0,5 min. Em seguida foi aumentada para 100% em 0,5 min e mantida por 4,5 min. A condição inicial foi restabelecida em 0,1 min e mantida por 1 min para condicionamento e limpeza. Em ambos os casos, o volume injetado de soluções e extratos foi de 20,0 µL.

A interface entre o cromatógrafo líquido e o espectrômetro de massas é estabelecido por uma fonte de ionização por electrospray (Turbo V, Sciex). Para aquisição em modo negativo, a fonte de ionização por *electrospray* operou à -4500 V, sob temperatura de 650 °C, como gás de dessolvatação (*curtain gas*) à 10 psi, gás de nebulização (GS1) à 30 psi e gás de secagem (GS2) à 30 psi, e para aquisições em modo positivo, a fonte operou à 5500 V, sob a temperatura de 500°C, com *curtain gas* à 30 psi, GS1 à 30 psi e GS2 à 25 psi. As substâncias e os padrões internos foram analisadas no

modo MRM e a Tabela 3.2 traz as transições MRM selecionadas para cada substância, bem como os parâmetros de aquisição empregados.

Tabela 3.2: Parâmetros de aquisição usados para as determinações das substâncias e dos padrões nas amostras de água do Lago Paranoá

Substância	Modo de Ionização	RT (min)	DP (eV)	EP (eV)	CEP (eV)	Transição precursor-produto (m/z)	CE (eV)	Abundância Relativa (%)
ATN	+	2,73	41	6	18	267,1→144,9	33	100%
			41	6	18	267,1→190,0	25	70
CAF	+	3,91	36	4	42	195,3→138,1	25	100%
			31	6	18	195,3→110,1	29	29%
SMX	+	3,98	31	6	18	254,0→156,0	21	100%
			36	4	42	254,0→108,0	31	97%
VLX	+	5,35	31	4,5	18	278,2→260,3	17	100%
			41	10,5	20	278,2→121,1	37	98%
AMT	+	6,6	41	9,5	24	278,1→117,1	29	100%
			41	6	14	278,1→91,1	29	87%
NTP	+	6,73	41	6,5	20	264,2→233,2	19	100%
			41	10,5	14	264,2→91,1	23	71%
CBZ	+	6,9	41	10,5	20	237,1→194,0	25	100%
			31	7	18	237,1→192,0	29	25%
DEET	+	7,38	41	6	14	192,2→119,1	23	100%
			56	4	18	192,2→91,2	23	12%
ATZ	+	7,45	41	10,5	14	216,1→174,2	23	100%
			41	9,5	24	216,1→104,1	35	42%
DIA	+	7,96	56	4	18	285,1→193,2	39	100%
			31	4,5	18	285,1→154,1	35	100%
MEF	+	9,26	31	7	18	242,1→224,2	21	100%
			41	6,5	20	242,1→208,6	45	1%
CFB	-	4,65	-25	-5	-14	212,8→126,9	-20	100%
			85	2	19	212,8→85,0	-14	25%
IBU	-	5,05	-35	-3	-14	204,9→161,0	-10	100%
			60	2	18	204,9→158,3	-10	11%
BPA	-	6,07	-60	-2	-18	227,0→212,2	-26	100%
			35	3	14	227,0→133,2	-32	89%
TCS	-	6,84	-85	-2	-20	286,8→35,1	-30	100%
			25	5	14	288,8→37,2	-8	19%
CAF-d9	+	3,91	66	10	14	204,2→144,2	27	
DIA-d5	+	7,96	66	6	18	290,3→198,2	43	
IBU-d3	-	5,05	-25	-8	-16	208,0→163,9	-12	
BPA-d16	-	6,07	-60	-7,5	-18	241,1→223,2	-24	

DP: potencial de orifício, EP: potencial de entrada, CE: energia de colisão, CXP: potencial de saída, RT: tempo de retenção cromatográfico Atenolol (ATN); Cafeína (CAF); Sulfametoxazol (SMX); Venlafaxina (VLX); Amitriptilina (AMT); Nortriptilina (NTP); Carbamazepina (CBZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); Atrazina (ATZ); Diazepam (DIA); Ácido mefenâmico (MEF); Ácido clofibrico (CFB); Ibuprofeno (IBU); Bisfenol A (BPA); Triclosan (TCS).

A quantificação dos analitos deu-se pela construção de curvas analíticas por superposição de matriz com padronização interna. Neste caso, os análogos deuterados foram adicionados na amostra após a SPE, como padrões internos, para correção de flutuações de sinal analítico durante as injeções cromatográficas. O sinal analítico de cada substância foi normalizado pelo sinal de um dos padrões internos (DIA-d5, CAF-d9,

BPA-d16 ou IBU-d3) com concentração fixa de 50 µg/L, resultando em um valor referente à razão entre as áreas cromatográficas de ambas as substâncias. A escolha do padrão interno utilizado para correção de sinal deu-se por proximidade de RT. Como matriz para a construção das curvas analíticas, foi utilizado 50 µL de eluato de amostra de água de torneira.

O cálculo da incerteza associada às concentrações dos MPE nas amostras baseou-se na combinação das incertezas das triplicatas da injeção cromatográfica (s_I) e da regressão da curva analítica (s_C). O desvio padrão da injeção foi obtido conforme a Equação 13, onde x_i o valor individual de cada réplica \bar{x} é a média das concentrações do analito na amostra, e n é o número de injeções.

$$s_I = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (13)$$

A incerteza da concentração dos MPE nas amostras devido à curva analítica foi calculada de acordo com a Equação 14.

$$s_C = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(\bar{y}_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^m (x_i - \bar{c})^2}} / FC \times 1000 \quad (14)$$

onde b é o coeficiente angular da regressão por mínimos quadrados, m é o número de soluções-padrão utilizadas na construção da curva, \bar{y}_0 é a média das medidas instrumentais para as amostras, \bar{y} é a média das medidas instrumentais para os padrões da curva, x_i é concentração de cada solução-padrão i , \bar{c} a média das concentrações dos padrões analíticos, FC é o fator de concentração associado ao preparo da amostra, enquanto que o fator de 1000 vezes representa a conversão dos resultados obtidos na curva analítica, em µg/L, para ng/L.

Na Equação 14, $s_{y/x}$ é o desvio padrão da curva analítica, calculado pela equação 15, onde y_i é o valor instrumental medido para cada solução-padrão i e \hat{y}_i o valor previsto pela curva analítica para um padrão de concentração x_i .

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (y_i - \hat{y}_i)^2}{m-2}} \quad (15)$$

Finalmente, a incerteza (s) associada à concentração de cada MPE nas amostras foi obtida de acordo com a Equação 16.

$$s = \sqrt{s_f^2 + s_c^2} \quad (16)$$

Valores médios da concentração de cada MPE, obtidos ao longo de 14 dias consecutivos, em cada um dos períodos investigados, foram calculados para fins de comparação e avaliação de possíveis efeitos sazonais relacionados aos resultados obtidos nas estações de seca e chuvosa. Neste caso, a incerteza do valor médio (s_{comb}) também foi calculada por meio da combinação das incertezas associadas aos resultados obtidos em cada dia, como mostra a Equação 17, onde N representa a quantidade de dias.

$$s_{comb} = \sqrt{\frac{s_1^2 + s_2^2 + s_3^2 + \dots + s_N^2}{N}} \quad (17)$$

3.5 Validação do Método

O método foi validado por meio de ensaios de recuperação, efeito de matriz, precisão, linearidade e detectabilidade. Para avaliar a qualidade do modelo linear, as regressões por mínimos quadrados foram testadas para verificar se são significativas e se apresentam falta de ajuste por meio de análise de variância e teste F. A linearidade foi avaliada pelo coeficiente de correlação R^2 obtido por meio de regressão linear.

A detectabilidade foi avaliada por meio dos limites de quantificação e de detecção. Para cada analito, o limite de quantificação instrumental (iLOQ) foi considerado como a menor concentração na curva analítica e o limite de detecção instrumental (iLOD) foi calculado dividindo-se iLOQ por um fator de 3,3. Já o limite de quantificação do método (mLOQ) foi estimado dividindo-se iLOQ pelo fator de concentração (FC) enquanto mLOD foi obtido dividindo-se mLOQ por 3,3. FC foi obtido do preparo de amostra no qual 500,0 mL de amostra são reduzidos à 0,5 mL de extrato. A precisão instrumental foi avaliada por meio dos coeficientes de variação (CV %) para cada triplicata de injeção, calculado segundo a Equação 8, anteriormente descrita.

Para os ensaios de recuperação, foi utilizada uma amostra composta (três alíquotas de 1 L) de água superficial do LP. A amostra foi submetida a filtração, conforme o preparo

de amostras descrito no item 3.3 e foram separadas três alíquotas de 1L. A primeira alíquota foi submetida à SPE e secagem. Em seguida adicionou-se 50 µg de todos os padrões internos. Esta alíquota será injetada como amostra. A segunda alíquota foi fortificada anteriormente à SPE com 25 ng de cada analito e 50 ng de cada padrão interno. Em seguida foi submetida a SPE e secagem. O extrato final foi denominado E_2 . A terceira alíquota foi enriquecida com 50 ng de cada padrão interno e submetida a extração em fase sólida e secagem. Em seguida, foi fortificada com 25 µg de todos os analitos e denominada E_3 . A recuperação (R%) para cada analito foi estimada segundo a Equação 18.

$$R(\%) = \frac{E_2}{E_3} \quad (18)$$

Ensaio para avaliar o efeito de matriz foram conduzidos em paralelo com os de recuperação. Neste caso, uma alíquota de 1,0 L de água Milli Q foi fortificada com 25 ng de todos os analitos e 50 ng de cada padrão interno. Em seguida, foi submetida a extração em fase sólida e secagem. O extrato foi denominado E_1 . O Efeito de matriz (EM %) foi calculado segundo a Equação 19.

$$EM(\%) = \frac{E_3}{E_1} \quad (19)$$

Tanto para a avaliação da R% quanto para EM(%), considerou-se que E_2 e E_3 são composto pela concentração presente na amostra (C_{Am}) acrescido do enriquecimento (C_{Spk}). Dessa forma, o valor de (C_{Am}) foi subtraído dos valores referentes às concentrações estimadas pela curva analítica de E_2 e E_3 .

A estimativa da incerteza para os valores de R% e EM% baseou-se nos erros propagados referentes aos cálculos de divisão dos valores das concentrações estimadas pela curva analítica para os extratos E_1 , E_2 e E_3 , e seus respectivos desvios-padrão, segundo a Equação 20. Esta estimativa foi denominada de SE (do inglês *standard error*)

$$SE = E \sqrt{\left(\frac{SD_A}{A}\right)^2 + \left(\frac{SD_B}{B}\right)^2} \quad (20)$$

onde E representa o valor de R% ou EM%, os índices A e B representam concentrações das substâncias nos extratos E_1 , E_2 ou E_3 e SD_A e SD_B seus respectivos desvios padrão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os analitos estudados foram selecionados com base em estudos anteriormente realizados no Lago Paranoá [190,201,202] e são considerados representantes do estilo de vida da sociedade moderna. A Figura 3.2 exibe cromatogramas de soluções padrão para as substâncias determinadas em modos positivo e negativo.

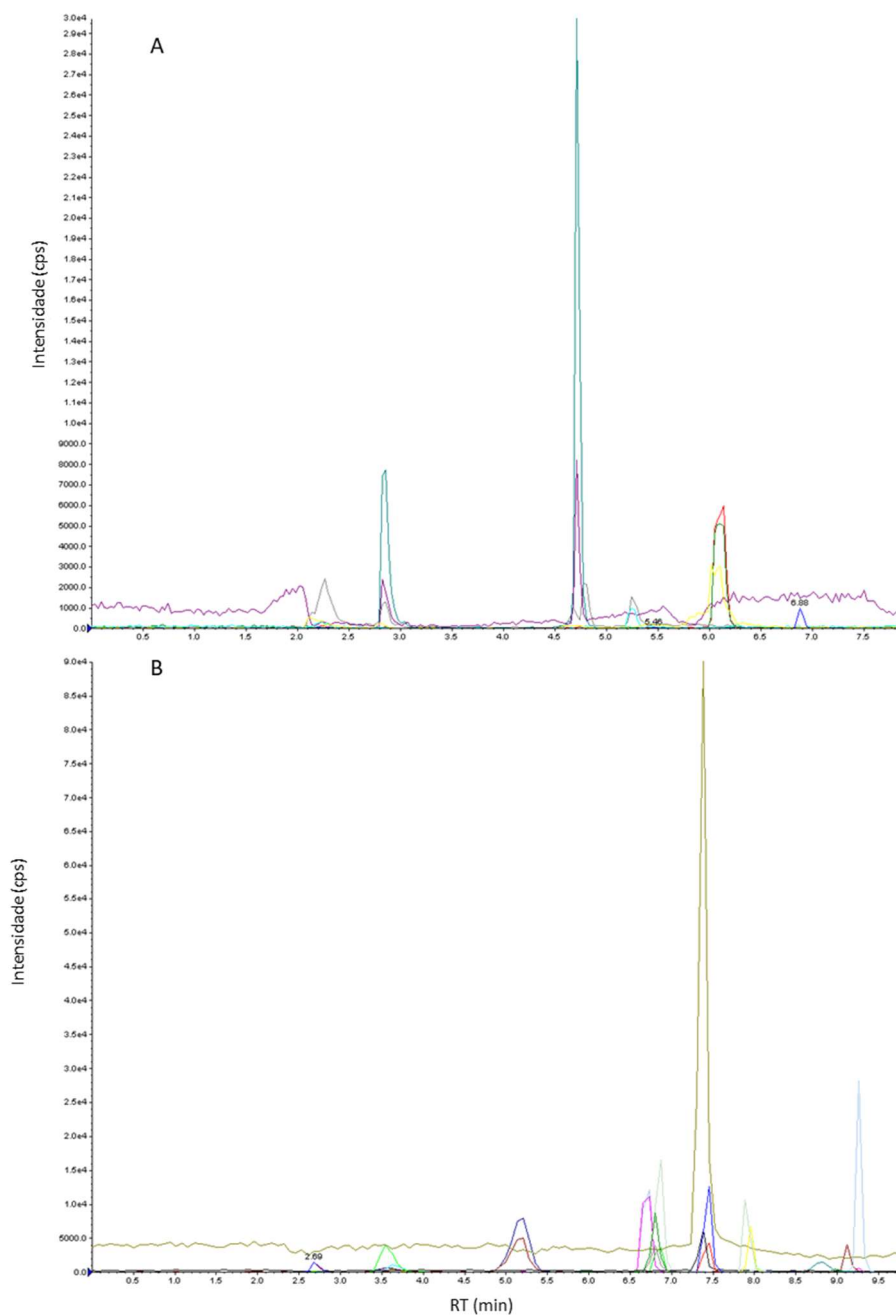


Figura 3.2: Cromatogramas de padrões analíticos na concentração $25 \mu\text{g/L}$ obtidos para as substâncias analisadas em modo negativo (A) e positivo (B).

Nos cromatogramas exibidos nas Figura 3.2 é possível observar coeluições para diversos analitos, como para CAF e SMX, em RT 3,91 e 3,98 respectivamente, além de DEET (RT em 7,38) e ATZ, (RT em 7,45), dentre outros. Como a identificação e quantificação das substâncias ocorre por meio das transições íon precursor -íon produto, e uma vez que são diferentes para cada composto, não ocorrem prejuízos na identificação e quantificação das substancias alvo.

4.1 Desempenho do método Analítico

Utilizando o método em LC-MS/MS desenvolvido, para cada substância foram construídas curvas analíticas por superposição de matriz com padronização interna, mostradas na Figura 3A do Material Suplementar. Cada analito apresentou uma faixa linear distinta e a Tabela 3.3 apresenta a faixa linear para cada analito, o padrão interno utilizado para correção de sinal analítico, as figuras de mérito, R^2 , LOD, LOQ, valores de teste F para avaliar significância estatística da regressão (SER) e falta de ajuste (Faj). A Tabela 3.4 apresenta os valores obtidos de recuperação, efeito de matriz e eficiência do método para cada analito. Curvas analíticas obtidas para os analitos são mostradas na Figura 3A, apresenta no Material Suplementar.

Tabela 3.3: Figuras de mérito e parâmetros de curva analítica para cada substância analisada.

Analito	Padrão interno	R^2	F. Linear ($\mu\text{g/L}$)	LOQ (ng/L)	LOD (ng/L)	SER		Faj	
						F_{critico}	F_{calc}	F_{critico}	F_{calc}
ATN	CAF-d9	0,997	2,5-100	2,5	0,75	4,66	162,2	3,7	3,36
CAF	CAF-d9	0,998	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	1760,2	3,7	0,1
SMX	CAF-d9	0,999	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	768,1	3,7	3,58
VLX	CAF-d9	0,996	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	1121,5	3,7	0,63
AMT	CAF-d9	0,999	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	945,6	3,7	0,67
NTP	CAF-d9	0,997	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	942,3	3,7	1,64
CBZ	CAF-d9	0,995	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	4526,9	3,7	0,93
DEET	CAF-d9	0,997	2,5-100	2,5	0,75	4,66	2307,4	3,7	1,2
ATZ	CAF-d9	0,988	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	2620,4	3,7	1,82
DIA	DIA-d5	0,999	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	539,0	3,7	1,13
MEF	CAF-d9	0,999	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	3126,3	3,7	9,05
CFB	IBU-d3	0,984	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	2931,0	3,7	11,82
IBU	IBU-d3	0,997	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	1854,8	3,7	1,73
BPA	BPA-d16	0,995	2,5 - 100	2,5	0,75	4,66	1537,5	3,7	3,11
TCS	IBU-d3	0,999	5 - 100	5	1,5	4,96	260,6	4,45	1,05

F.Linear = faixa linear. SER = significância estatística da regressão; Faj = Falta de ajuste; Atenolol (ATN);Cafeína (CAF);Sulfametoxazol (SMX);Venlafaxina (VLX); Amitriptilina (AMT);Nortriptilina (NTP); Carbamazepina (CBZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); Atrazina (ATZ); Diazepam (DIA); Ácido mefenâmico (MEF); Ácido clofibrico (CFB); Ibuprofeno (IBU); Bisfenol A (BPA);Triclosan (TCS).

As curvas analíticas apresentaram elevada linearidade ($R^2 \geq 0,995$) por extensa faixa linear. As regressões por mínimos quadrados se mostraram estatisticamente

significativas para todas as substâncias, por meio de Teste, onde o valor de $F_{1,n-2}$ foi superior ao valor crítico. Em seguida, por meio de Teste F, as regressões foram avaliadas quanto a falta de ajuste. Para todas as substâncias, exceto MEF e CBB, o valor crítico foi maior que o calculado de $F_{0,05; m-2; n-2}$, sendo assim não houve falta de ajuste.

Com respeito a detectabilidade, mLOD variaram entre 0,75 e 3,0 ng/L, e mLOQ entre 2,5 e 5 ng/L, valores consistentes com outros estudo realizados no Lago Paranoá [187,190,203]. Considerando as faixas de concentração determinadas nestes estudos, os valores de mLOD e mLOQ foram avaliados como adequados para realizar as determinações. Ademais, no nível de concentração de mLOQ, os coeficientes de variação da replicatas de injeção estiveram abaixo de 17%.

Tabela 3.4: Recuperação, efeito de matriz e eficiência do método para cada substância analisada.

Substância	R%	EM%	Ef%
ATN	65 ± 7	115 ± 6	75 ± 9
CAF	87 ± 5	55 ± 4	48 ± 4
SMX	61 ± 5	130 ± 11	79 ± 10
VLX	69 ± 16	69 ± 5	48 ± 12
AMT	65 ± 6	112 ± 11	73 ± 10
NTP	57 ± 2	79 ± 1	45 ± 2
CBZ	77 ± 3	112 ± 5	86 ± 5
DEET	75 ± 16	66 ± 12	50 ± 14
ATZ	72 ± 5	113 ± 3	82 ± 6
DIA	62 ± 9	120 ± 11	75 ± 13
MEF	78 ± 5	93 ± 26	73 ± 21
CFB	35 ± 3	61 ± 8	22 ± 3
IBU	54 ± 6	88 ± 4	47 ± 6
BPA	78 ± 9	75 ± 6	58 ± 8
TCS	72 ± 17	74 ± 13	53 ± 15

R% = recuperação; EM% = efeito de matriz e Ef% = eficiência do método. Incertezas dadas por SE.

As recuperações obtidas para ATN, CBZ e ATZ foram similares aos valores estimados em extratos obtidos de amostras de água superficial do LP em estudos anteriores [203], entretanto, foram menores do que R% estimadas em amostras de água para consumo humano [157], possivelmente devido a maior complexidade da matriz [204]. EM% obtidos para CBZ e ATZ também foram similares aos estimados por Sodré e Cavalcanti [203], entretanto, para CAF, no presente estudo, maior supressão de sinal foi observada. Considerando estes parâmetros, a estratégia baseada em calibração por superposição de matriz com padronização interna foi considerada adequada.

4.2 MPE nas amostras do Lago Paranoá

As concentrações individuais dos MPE investigados são mostradas nas Tabelas 3.5 e 3.6. Dentre os 15 MPE estudados, 11 foram encontrados em todas as amostras. DIA, CFB e MEF não foram detectados em nenhuma amostra tal como previamente observado por Abbt-Braun *et al* [190]. AMT foi detectada apenas durante a estação seca, porém com valores $< \text{LOQm}$ e NTP foi detectado somente no período chuvoso também com concentrações $< \text{LOQm}$. Dessa forma, foram considerados não detectados (ND). Dentre os MPE com concentrações acima de LOQm , valores mínimos e máximos variaram entre 3 ± 5 e $72 \pm 10 \text{ ng/L}$.

Tabela 3.5: Concentrações das substâncias em cada amostras de água superficial do Lago Paranoá durante o período chuvoso (11-24 de fevereiro)

Data	ATN	CAF	SMX	VLX	CBZ	DEET	ATZ	IBU	BPA	TCS
11	19 ± 5	15 ± 2	40 ± 5	11 ± 4	8 ± 3	72 ± 10	5 ± 4	12 ± 4	7 ± 3	11 ± 4
12	18 ± 5	16 ± 2	46 ± 4	12 ± 4	8 ± 3	39 ± 3	5 ± 4	12 ± 4	5 ± 3	14 ± 4
13	17 ± 5	18 ± 1	48 ± 4	12 ± 4	9 ± 3	47 ± 3	5 ± 4	16 ± 4	4 ± 3	17 ± 4
14	20 ± 5	16 ± 2	40 ± 4	12 ± 4	8 ± 3	45 ± 3	5 ± 4	14 ± 4	7 ± 3	16 ± 4
15	13 ± 4	16 ± 1	41 ± 4	11 ± 4	8 ± 3	43 ± 3	6 ± 4	15 ± 4	9 ± 3	15 ± 4
16	6 ± 5	10 ± 2	47 ± 4	<mLOQ	6 ± 3	41 ± 4	5 ± 4	12 ± 4	9 ± 3	10 ± 4
17	3 ± 5	9 ± 2	41 ± 4	<mLOQ	5 ± 3	37 ± 3	6 ± 4	14 ± 4	12 ± 3	4 ± 4
18	3 ± 5	7 ± 2	49 ± 4	<mLOQ	4 ± 3	38 ± 3	5 ± 4	16 ± 4	2 ± 3	7 ± 4
19	7 ± 5	8 ± 2	45 ± 4	<mLOQ	7 ± 3	58 ± 9	6 ± 4	14 ± 4	12 ± 3	6 ± 4
20	11 ± 5	8 ± 2	47 ± 4	<mLOQ	6 ± 3	42 ± 4	6 ± 4	15 ± 4	14 ± 3	11 ± 4
21	16 ± 5	10 ± 2	47 ± 4	10 ± 4	9 ± 3	50 ± 4	6 ± 4	15 ± 4	7 ± 3	15 ± 4
22	13 ± 5	9 ± 2	41 ± 4	10 ± 4	6 ± 3	50 ± 4	6 ± 4	10 ± 4	12 ± 3	15 ± 4
23	6 ± 5	7 ± 2	47 ± 4	<mLOQ	3 ± 3	31 ± 4	5 ± 4	8 ± 4	17 ± 3	10 ± 4
24	8 ± 5	10 ± 2	40 ± 4	8 ± 4	5 ± 3	48 ± 4	6 ± 4	10 ± 4	10 ± 3	15 ± 4

ND: Não detectado. *concentrações abaixo do limite de quantificação do método (LOQ_m), mas acima de LOD_m Incertezas dadas por s.

Tabela 3.6: Concentrações das substâncias em cada amostras de água superficial do Lago Paranoá durante o período seco (15-28 de agosto).

Data	ATN	CAF	SMX	VLX	CBZ	DEET	ATZ	IBU	BPA	TCS
15	13 ± 9	7 ± 3	47 ± 4	9 ± 3	8 ± 2	19 ± 2	4 ± 2	26 ± 4	7 ± 3	35 ± 6
16	15 ± 9	7 ± 3	46 ± 4	8 ± 3	8 ± 2	20 ± 2	4 ± 2	21 ± 4	21 ± 3	41 ± 6
17	21 ± 9	6 ± 3	49 ± 4	9 ± 3	11 ± 2	19 ± 2	4 ± 2	20 ± 2	11 ± 3	43 ± 6
18	14 ± 9	5 ± 3	40 ± 4	7 ± 3	9 ± 2	19 ± 3	4 ± 2	18 ± 3	18 ± 3	40 ± 6
19	9 ± 10	5 ± 3	46 ± 4	5 ± 3	8 ± 2	19 ± 2	4 ± 2	20 ± 3	5 ± 3	44 ± 6
20	7 ± 10	5 ± 3	43 ± 4	5 ± 3	8 ± 2	25 ± 2	4 ± 2	12 ± 3	9 ± 3	32 ± 6
21	8 ± 10	5 ± 3	43 ± 4	6 ± 3	8 ± 2	25 ± 2	4 ± 2	9 ± 3	22 ± 4	31 ± 6
22	8 ± 10	4 ± 3	44 ± 4	5 ± 3	9 ± 2	21 ± 3	4 ± 2	7 ± 3	5 ± 3	36 ± 6
23	5 ± 10	5 ± 3	47 ± 4	5 ± 3	8 ± 2	19 ± 2	4 ± 2	11 ± 3	6 ± 3	31 ± 6
24	4 ± 10	4 ± 3	41 ± 4	3 ± 3	6 ± 2	15 ± 2	4 ± 2	3 ± 3	6 ± 3	18 ± 7
25	11 ± 10	6 ± 3	45 ± 4	7 ± 3	9 ± 2	17 ± 3	4 ± 2	19 ± 3	13 ± 3	39 ± 6
26	8 ± 10	5 ± 3	45 ± 4	5 ± 3	8 ± 2	16 ± 3	4 ± 2	18 ± 3	4 ± 3	40 ± 6
27	8 ± 10	5 ± 3	44 ± 4	6 ± 3	8 ± 2	17 ± 2	4 ± 2	11 ± 3	4 ± 3	34 ± 6
28	6 ± 10	9 ± 3	40 ± 4	4 ± 3	8 ± 2	15 ± 3	4 ± 2	16 ± 3	11 ± 3	36 ± 6

ND: Não detectado. Incertezas dadas por s.

Conforme apontado por Abbt Braun *et al* [190], as concentrações individuais dos MPE não excederam 100 ng/L e valores superiores são encontrados nas regiões dos tributários, mais fortemente influenciados pelos descartes das ETEs.

4.3 Observações quanto a sazonalidade e padrão de uso

A Tabela 3.7 apresenta as concentrações médias de cada analito durante os períodos seco (PS) e chuvoso (PC). Nesta Tabela, valores de incertezas foram calculados segundo a Equação 17 e consideram a combinação das incertezas provenientes da curva analítica e da variabilidade das medidas de concentração obtidas durante os dias de amostragem.

Tabela 3.7: Concentrações médias dos analitos estudados durante cada estação climática

Substância	Período Chuvoso (ng/L)	Período Seco (ng/L)
ATN	11 ± 5	10 ± 10
CAF	11 ± 2	5 ± 3
SMX	26 ± 4	25 ± 4
VLX	11 ± 4 < LOQm	6 ± 3
CBZ	7 ± 3	8 ± 2
DEET	46 ± 5	19 ± 2
ATZ	6 ± 4	4 ± 2
IBU	13 ± 4	15 ± 3
BPA	9 ± 3	10 ± 3
TCS	12 ± 4	36 ± 6

Incertezas dadas por s_{comb} . Atenolol (ATN); Cafeína (CAF); Sulfametoxazol (SMX); Venlafaxina (VLX); Carbamazepina (CBZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); Atrazina (ATZ); Ibuprofeno (IBU); Bisfenol A (BPA); Triclosan (TCS).

De maneira geral, podem ser observadas maiores concentrações médias durante o PC. Entretanto, os elevados valores de incertezas associados dificultam a constatação quanto a possíveis efeitos sazonais. Dessa forma, neste trabalho esta avaliação baseou-se na comparação da concentração média de cada MPE para os diferentes períodos investigados, e suas incertezas por meio de um teste t , conforme a Equação 21.

$$|t_{calc}| = \frac{\bar{x}_{PS} - \bar{x}_{PC}}{s_{combT} \sqrt{\frac{1}{n_{PS}} + \frac{1}{n_{PC}}}} \quad (21)$$

onde \bar{x}_{PS} é o valor médio das concentrações de um MPE durante o período de seca, \bar{x}_{PC} é o valor médio durante o período chuvoso, n_{PS} o número de dados durante o período de seca e n_C durante o período chuvoso. s_{combT} representa o desvio padrão combinado entre

os conjuntos de dados comparados e é calculado segundo a Equação 22.

$$S_{comb_T} = \frac{(n_{PS}-1)s_{comb_{PS}}^2 + (n_{PC}-1)s_{comb_{PC}}^2}{n_{PS} + n_{PC} - 2} \quad (22)$$

onde $s_{comb_{PS}}$ e $s_{comb_{PC}}$ são os desvios-padrão combinados obtidos para os dados referentes aos períodos seco e chuvoso, respectivamente, calculados de acordo com a Equação 17.

Para os MPE estudados, variações significativas são identificadas para valores de t_{calc} maiores dos que $t_{critico}$, considerando uma distribuição bicaudal, a 95% de probabilidade, com 26 graus de liberdade ($n_{PS} + n_{PC} - 2$). Nestas condições, o valor de $t_{critico}$ corresponde a 1,7. Assim, dentre os dez MPE passíveis de serem quantificados, variações significativas, i.e., efeitos sazonais, foram observadas apenas para CAF ($t_{calc} = 2,56$), DEET ($t_{calc} = 4,04$) e TCS ($t_{calc} = 3,97$).

Estes resultados estão em contraste com aqueles anteriormente observados no LP [205], onde CAF teve maiores concentrações durante o P.S nas regiões dos tributários do LP. Abbt Braun *et al* [190] ressaltam que estas regiões podem ser mais fortemente influenciadas pelos lançamentos da ETES Norte e Sul, e assim, maiores concentrações de MPE são determinadas. Nesse sentido, Sodre *et al* [205] ressaltam que apesar de maiores, as diferenças de concentração entre PS e PC não foram significativas. Sodré *et al* [205] também investigaram a presença de DEET no LP, que apresentou concentrações variando entre $2,38 \pm 0,04$ e 26 ± 5 ng/L e com FD de 75%. Já no presente estudo, as concentrações médias de DEET variaram entre 46 ± 5 ng/L (PC) e 19 ± 2 ng/L no PS, e teve FD de 100%. Durante o ano de 2019 houve um aumento considerável nos casos de dengue, de forma que configura um evento atípico no padrão de uso, justificando-se, portanto, as maiores concentrações.

A identificação de tendências nas variações das concentrações pode ser verificada graficamente. Assim foram construídos gráficos dos perfis das concentrações dos analitos no Lago Paranoá em cada período e são mostrados nas Figura 3.3, 3.4 e 3.5

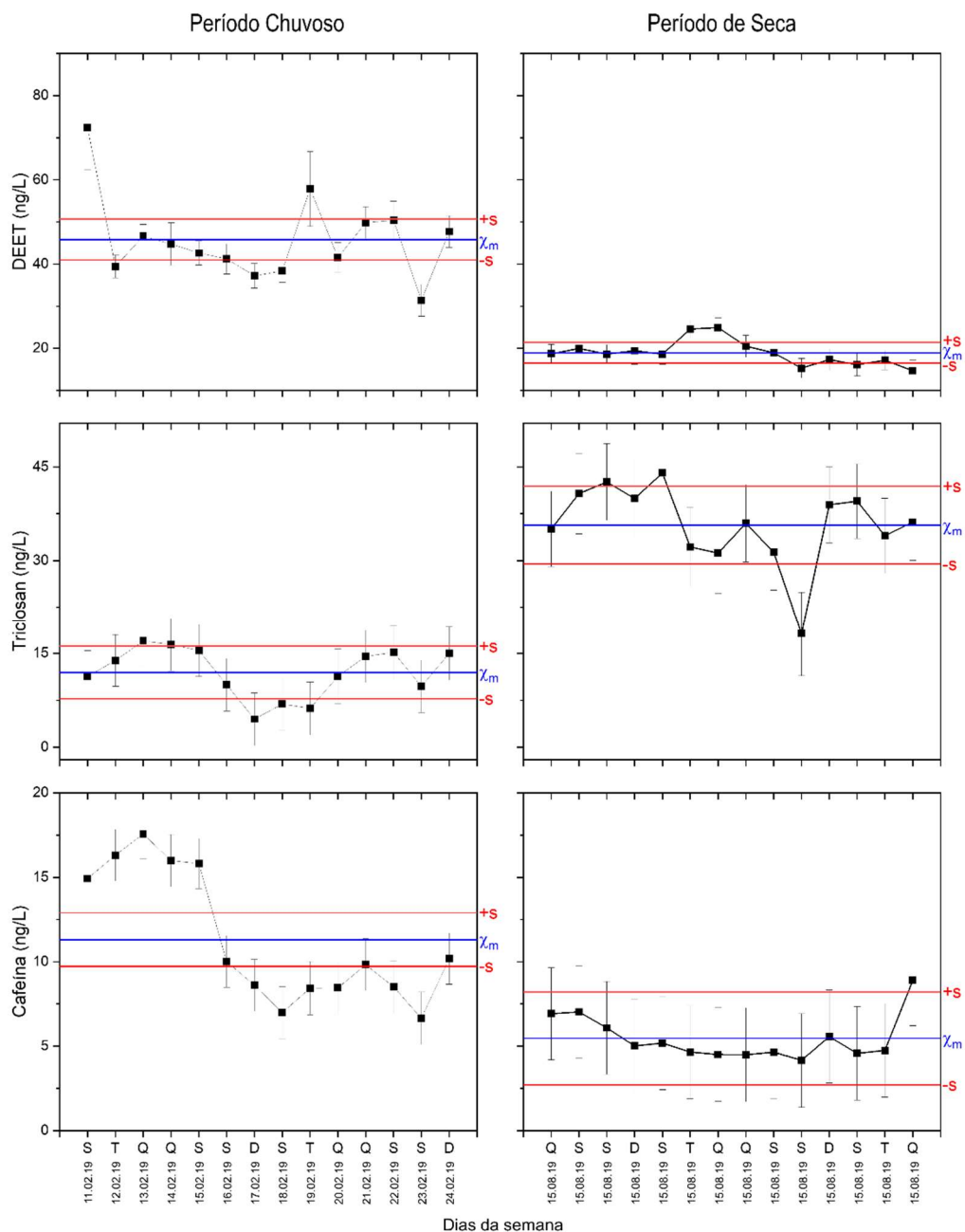


Figura 3.3. Variação da concentração de DEET, TCS e CAF investigados no Lago Paranoá durante os períodos chuvoso, à esquerda, e de seca, à direita. Barras de erro indicam o desvio-padrão para cada valor individual, a linha azul representa o valor médio (χ_m) ao longo do período e as linhas vermelhas o desvio-padrão combinado sobre χ_m .

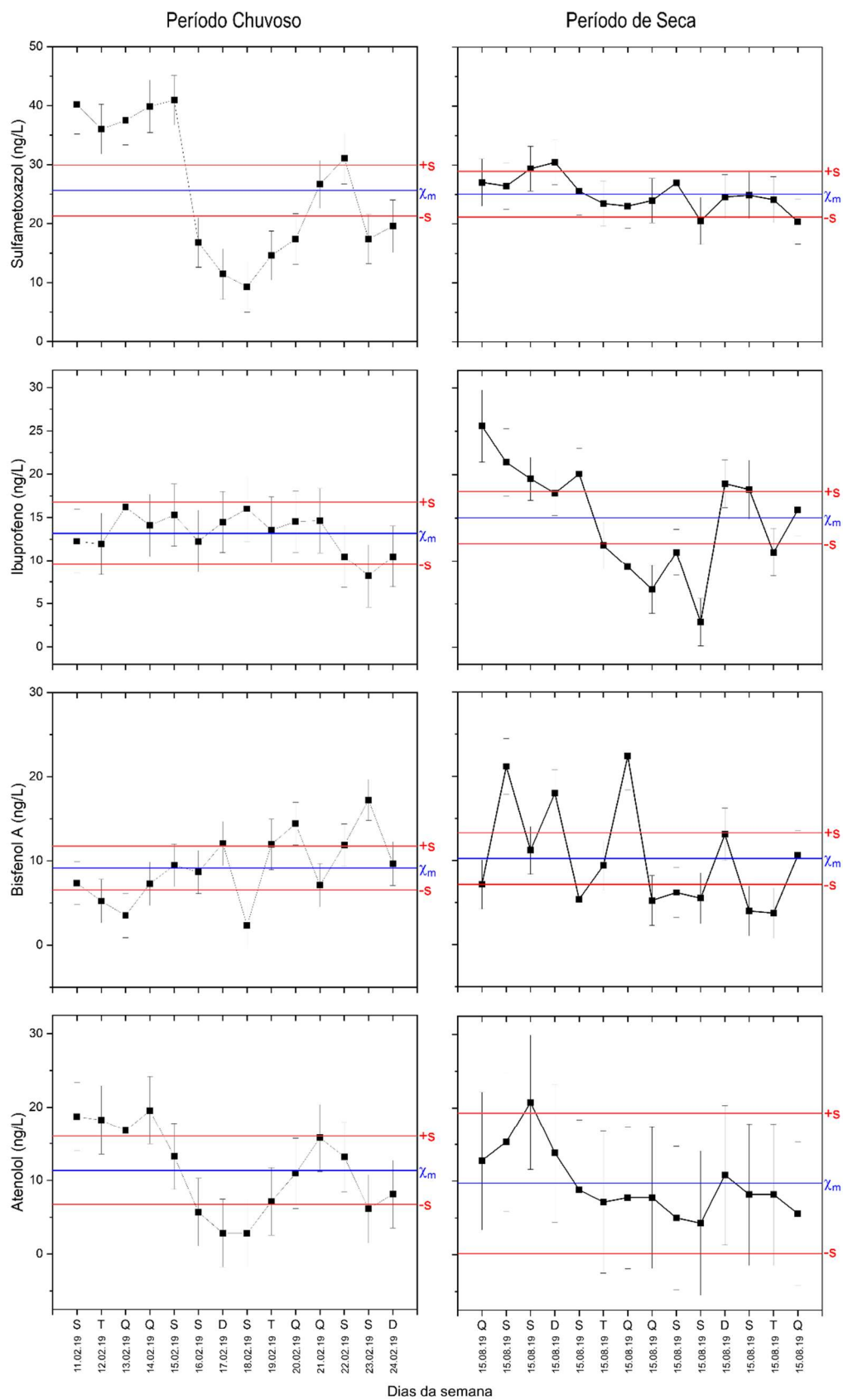


Figura 3.4. Variação da concentração de SMX, IBU, BPA e ATN investigados no Lago Paranoá durante os períodos chuvoso, à esquerda, e de seca, à direita. Barras de erro indicam o desvio-padrão para cada valor individual, a linha azul representa o valor médio (χ_m) ao longo do período e as linhas vermelhas o desvio-padrão combinado sobre χ_m .

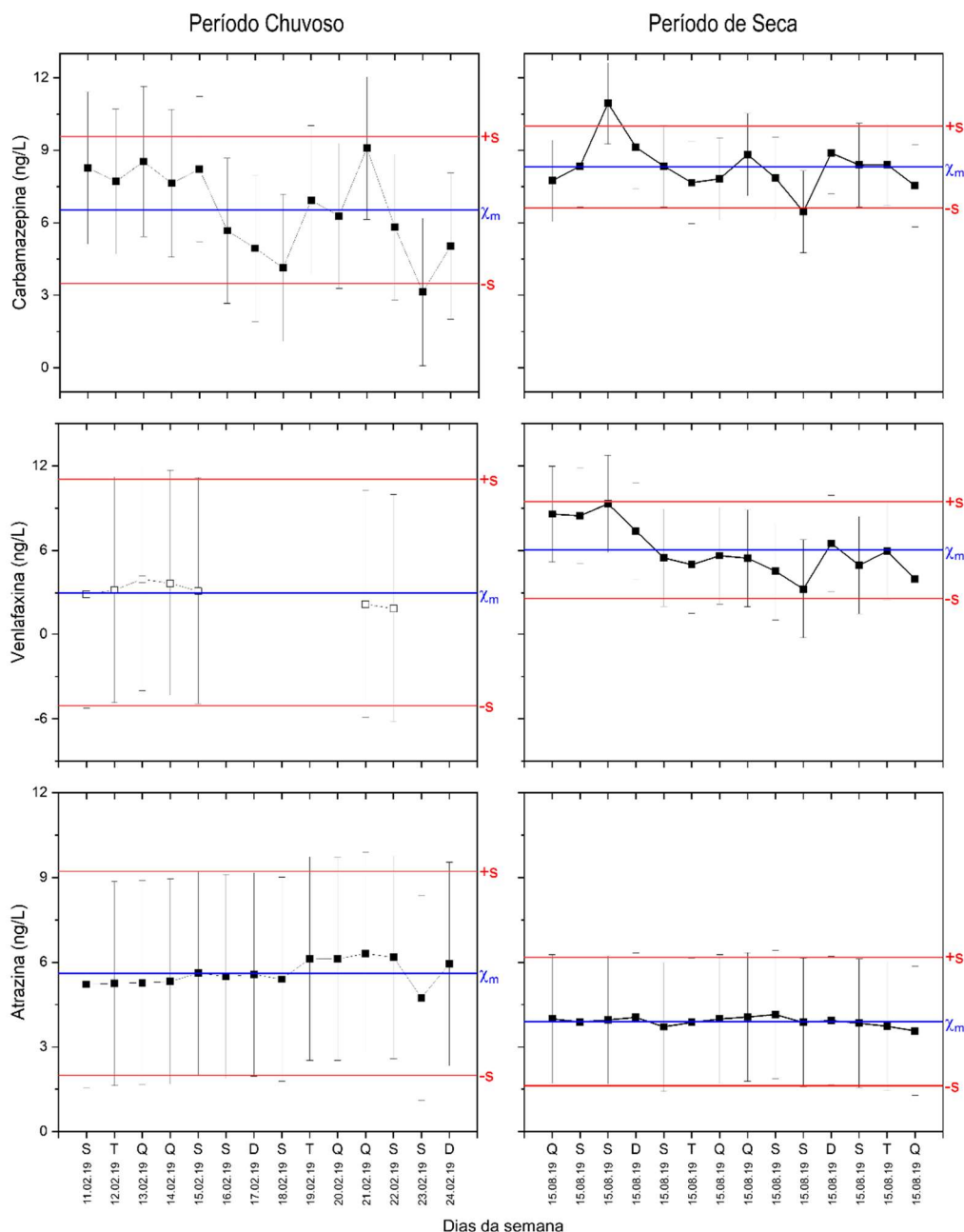


Figura 3.5. Variação da concentração de CBZ, VLX e ATZ investigados no Lago Paranoá durante os períodos chuvoso, à esquerda, e de seca, à direita. Barras de erro indicam o desvio-padrão para cada valor individual, a linha azul representa o valor médio (χ_m) ao longo do período e as linhas vermelhas o desvio-padrão combinado sobre χ_m .

Na Figura 3.3, estão mostrados os perfis de variação para os MPE que apresentaram diferenças significativas entre os períodos estudados. Para TCS, CAF e DEET, percebe-se pronunciadas diferenças nas contrações médias, delimitadas pelas linhas médias no gráfico (χ_m), elevados valores de incertezas (s) e que os intervalos compreendidos por $\chi_m + s$ e $\chi_m - s$ para os períodos seco e chuvoso não se sobrepõem, diferentemente do observado nos perfis de concentração dos MPE que não apresentaram diferenças significativas, mostrados nas Figuras 3.4 e 3.5.

No presente trabalho, CAF teve maior concentração média durante o PC, enquanto Sodré *et al* [205] identificaram maiores concentrações deste MPE no LP durante o P.S. Abbt Braun *et al* [190] ressalta que CAF não apresenta um comportamento sazonal característico. Entretanto, cabe ressaltar que tanto Sodré *et al* [205] quanto Abbt Braun *et al* [190], realizaram apenas uma amostragem mensal, de forma que um padrão sazonal definido não pode ser atribuído a CAF. Já no presente estudo, amostragens realizadas durante dias consecutivos mostraram elevada variabilidade nas concentrações de CAF ao longo dos dias monitorados, além de elevadas incertezas de medição. Conforme pode ser observado na Figura 3.3, caso fosse realizada uma amostragem mensal para realizar avaliações referente a sazonalidade, a depender da data em que a amostragem ocorrer, conclusões errôneas podem ser obtidas. Caso a amostragem referente ao PC ocorresse no dia 12.02.2019, em comparação com a data 24.02.19, diferenças significativas seriam identificadas. Em contrapartida, caso a amostragem única do PC ocorresse no dia 21.02.2019, possivelmente não seriam identificadas tendências sazonais.

Quanto a DEET, Sodré *et al* [205] determinaram concentrações bastante distintas entre os PS e PC ($2,38 \pm 0,04$ e 26 ± 5 ng/L). Entretanto, devido a amostragem única, o número de graus de liberdade é bastante reduzido, favorecendo a hipótese nula do teste T, e assim diferenças significativas dificilmente seriam identificadas.

Neste estudo, as concentrações médias de TCS encontradas no LP foram 12 ± 4 ng/L no PC e 36 ± 6 ng/L no PS. Estima-se que este PHP seja eficientemente removido em estações de tratamento com remoção de nutrientes (equivalente ao tratamento terciário) [206], além de ser propenso a fotodegradação [207]. Dessa forma, as elevadas concentrações podem ser em decorrência de uso extensivo. É possível que durante o PS, devido às elevadas temperaturas, o número de banhos diários pela população tenha aumentado e assim há maior utilização de produtos de higiene pessoal que tenham TCS em sua formulação. Dessa forma, acredita-se que houve alteração no padrão de uso.

SMX foi o segundo MPE mais prevalente, com concentração média de 26 ± 4 ng/L no PC e 25 ± 4 ng/L no PS, semelhantemente ao valor determinado em estudo de 2013 no Lago Paranoá [186]. Apesar de o perfil de concentração exibido na Figura 3.4 sugerir grande variação entre dias, valores médios são próximos, de forma que os intervalos $\chi_m + s$ e $\chi_m - s$ dos respectivos PS e PC se sobrepõe. Ainda assim, semelhantemente CAF, é possível que estratégias discretas de amostragem levem a conclusões errôneas quanto a efeitos sazonais. A presença de antibióticos no ambiente é preocupante, pois promovem efeitos adversos à biota aquática [158] e estão associados

ao desenvolvimento de bactérias resistentes no ambiente [208]. Este antibiótico apresenta eficiência moderada de remoção pelas ETEs (45%) [209] e a baixa tendência a biodegradação. Entretanto sofre atenuação devido a fotólise [210]. Ademais, apesar de ser comumente usado no tratamento de infecções urinárias, sua compra é controlada, o que pode diminuir seu aporte em ambientes aquáticos.

Com respeito a CBZ, sua presença no Lago Paranoá quantificada em 7 ± 3 ng/L no PC e 8 ± 2 no PS. Este MPE apresentou um comportamento relativamente constante, não tendo variações de concentração que ultrapassassem os intervalos $\chi_m + s$ e $\chi_m - s$. Esta substância também foi investigada no LP em pontos destinados ao abastecimento público no lago [203], apresentando concentrações médias de 15 ng/L tanto para o período chuvoso quanto para o seco. Este medicamento tem sua compra controlada, o que pode favorecer menor consumo [211], entretanto, considerando a natureza deste fármaco, é razoável assumir que seu uso seja contínuo. Ademais, sabe-se que somente cerca de 2% permanece inalterada na excreção pós-consumo [212]. Este fármaco é considerado recalcitrante, com baixa eficiência de remoção nas ETEs (30%) [209], além de não ser propenso a fotólise nem a biodegradação [207,213]. Assim, valores determinados no LP sugerem elevado consumo ou outra fonte de aporte [214]. Quanto a sua toxicidade, antiepiléptico pode prejudicar o desenvolvimento de ovas de peixes e micro crustáceos [75], sendo amplamente monitorado em países europeus [54].

O antianginoso ATN apresentou concentrações médias de 11 ± 5 ng/L no PC. Novamente, pode-se verificar que nos dias 14.02, 17.02 e 18.02, as concentrações apresentaram maior variação em relação ao valor médio do período. Assim, efeitos sazonais poderiam ser erroneamente atribuídos devido a estratégias discretas de amostragem. ATN também foi investigado anteriormente no Lago Paranoá. Sodré *et al* [189] investigaram sua ocorrência em pontos à montante do lançamento da ETE Norte durante a estação chuvosa. Os autores obtiveram concentração média de 12,1 ng/L, semelhante ao obtido neste estudo. As semelhanças de valor, podem indicar que, no DF seu consumo é constante (por ser um antianginoso). Entretanto, maiores valores foram observada durante a estação seca, onde os autores estimaram 39 ng/L enquanto neste estudo, no PS foi encontrado um valor médio de 10 ± 10 ng/L. Sodre *et al* [189] não identificaram significância nas diferenças entre PS e PC, possivelmente devido ao pequeno espaço amostral. Qarni *et al* [209] reportam que o tratamento terciário pode proporcionar elevada remoção (78%) e ressalta que elevadas temperaturas, e incidência de radiação solar favorecem a degradação deste fármaco, razão pela qual sua

concentração média foi menor no PS.

ATZ é um herbicida persistente que apresenta elevada toxicidade para biota aquática e está associada a neoplasias em humanos [215]. Apresenta baixa eficiência de remoção pela ETEs convencionais (49%) [41] e seu uso está ligado a jardinagem. Abbt-Braun *et al* [190] ressaltam que o aporte de ATZ está ligado aos eventos de chuva. De Fato, no presente estudo, valores médios de concentração de ATZ foram maiores no PC, sendo 6 ± 4 ng/L, enquanto 4 ± 2 ng/L no PS. Esses achados são semelhantes aos obtidos por Sodre *et al* [189] que, em ponto à montante da ETE-Norte, identificaram concentrações de ATZ da ordem de 2,9 – 4,9 ng/L. Já em ponto à jusante da ETE Norte, Sodré e Cavalcanti [203] determinaram concentrações de 10 e 13 ng/L nos períodos chuvoso e seco próximo à barragem do Lago evidenciando a contribuição proveniente da ETE.

O IBU é um anti-inflamatório amplamente utilizado que pode ser adquirido sem receita. Suas concentrações médias nos PC e PS foram 13 ± 4 e 15 ± 3 ng/L, respectivamente. Já existem trabalhos que reportam sua presença em águas brasileiras associando-o ao elevado consumo [216,217]. Esta hipótese é corroborada pela elevada taxa de remoção deste fármaco nas ETEs convencionais (99%) [218] e moderada tendência a fotólise (55%) [207]. O presente estudo é o primeiro a reportar sua presença nas águas do LP, que deve ser monitorada em função da aparente pseudo-persistência.

O BPA, classificado como interferente endócrino [70], foi encontrado nas amostras do LP sob níveis variando entre 9 ± 3 ng/L no PC e 10 ± 3 ng/L no período seco. A literatura reporta sua elevada eficiência de remoção pela ETE convencionais (93%) [9,204]. Assim como outros MPE indicadores de contribuições antropogênicas (tais como caféina, atenolol, DEET, etc.), sua ocorrência relaciona-se diretamente com o grau de impactação das águas conforme evidenciado em recentes trabalhos de revisão que reportam níveis de BPA em águas brasileiras variando entre 5,15 e 13016 ng/L [51,219].

O fármaco antidepressivo VLX apresentou concentração média de 6 ± 3 ng/L nos os e valores <LOQm durante o PC. Outros antidepressivos, como AMT e NTP não foram detectados com concentração acima de mLOQ. Considerando que estes três fármacos possuem baixas eficiências de remoção pelos tratamentos de esgoto convencionais, sendo de 18%, 11% e 23 % [28] respectivamente, as baixas concentrações sugerem pouco consumo. Entretanto, a presença de antidepressivos no ambiente tem uma tendência ao crescimento, e assim, preocupações quanto a sua ocorrência e concentração são pertinentes [220]. Este fármaco carece de estudos que reportem sua ocorrência em águas

superficiais no Brasil, porém alguns países europeus já tem reportado sua presença, como Portugal [221] onde a VLX foi encontrada em 100% dos rios analisados.

4.4 Avaliação de risco ambiental

A avaliação de risco ambiental para os MPE estudados deu-se pelo quociente de risco (RQ), estimado pela razão entre os valores MEC/PNEC. Os valores de RQ estimados para os MPE estudados neste trabalho foram agrupados segundo três grupos de risco, classificados como: sem risco ($RQ < 0,01$), risco em potencial ($0,1 \leq RQ < 1$) e com risco ($RQ \geq 1$) [163]. A Tabela 3.8 mostra os valores mais restritivos de PNEC obtidos na literatura e os valores de RQ estimado para cada substância utilizando a concentração diária de cada analito nos PC e PS. Na Figura 3.6 são mostrados os valores de RQ baseados nas concentrações diárias para as substâncias.

Tabela 3.8. Valores de PNEC obtido da literatura para os MPE estudados, RQ estimados para cada substância.

Analito	PNEC (ng/L)	Referência
ATN	77700	[158]
CAF	5200	[158]4
SMX	10	[158]
VLX	888	[222]
CBZ	250	[158]
DEET	5200	[223]
ATZ	44	[224]
IBU	2300	[3]
BPA	60	[158]
TCS	5	[222]

Atenolol (ATN); Cafeína (CAF); Sulfametoxazol (SMX); Venlafaxina (VLX); Carbamazepina (CBZ); N,N dietil-m-toluamida (DEET); Atrazina (ATZ); Ibuprofeno (IBU); Bisfenol A (BPA); Triclosan (TCS).

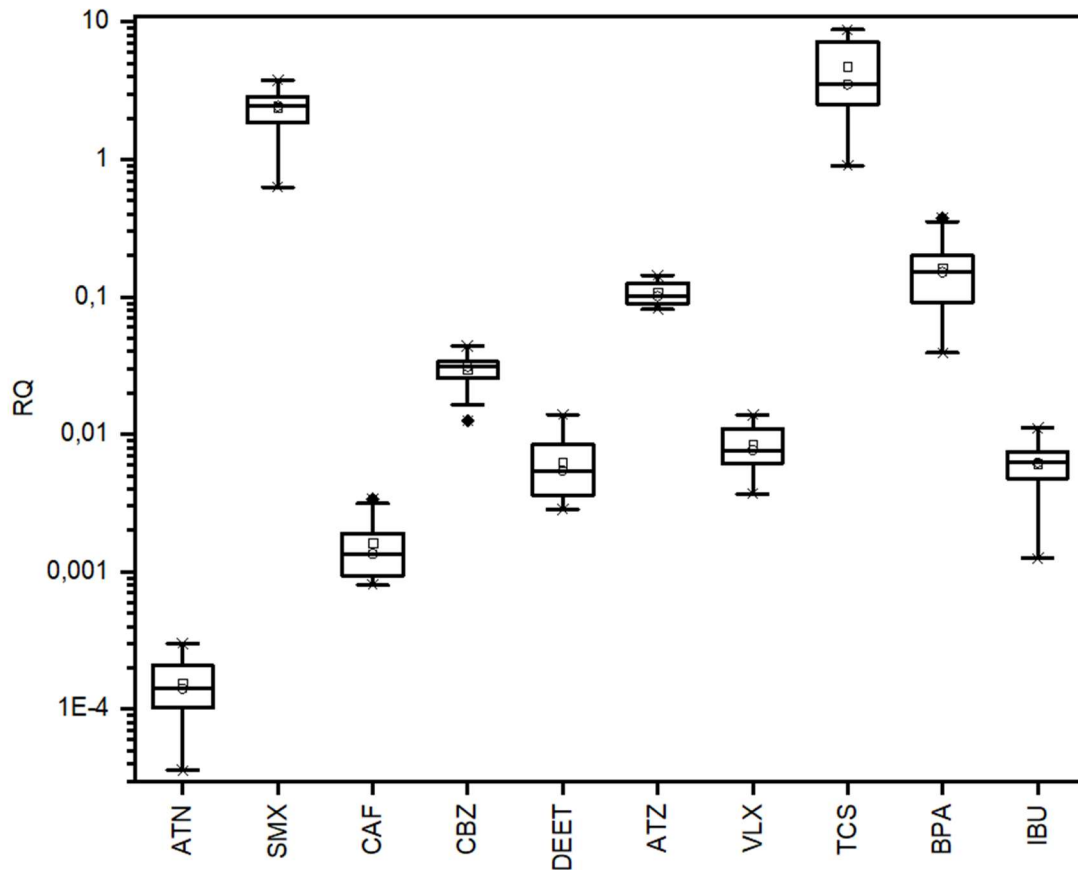


Figura 3.6: variações diárias nos valores de RQ para os analitos avaliados. Neste gráfico, o box representa de 25-75% dos valores; × corresponde a 1% e 99%; - (traço) denota valores máximos e mínimos; o quadrado menor representa o valor médio dos dados e o círculo representa a mediana dos dados.

Com base em valores de PNECs mais restritivos disponíveis na literatura, dentre os MPE investigados, SMX e TCS apresentaram alto risco à biota aquática tanto no período chuvoso enquanto no seco. Para estes MPE, durante o PC, no dia 17/02, houve redução do risco, (de elevado para médio) possivelmente devido ao acúmulo de precipitação. Entretanto, nos dias subsequentes, o RQ tornou a ser maior do que 1. Já no período seco, o RQ aponta para elevado risco em todos os dias avaliados. Estes resultados estão em concordância com observações referentes a presença de biocidas no ambiente. ATZ e BPA possuem potencial de apresentar risco sob pequenas variações nas concentrações ambientais. Para ATZ, o RQ aponta médio risco durante todos os dias do PC, enquanto no PS, não houve risco em nenhum dia avaliado, evidenciando seu aporte devido a drenagem pluvial. Já BPA apresenta médio risco em ambas as estações, quase todos os dias. Variações da ordem de 5 ng/L alteram a classificação de risco. Para os demais MPE, as baixas concentrações determinadas podem ser indícios de baixo consumo pela população, ou elevada eficiência de remoção, de forma que, não houve risco

associado.

5 CONCLUSÃO

Este trabalho contribuiu para ampliar o conhecimento acerca da presença de MPE nas águas do Lago Paranoá. O método analítico desenvolvido apresentou elevada linearidade ($R^2 \geq 0,99$), detectabilidade (mLOD entre 0,75 e 3,0 ng/L, e mLOQ entre 2,5 e 5 ng/L), precisão ($CV\% \leq 17\%$) e acurácia (recuperação entre 22 ± 3 e $77 \pm 3\%$), sendo considerado eficiente e adequado para realizar as determinações. Com base nos dados gerados, foi possível verificar que observações referentes a sazonalidade são mais bem amparadas quando realizadas avaliações em diferentes escalas temporais. Estratégias de amostragens discretas e com periodicidade mensal podem não representar a variabilidade nas concentrações de MPE dentro da estação avaliada, conforme pode ser observado para maioria dos MPE estudados. Apesar das variações observadas nas concentrações em diferentes dias, elevados valores de incertezas abrangem a maioria das variações, de forma que, não configuram significância. Casos particulares, como episódios de endemias podem alterar temporariamente o padrão de uso de MPE, como o observado para DEET.

Quanto a avaliação de risco ambiental, os eventos de chuvas propiciam aumento de RQ para MPE cujos mecanismos de transporte são mais associados às mesmas, como para ATZ. Ademais, podem proporcionar redução do risco ambiental para outros MPE, devido a diluição, como observado para BPA. Este estudo contribui também para evidenciar a necessidade de monitoramento rotineiro de MPE e a revisão de legislações ambientais visando a proteção da vida aquática, uma vez que pequenas variações nas concentrações de MPE podem acarretar risco ambiental, conforme observado para BPA. Estudos futuros devem incluir amostragens semanais e diárias nos distintos PS e PC nas regiões mais influenciadas pelos lançamentos das ETEs de modo a amparar as observações referentes a variações sazonais na ocorrência de MPE nestas regiões.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [182] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Censo Cidades, Brasília-DF, Censo Cid. (n.d.). <https://ibge.gov.br/cidades-e-estados/df/brasil.html> (accessed December 31, 2021).

- [183] C.C. Montagner, C. Vidal, R.D. Acayaba, Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios, *Quim. Nova.* 40 (2017) 1094–1110. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170091>.
- [184] C.C. Montagner, F.F. Sodr , R.D. Acayaba, C. Vidal, I. Campestrini, M.A. Locatelli, I.C. Pescara, A.F. Albuquerque, G.A. Umbuzeiro, W.F. Jardim, Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking, Surface and Ground Waters and Wastewaters from São Paulo State, Brazil, *J. Braz. Chem. Soc.* 30 (2019) 614–632.
- [185] J. Rivera-Utrilla, M. Sánchez-Polo, M. . Ferro-García, G. Prados-Joya, R. Ocampo-Pérez, Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review, *Chemosphere.* (2013). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.07.059>.
- [186] G. Abbt-Braun, H. B rnick, C.C.S. Brandão, C.B.G. Cavalcanti, C.P. Cavalcanti, F.H. Frimmel, M. Majewsky, B. Steiniger, M. Tr ster, E. Worch, Water quality of tropical reservoirs in a changing world - the case of Lake Paranoá, Brasília, Brazil., in: C. Lorz, F. Makeschin, H. Weiss (Eds.), *Integr. Water Resour. Manag. Brazil Chapter*, IWA Publishing, London, 2014: p. 152.
- [187] M. Majewsky, C.B.G. Cavalcanti, C.P. Cavalcanti, H. Horn, F.H. Frimmel, G. Abbt-Braun, Estimating the trend of micropollutants in lakes as decision-making support in IWRM: a case study in Lake Paranoá, Brazil, *Environ. Earth Sci.* 72 (2014) 4891–4900. <https://doi.org/10.1007/s12665-014-3458-4>.
- [188] N.Y. Mar da Costa, G.R. Boaventura, D.S. Mulholland, D.F. Araújo, R.C.A. Moreira, K.C.F. Faial, E. de O. Bomfim, Biogeochemical mechanisms controlling trophic state and micropollutant concentrations in a tropical artificial lake, *Environ. Earth Sci.* 75 (2016). <https://doi.org/10.1007/s12665-016-5629-y>.
- [189] F.F. Sodr , J.S. Santana, T.R. Sampaio, C.C.S. Brandão, Seasonal and spatial distribution of caffeine, atrazine, atenolol and deet in surface and drinking waters from the brazilian federal district, *J. Braz. Chem. Soc.* 29 (2018) 1854–1865. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180061>.
- [190] F. Makeschin, H. Weiss, *Integrated Water Resource Management in Brazil*, n.d.
- [191] C. Lorz, G. Abbt-Braun, F. Bakker, P. Borges, H. B rnick, L. Fortes, F.H. Frimmel, A. Gaffron, N. Hebben, R. H fer, F. Makeschin, K. Neder, L.H. Roig, B. Steiniger, M. Strauch, D. Walde, H. Wei , E. Worch, J. Wummel, *Challenges*

- of an integrated water resource management for the Distrito Federal, Western Central Brazil: climate, land-use and water resources, *Environ. Earth Sci.* 65 (2012) 1575–1586. <https://doi.org/10.1007/s12665-011-1219-1>.
- [192] R.P. Schwarzenbach, B.I. Escher, K. Fenner, T.B. Hofstetter, C.A. Johnson, U. von Gunten, B. Wehrli, The Challenge of Micropollutants in Aquatic Systems, *Freshw. Resour.* 313 (2006) 1068–1072. <https://doi.org/10.1126/science.1128845>.
- [193] B. Petrie, R. Barden, B. Kasprzyk-Hordern, A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring, *Water Res.* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.08.053>.
- [194] S. Coutu, V. Wyrsh, H.K. Wynn, L. Rossi, D.A. Barry, Temporal dynamics of antibiotics in wastewater treatment plant influent, *Sci. Total Environ.* 458–460 (2013) 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.017>.
- [195] R. Guibal, R. Buzier, S. Lissalde, G. Guibaud, Adaptation of diffusive gradients in thin films technique to sample organic pollutants in the environment: An overview of o-DGT passive samplers, *Sci. Total Environ.* 693 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.343>.
- [196] J. Criquet, D. Dumoulin, M. Howsam, L. Mondamert, J.F. Goossens, J. Prygiel, G. Billon, Comparison of POCIS passive samplers vs. composite water sampling: A case study, *Sci. Total Environ.* 609 (2017) 982–991. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.227>.
- [197] S.K. Behera, H.W. Kim, J.E. Oh, H.S. Park, Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater treatment plants of the largest industrial city of Korea, *Sci. Total Environ.* 409 (2011) 4351–4360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.07.015>.
- [198] T. Heberer, Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water, *J. Hydrol.* (2002). [https://doi.org/10.1016/S0022-1694\(02\)00165-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(02)00165-8).
- [199] M. Majewsky, C.B.G. Cavalcanti, C.P. Cavalcanti, H. Horn, F.H. Frimmel, G. Abbt-Braun, Estimating the trend of micropollutants in lakes as decision-making support in IWRM: a case study in Lake Paranoá, Brazil, *Environ. Earth Sci.* 72 (2014) 4891–4900. <https://doi.org/10.1007/s12665-014-3458-4>.
- [200] T.R. Sampaio, Micropoluentes emergentes em águas de abastecimento público: estratégia analítica para priorização de mananciais e diagnóstico preliminar., 2018.

- [201] F.F. Sodr , T.R. Sampaio, Development and application of a SPE-LC-QTOF method for the quantification of micropollutants of emerging concern in drinking waters from the Brazilian capital, *Emerg. Contam.* 6 (2020) 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2020.01.001>.
- [202] F.F. Sodr , C.-N.M.P. Cavalcanti, Method Development for Assessing Carbamazepine, Caffeine, and Atrazine in Water Sources from the Brazilian Federal District Using UPLC-QTOF/MS, (2018). <https://doi.org/10.1155/2018/4593793>.
- [203] F.F. Sodr , C.M.P. Cavalcanti, Method development for assessing carbamazepine, caffeine, and atrazine in water sources from the Brazilian Federal District using UPLC-QTOF/MS, *Int. J. Anal. Chem.* 2018 (2018). <https://doi.org/10.1155/2018/4593793>.
- [204] E.O. Reis, A.F.S. Foureaux, J.S. Rodrigues, V.R. Moreira, Y.A.R. Lebron, L.V.S. Santos, M.C.S. Amaral, L.C. Lange, Occurrence, removal and seasonal variation of pharmaceuticals in Brazilian drinking water treatment plants, *Environ. Pollut.* 250 (2019) 773–781. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.102>.
- [205] F.F. Sodr , J.S. Santana, T.R. Sampaio, C.C.S. Brandão, Seasonal and spatial distribution of caffeine, atrazine, atenolol and deet in surface and drinking waters from the brazilian federal district, *J. Braz. Chem. Soc.* (2018). <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180061>.
- [206] V. Martínez-Hern andez, R. Meffe, S. Herrera López, I. de Bustamante, The role of sorption and biodegradation in the removal of acetaminophen, carbamazepine, caffeine, naproxen and sulfamethoxazole during soil contact: A kinetics study, *Sci. Total Environ.* 559 (2016) 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.131>.
- [207] R.M. Baena-Nogueras, E. González-Mazo, P.A. Lara-Martín, Degradation kinetics of pharmaceuticals and personal care products in surface waters: photolysis vs biodegradation, *Sci. Total Environ.* 590–591 (2017) 643–654. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.015>.
- [208] T. Schwartz, W. Kohnen, B. Jansen, U. Obst, Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms, *FEMS Microbiol. Ecol.* (2003). [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(02\)00444-0](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(02)00444-0).
- [209] H. Al Qarni, P. Collier, J. O’Keeffe, J. Akunna, Investigating the removal of some

- pharmaceutical compounds in hospital wastewater treatment plants operating in Saudi Arabia, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23 (2016) 13003–13014. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6389-7>.
- [210] A.G. Trovó, R.F.P. Nogueira, A. Agüera, C. Sirtori, A.R. Fernández-Alba, Photodegradation of sulfamethoxazole in various aqueous media: Persistence, toxicity and photoproducts assessment, *Chemosphere.* 77 (2009) 1292–1298. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.09.065>.
- [211] Y. Zhang, L. Duan, B. Wang, Y. Du, G. Cagnetta, J. Huang, L. Blaney, G. Yu, Wastewater-based epidemiology in Beijing, China: Prevalence of antibiotic use in flu season and association of pharmaceuticals and personal care products with socioeconomic characteristics, *Environ. Int.* 125 (2019) 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.061>.
- [212] V.L. Cunningham, C. Perino, V.J. D’Aco, A. Hartmann, R. Bechter, Human health risk assessment of carbamazepine in surface waters of North America and Europe, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* (2010). <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.10.006>.
- [213] J. Trawiński, R. Skibiński, Studies on photodegradation process of psychotropic drugs: a review, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24 (2017) 1152–1199. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7727-5>.
- [214] M. Clara, B. Strenn, N. Kreuzinger, Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: Investigations on the behaviour of Carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration, *Water Res.* 38 (2004) 947–954. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.058>.
- [215] D.W. Gammon, C.N. Aldous, W.C. Carr, J.R. Sanborn, K.F. Pfeifer, A risk assessment of atrazine use in California: Human health and ecological aspects, in: *Pest Manag. Sci.*, 2005: pp. 331–355. <https://doi.org/10.1002/ps.1000>.
- [216] C.M. Erba, E.P. Tangerino, S.L. de Carvalho, W.D. Isique, Remoção de diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno e paracetamol em filtro ecológico seguido por filtro de carvão granular biologicamente ativado, *Eng. Sanit. e Ambient.* 17 (2012) 137–142. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522012000200002>.
- [217] J.S. Gamarra, A.F.L. Godoi, E.C. de Vasconcelos, K.M.T. de Souza, C.M. Ribas de Oliveira, Environmental Risk Assessment (ERA) of diclofenac and ibuprofen: A public health perspective, *Chemosphere.* 120 (2015) 462–469. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.020>.
- [218] C.M.E. Pompei, L.C. Campos, B.F. da Silva, J.C. Fogo, E.M. Vieira, Occurrence

- of PPCPs in a Brazilian water reservoir and their removal efficiency by ecological filtration, *Chemosphere*. 226 (2019) 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.122>.
- [219] K.L.T. Rodrigues, A.L. Sanson, A. de V. Quaresma, R. de P. Gomes, G.A. da Silva, R.J. de C.F. Afonso, Chemometric approach to optimize the operational parameters of ESI for the determination of contaminants of emerging concern in aqueous matrices by LC-IT-TOF-HRMS, *Microchem. J.* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.06.017>.
- [220] M.P. Schlüsener, P. Hardenbicker, E. Nilson, M. Schulz, C. Viergutz, T.A. Ternes, Occurrence of venlafaxine, other antidepressants and selected metabolites in the Rhine catchment in the face of climate change, *Environ. Pollut.* 196 (2015) 247–256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.09.019>.
- [221] M.O. Barbosa, A.R. Ribeiro, N. Ratola, E. Hain, V. Homem, M.F.R. Pereira, L. Blaney, A.M.T. Silva, Spatial and seasonal occurrence of micropollutants in four Portuguese rivers and a case study for fluorescence excitation-emission matrices, *Sci. Total Environ.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.355>.
- [222] M.O. Uslu, S. Jasim, A. Arvai, J. Bewtra, N. Biswas, A Survey of Occurrence and Risk Assessment of Pharmaceutical Substances in the Great Lakes Basin, *Ozone Sci. Eng.* (2013). <https://doi.org/10.1080/01919512.2013.793595>.
- [223] L. You, V.T. Nguyen, A. Pal, H. Chen, Y. He, M. Reinhard, K.Y.H. Gin, Investigation of pharmaceuticals, personal care products and endocrine disrupting chemicals in a tropical urban catchment and the influence of environmental factors, *Sci. Total Environ.* 536 (2015) 955–963. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.041>.
- [224] L. Zheng, Y. Zhang, Z. Yan, J. Zhang, L. Li, Y. Zhu, Y. Zhang, X. Zheng, J. Wu, Z. Liu, Derivation of predicted no-effect concentration and ecological risk for atrazine better based on reproductive fitness, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 142 (2017) 464–470. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.006>.

CAPÍTULO 4

Determinação de bisfenol A em urina por microextração líquido-líquido e cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de alta resolução

A maior parte dos resultados apresentados neste capítulo foram previamente publicados como:

Hadassa S.R.P.Moura, Priscilla R.S.Rocha, Angélica A.Amato, Fernando F.Sodré, Quantification of bisphenol A in urine samples from children studying in public schools from the Brazilian Capital, *Microchemical Journal*, 152, 2020, 104347.

1 INTRODUÇÃO

O bisfenol A (BPA) é um monômero sintético utilizado na síntese de plásticos e resinas com alta resistência térmica e mecânica, como policarbonatos e resinas epóxi. Devido a estas propriedades, ele é empregado em selantes dentais, encanamentos, revestimentos de interno de produtos enlatados, garrafas plásticas, papel, dentre outros. [225–227]. Este composto chamou a atenção da comunidade científica devido a sua atividade estrogênica [228] e desde então diversos efeitos danosos advindos desta tem sido observados em animais de laboratório, como induzir a feminização em peixes (*Catsstornus commerson*) [229], promover a redução da qualidade do esperma em peixe *Gobiocypris rarus* fish [230], induzir hepatotoxicidade em ratos *Wistar albino* [231], carcinogênese em ratos *Sprague-Dawley* [232], má formação óssea em peixe *Gobiocypris rarus* [71], e favorecimento da apoptose celular em rato *Kunming* [233].

Sua versatilidade e ampla aplicação, propiciam a existência de diversas rotas para a exposição humana a este composto, como absorção dérmica, inalação e alimentação [234], tornando-a quase inevitável. Em particular, existe uma grande preocupação com a possível contaminação de alimentos e outros insumos devido ao vazamento de BPA não polimerizado da parte interna dos enlatados e ensacados [4–6] e também por este processo ser agravado pelo aquecimento [238]. Apesar de este composto ter meia vida curta no organismo humano [239], devido aos efeitos danosos já reportados em mamíferos, e à exposição constante a este interferente endócrino [232], os potenciais riscos à saúde humana tem sido alvo de investigação [240]. Deste então, foram reportadas a afinidade do BPA pelos receptores estrogênicos ER α e ER β [23] e sua ação sobre as glândulas pituitária e tireóide. [237,241]. Ademais, alguns estudos associam a exposição a BPA com infertilidade [21], aumento na taxa de falhas em procedimentos de fertilização *in vitro* [242], estresse oxidativo e danos ao DNA [243], redução de contagem e qualidade do esperma humano [244], doenças cardiovasculares, acúmulo de gordura no fígado [245], diabetes [246] e obesidade [246].

Considerando os danos associados à exposição a este composto e as possíveis rotas de contaminação, agências regulatórias tem exprimido esforços de maneira a acessar o grau de exposição humana a este (e outros) interferentes endócrinos [247] utilizando matrizes biológicas como sangue [248], saliva [249], urina [250], e leite materno [251]. Em particular, existe uma grande preocupação com a exposição de crianças a este contaminante devido ao estágio de desenvolvimento hormonal, tornando-as mais

suscetíveis a sofrerem efeitos adversos associados a exposição a interferentes endócrinos [252,253]. De fato, o Departamento de Saúde e Serviços Humanitários norte Americano conduziu um estudo em matrizes biológicas, de adultos e crianças com o intuito de estimar o grau de exposição ao BPA e este estudo indicou que um adulto tende a ingerir 1 µg/kg peso corpóreo/dia, enquanto que uma criança pode ingerir até 10 vezes este valor [254,255].

Devido às baixas concentrações esperadas para BPA em amostras biológicas, e à sua complexidade, algumas dificuldades encontradas para o biomonitoramento são a obtenção de adequados volumes de amostra e a necessidade de se empregar técnicas analíticas sensíveis e seletivas. No primeiro caso, considera-se que em mamíferos, a principal rota de metabolização tem sido atribuída a conjugação do BPA com ácido glucurônico, no fígado. Esta via promove a solubilização de BPA em meio aquoso e possibilita sua excreção pela urina [256–258]. Esta matriz é particularmente interessante para estimar a exposição à BPA, pois além de ser a via principal para metabolização/excreção [256], também é de fácil amostragem e possibilita a obtenção de maiores volumes de amostra, razão pelo qual, a maioria dos estudos identificados, utiliza esta matriz [251,259]. No segundo caso, separações cromatográficas, tanto líquida quanto a gás, acopladas a sistemas de detecção baseados em espectrometria de massas têm sido amplamente utilizados (LC-MS/MS e GC-MS/MS) usualmente, em equipamento com analisador tipo triplo quadrupolo [260–270]. Com estas ferramentas, a presença de BPA em amostras de urina de crianças já tem sido amplamente investigada em diversos países como Noruega, Itália, EUA, Portugal, China, Suécia, Dinamarca, Grécia e Japão, muitos com estudos que duram por décadas [252,264,268,271–277].

Mesmos para determinações conduzidas em LC-MS/MS e GC/MSMS, devido concentrações em nível traço esperadas para BPA em matrizes complexas, métodos de preparo de amostra frequentemente são utilizados, e incluem a hidrólise do conjugado (BPA-Ácido-glucurônico), etapas de *clean up* e pré-concentração [263,264,278]. A extração em fase sólida (do inglês *solid phase extraction*, SPE) tem sido amplamente utilizada devido a sua eficiência, facilidade operacional, e por proporcionar *clean up* adequado. Além destas qualidades, frequentemente proporcionam boas recuperações, utilizam pequenos volumes de amostra e em tempos curtos de análises [279–281]. Como desvantagens, a SPE apresenta custo mais elevado, dificultando a análise de muitas amostras e assim, sua implementação em análises de rotina. Nesse sentido, variações da extração líquido-líquido convencional emergem como alternativas de menor custo, como

a micro extração líquido- líquido (MELL) [282], microextração líquido-líquido dispersiva (MDLLE) [278,283–287] e extração líquido-líquido assistida por *salting-out* (SALLE) [288], que também possibilitam boas recuperações com baixo consumo de solvente [35–41].

Os elaborados preparos de amostra podem favorecer perdas de analito e dessa maneira, outras estratégias têm sido empregadas como a derivatização [37] e a padronização interna [17,32]. Em particular, a padronização interna do tipo *surrogate* pode proporcionar diversos benefícios. Diferentemente da abordagem tradicional, onde o padrão interno é utilizado apenas para corrigir variações instrumentais, o *surrogate* é adicionado à amostra de forma a ser submetido a todas as etapas de preparo de amostra. Dentre os benefícios associados a sua utilização estão a possibilidade de compensar perdas de analito, correção de sinal analítico, e a avaliação de recuperação, precisão e acurácia de forma simples [287,289–291].

Apesar da sensibilidade e seletividade proporcionadas pela espectrometria de massas, o chamado efeito de matriz é inerente a esta técnica, particularmente quando da utilização de cromatografia líquido acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) [289]. Este efeito é caracterizado pela supressão/acrécimo de sinal analítico devido a presença de outros componentes na amostra. Essa interferência decorre do processo de ionização na interface de comunicação entre o sistema cromatográfico e o espectrômetro de massas. Tanto a ionização a pressão atmosférica (APCI) quanto por eletronebulização (ESI) são consideradas ionizações brandas, com baixa eficiência. Dessa forma, constituintes majoritários presentes na amostra podem ser ionizados mais facilmente, levando a supressão de sinal analítico.

Em matrizes complexas, esse efeito tende a ser pronunciado, uma vez que a quantidade de interferentes é maior, e assim tem maior probabilidade de serem ionizados, diminuindo ainda mais a eficiência de ionização dos compostos alvo [262], ou também podem reduzir a tensão superficial das gotículas carregadas formada durante a ESI, desfavorecendo a ionização dos analitos de interesse, e levando à maior supressão do sinal analítico. Para estas situações, a diluição da amostra é recomendada, entretanto, quando baixas concentrações são esperadas, pode ocorrer perda de sensibilidade, ou até de detectabilidade. Nesse sentido, de maneira a reduzir o efeito de matriz e obter resultados fidedignos, a literatura tem reportado o uso da calibração por superposição de matriz, onde a curva analítica é construída em uma matriz sintética que mimetiza a amostra. Dessa forma, se houver supressão de sinal analítico durante o processo de ionização, a

curva analítica utilizada como referência para a quantificação, sofre o mesmo efeito, diminuindo discrepâncias entre sinal analítico referente às soluções de referência e amostras no mesmo nível de concentração [260,261,265,267,268]. Nesse sentido, estes estudos mostram que a combinação das estratégias calibração por superposição de matriz e padronização interna do tipo *surrogate* podem proporcionar determinações seletivas e eficientes em matrizes biológicas.

Apesar de os analisadores do tipo triplo-quadrupolo serem bastante difundidos, a espectrometria de massas de alta resolução (do inglês *high-resolution mass spectrometry*, HR-MS) emerge como uma alternativa que proporciona maior poder de resolução, e por este motivo, tem sido empregada para realizar *screenings* em amostras ambientais [292] e para identificação de produtos de transformação em amostras biológicas com bastante sucesso. Ademais, analisadores de alta resolução como os do tipo tempo de voo (do inglês *time of flight*, TOF) já mostraram grande potencial para realizar análises quantitativas com tanta eficiência quanto os triplo-quadrupolos [293]. Apesar das vantagens oferecidas pela HR-MS, esta técnica ainda é pouco explorada em análise quantitativas, pois muitos estudos conduzidos em analisadores do tipo triplo quadrupolo usufruem das bibliotecas de espectros inclusas nos softwares de aquisição de dados utilizados nos equipamentos, e estas são composta majoritariamente por espectros de referência em baixa resolução de massa [294]. Nesse sentido, a alta resolução pode favorecer tanto a identificação de componentes em uma amostra complexa quanto pode auxiliar na diminuição do efeito de matriz por meio da massa acurada, e assim pode favorecer a seletividade da técnica [295].

Poucos estudos utilizam a espectrometria de massas de alta resolução para determinações quantitativas em amostras biológicas, apesar de todos os benefícios que esta técnica pode proporcionar. Neste escopo, considerando a importância de determinar com acurácia e precisão as concentrações de interferentes endócrinos nestas matrizes, o emprego desta técnica de detecção deve ser explorado. Conforme ressaltado anteriormente, diversos países já apresentam monitoramento de diversos interferentes endócrinos, incluindo o BPA, em matrizes biológicas, conduzidos ao longo de vários anos consecutivos, e os dados produzidos por estes estudos favoreceram alterações de legislações, levando a proibição do uso de BPA em bens de consumo dedicados a crianças, bem como a substituição de seu uso em diversos materiais plástico. Entretanto nos países latino-americanos, a literatura referente à exposição humana ao BPA é escassa. Até a presente data, apenas um estudo havia sido realizado no Brasil, e publicado por

Rocha *et al* [20], e posteriormente nova publicação com seus desdobramentos [296] mostrando associações com estresse oxidativo e danos ao DNA.

Neste escopo, outras associações com a exposição a BPA têm sido avaliadas. Por se tratar de um IE, este composto pode sensibilizar diversos receptores, como os glicocorticoides e o proliferados do peroxissoma, e assim altera perfis excrecionários, como o da adipogênese, produzindo efeitos que podem levar a obesidade [16,297]. O reconhecimento da obesidade como um fator de risco que favorece a incidência de outras enfermidades, (como diabetes e doenças cardiovasculares), levanta preocupações quanto aos fatores que podem favorecê-la, como a exposição a IE, dentre eles, o BPA [298]. Segundo a Organização da Nações Unidas, nos países em desenvolvimento, a incidência de obesidade infantil é maior do que nos desenvolvidos [299], e no Brasil, dados fornecidos pela Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas [167] estimam que 15% das crianças apresentam quadro de sobrepeso ou obesidade.

2 OBJETIVOS.

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar um método analítico baseado em microextração líquido-líquido, calibração por superposição de matriz e LC-HRMS/MS para quantificar BPA em amostras de urina de crianças. Foi realizado em parceria com pesquisadoras do Laboratório de Farmacologia Molecular (FarMol- FS) que buscaram explorar aspectos socioeconômicos, clínicos e demográficos relacionados à exposição de crianças ao BPA, bem como investigar possíveis correlações com a exposição a estes IE e a incidência da obesidade infantil.

Este estudo foi realizado com autorização do Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Saúde da Universidade de Brasília (CAAE nº 37889314.5.0000.0030) e todos os participantes (ou seus responsáveis) atestaram consentimento para participar da pesquisa mediante uso de formulários adequados, a saber Termo de Consentimento Livre e Esclarecimento (TCLE) ou Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Padrões analíticos de bisfenol A (BPA) (pureza 99%) e de seu isótopo deuterado bisfenol A-d16 (BPA-d16) (pureza 98%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis,

EUA). Acetato de etila (EtAc, grau HPLC), hidróxido de amônio (grau MS, pureza 50%), ureia (BioReagent, para biologia molecular), ácido ascórbico (padrão farmacêutico secundário), creatinina anidra (pureza 98%), ácido cítrico (grau analítico, pureza 99,5%), bicarbonato de sódio (NaHCO₃, BioReagent, para biologia molecular, pureza 99,5%) e a enzima β glucuronidase/arilsulfatase (*Helix pomatia*, tipo HP 1) foram obtidos da Sigma-Aldrich. Acetonitrila (ACN, grau HPLC) foi adquirida da Tedia (Fairfield, EUA). Cloreto de potássio (KCl, grau analítico, pureza 99%), hidrogenofosfato de potássio (KHPO₄, grau analítico, pureza 98%), acetato de sódio (grau analítico, pureza 99%) e ácido sulfúrico (grau analítico, pureza 97%) foram adquiridos da Vetec (Duque de Caxias, Brazil). Cloreto de sódio (NaCl, grau analítico, pureza 99%), hidróxido de sódio (NaOH, grau analítico, pureza 97%) e ácido clorídrico (grau analítico, pureza 37%) foram adquiridos da Dinâmica Química (Indaiatuba, Brazil).

3.2 Preparo de Soluções

Soluções aquosas dos reagentes foram preparadas com água purificada em sistema Milli-Q *Reference A+* (Millipore, Milford, EUA). Soluções estoque individuais contendo 100 mg/L de bisfenol A e de bisfenol A-d16 foram preparadas em ACN e mantidas em refrigerador a -20 °C. Soluções de trabalho foram preparadas diariamente, em ACN, à partir de diluições sucessivas das soluções estoque. A solução tampão acetato/ácido acético 0,2 mol/L foi preparada pela dissolução de massa apropriada de acetato de sódio em água seguido do ajuste até pH 5,4 utilizando pequenas adições de solução 1,0 mol/L de ácido clorídrico. Uma solução 40.000 U da enzima β-glucuronidase/arilsulfatase foi preparada diariamente em tampão acetato/ácido acético e estocada a -20 °C.

Urina sintética foi preparada conforme Rocha *et al* [300] adicionando-se 0,76 g de KCl, 1,7 g de NaCl, 0,23 g de KHPO₄, 0,12 g de NaOH, 0,094 g de NaHCO₃, 4,9 g de ureia, 0,2 g de ácido cítrico, 0,07 g de ácido ascórbico, 0,28 g de creatinina e 56 μL de ácido sulfúrico em 250 mL de água ultrapura. A solução resultante permaneceu sob agitação por 60 min e, em seguida, foi levada a banho ultrassônico por 10 min a 30 °C, sendo posteriormente armazenada a 4 °C.

3.3 Amostragem de urina

O número de participantes no estudo foi estipulado por meio do sistema *OpenEpi - Toolkit Shell for Developing New Applications*, o qual utilizou dados da Secretaria de

Educação, do mapa nacional da obesidade da ABESO referente ao ano de 2015 [301] e um estudo piloto sobre obesidade infantil previamente realizado pelas pesquisadoras. A partir destas considerações, o sistema retornou o valor de 343 indivíduos para garantir uma amostragem representativa. Nove escolas públicas na região da Ceilândia foram randomicamente selecionadas e o número de indivíduos foi distribuído, também de maneira randômica, entre estudantes do 1º, 2º e 3º anos do Ensino Fundamental, considerando a mesma proporção de alunos por escola. Após assinatura do TALE ou TCLE, cada responsável forneceu uma amostra de urina da criança participante, com aproximadamente 15 mL em um tubo plástico, totalizando 343 amostras coletadas entre março e outubro de 2017. Após coletada, a amostra foi armazenada em freezer -80°C até a realização dos ensaios voltados à quantificação de BPA.

3.4 Microextração líquido-líquido de bisfenol A

O preparo das amostras de urina foi adaptado de Yang *et al* [282] e envolve etapas de hidrólise do conjugado [BPA-ácido glucurônico] e posterior extração do BPA total por microextração líquido-líquido. Neste procedimento, foi incluída uma etapa de filtração fina (membrana 0,22 µm).

As amostras de urina foram transferidas para refrigerador comum (-20°C) e, em seguida, mantidas à temperatura ambiente imediatamente antes das análises para permitir o descongelamento e a posterior homogeneização. A Figura 4.1 mostra o aspecto de uma amostra após cada uma destas etapas. As amostras foram então centrifugadas a 4000 rpm por 10 min (KCS, Kindly, Guarulhos, Brasil) e alíquotas de 2,0 mL do sobrenadante, em triplicata, foram retiradas com micropipeta (LM1000, Labmate Soft, Johnsonville, Nova Zelândia) e enriquecidas com 5,0 ng do padrão interno *surrogate* (BPA-d16), com auxílio de seringa do tipo *gastight* (1702N, Hamilton Marca, Reno, EUA). Ao sobrenadante foram também adicionados 1,0 mL de solução tampão acetato/ácido acético e 2000 U de β-glucuronidase/arilsulfatase utilizado para desconjugação do BPA. Esta mistura foi incubada durante 12 h, no escuro, à 37 °C em banho térmico (Dubnoff, Ethiktechnology, Vargem Grande Paulista, Brasil). Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de ACN e 3,0 mL de EtAc para promover a extração do BPA. A mistura resultante foi homogeneizada em agitador *vortex* (AP56, Phoenix Lufenco, Araraquara, Brasil) onde verificou-se a formação de duas fases distintas, uma orgânica e uma aquosa, além da formação de emulsão contendo proteínas entre as duas fases. A Figura 4.2 mostra o aspecto da amostra

após estas etapas. Após agitação, a mistura foi levada a banho ultrasônico (8893, Cole-Parmer, Burlington, EUA) durante 10 min, a 37 °C, seguida de uma nova etapa de centrifugação a 4000 rpm por 10 min. A fração orgânica foi então coletada com auxílio de micropipeta, filtrada em membrana de PVDF (fluoreto de polivinilideno) de 0,22 µm de porosidade (Millex GV, Millipore, Cork, Irlanda) e evaporada em sistema concentrador (TE-019, Tecnal, Piracicaba, Brazil) sob fluxo de N₂ (White Martins, Rio de Janeiro, Brasil) até volume final de 200 µL de extrato, que foi aferido com micropipeta. Caso o volume aferido fosse inferior, algumas gotas de ACN foram adicionadas até se obter os 200 µL.

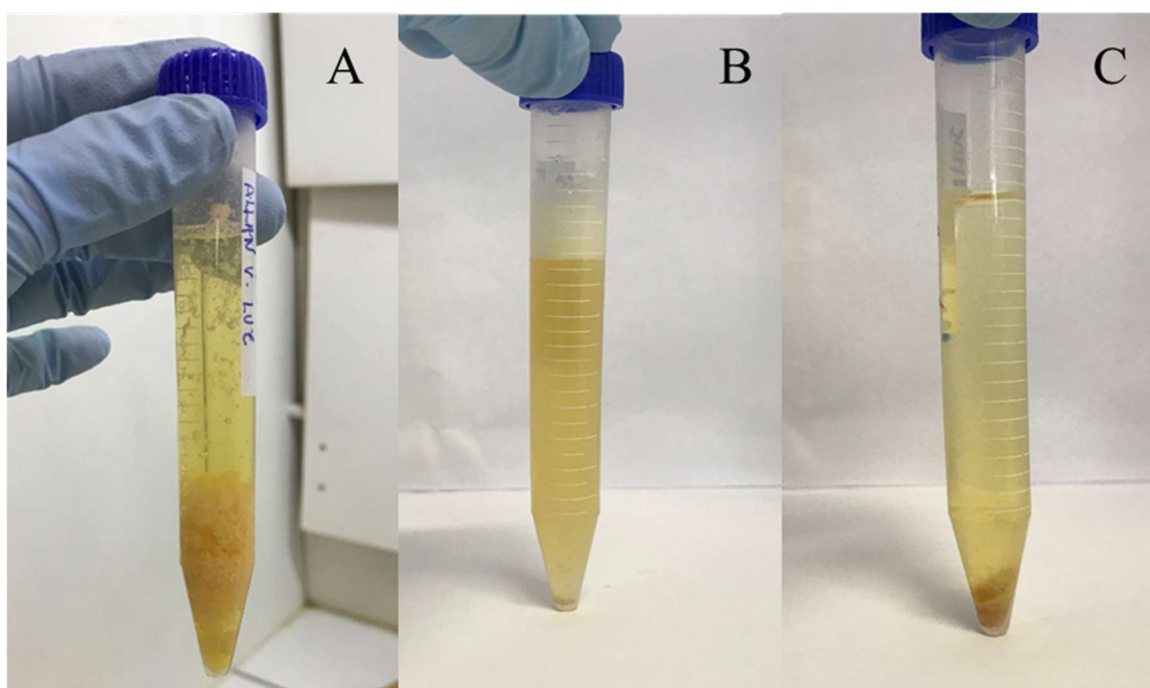


Figura 4.1: Amostra de urina após descongelamento lento (A), homogeneizada (B) e após a primeira etapa de centrifugação (C)

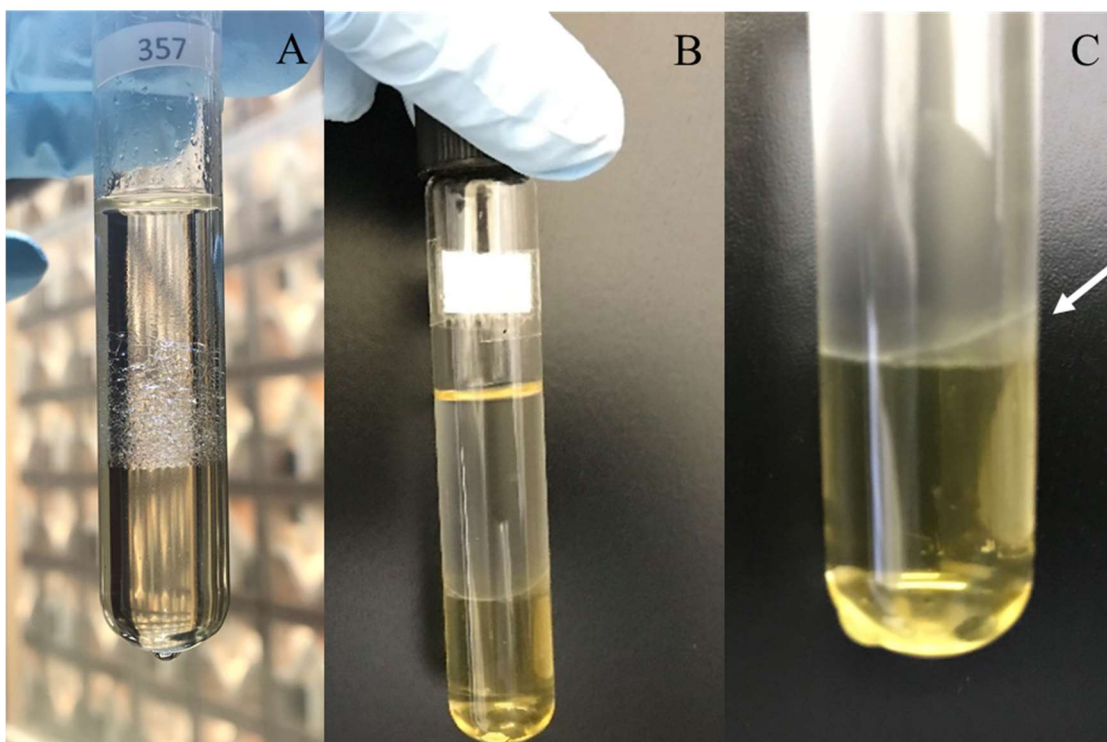


Figura 4.2: Separação das fases orgânica e aquosa (A), turbidez (B) e detalhe mostrando a emulsão contendo proteínas entre as fases (C).

3.5 Determinação de BPA nas amostras

A determinação de BPA foi realizada por cromatografia líquida de ultra-eficiência (UltraLC 100-XL, Eksigent, Redwood City, EUA) acoplada a espectrometria de massas de alta resolução em equipamento híbrido quadrupolo-tempo-de-voo (QTOF, TripleToF 5600+, Sciex, Toronto, Canada). A separação cromatográfica foi realizada em uma coluna de fase reversa Zorbax Extend-C18 (4,6×50 mm, 1,8 μ m, Agilent, Palo Alto, EUA) por meio de um gradiente construído com água e ACN como fases móveis, ambas enriquecidas com 0,1% de hidróxido de amônio, adicionado como aditivo para favorecer a ionização dos analitos e permitir maior detectabilidade no sistema QTOF e foi realizada à temperatura de 35 °C, sob vazão de 400 μ L/min, mantendo-se a concentração relativa de ACN em 50% por 1,5 min, seguido do aumento para 55% em 0,5 min, do aumento para 60% em 1,0 min e do aumento para 100% em 1,0 min. Esta composição foi mantida por 0,5 min para limpeza da coluna e a condição inicial foi reestabelecida em 0,5 min. O volume injetado de soluções e extratos foi de 8,0 μ L.

A interface entre o cromatógrafo líquido e o espectrômetro de massas foi estabelecido por uma fonte de ionização por *electrospray* (ESI) (Dual-Spray, Sciex) operando no modo negativo à -4500 V, sob temperatura de 600 °C, utilizando N₂

produzido e purificado em gerador Genius 3031 (Peak Scientific, Haverhill, EUA) como gás de dessolvatação (*curtain gas*) à 25 psi, gás de nebulização (GS1) à 40 psi e gás de secagem (GS2) à 40 psi.

As substâncias BPA e BPA-d16 foram analisadas no modo de monitoramento de reações múltiplas em alta-resolução (do inglês, *high-resolution multiple reaction monitoring*, HR-MRM). Considerando que ambas as substâncias foram analisadas no modo negativo, o íon precursor para ambas consistiu nas moléculas desprotonadas, representadas por $[M-H]^-$. A Tabela 4.1 traz as transições HR-MRM selecionadas para cada substância, bem como os parâmetros de aquisição empregados

Tabela 4.1: Parâmetros de aquisição usados para determinação de bisfenol A e de seu isótopo deuterado por espectrometria de massas de alta-resolução (QTOF).

Substância	Massa Teoria (g mol ⁻¹)	DP (V)	Transição precursor-produto (m/z)	EC (eV)	RT (min)	Erro de massa (ppm)
BPA	228,1150	-20	227,1065→211,0775 227,1065→133,0789	-33	2,25	3,1
BPA-d16	244,2402	-25	241,1945→223,1585 241,1954→142,1588	-40	2,25	92

BPA: bisfenol A, BPA-d16: bisfenol A deuterado, DP: potencial de orifício, EC: energia de colisão, RT: tempo de retenção cromatográfico. Janela de extração utilizada de 0,0005 Da

Experimentos de fragmentação, foram realizados para identificação de íons precursores e produtos. Para tal, foram empregadas soluções individuais dos analitos, preparadas na concentração de 200 ng/mL em ACN modificada com 0,1 % de NH₄OH e injetadas por infusão direta, onde uma seringa do tipo *gastight* (Hamilton, 1001TLL, 1,0 mL) foi conectada diretamente à fonte de ionização e as soluções foram impulsionadas a 20 µL/min. Os parâmetros de fonte, a saber, gás de dessolvatação (20 psi), nebulização (GS1 = 15 psi) e de secagem (GS2 = 20 psi) e voltagem (-4500V), foram utilizados com valores *default* do equipamento. Tendo-se em vista o caráter qualitativo desta etapa, estes parâmetros e o baixo fluxo utilizados não implicam em prejuízo para a identificação das moléculas ionizadas e suas transições. Posteriormente, otimizações univariadas foram conduzidas para os parâmetros de fonte. O software Analyst® (versão 1.6.1) foi utilizado para aquisição dos dados, enquanto o tratamento dos mesmos foi realizado utilizando os softwares Peak View® (versão 2.1) e Multiquant® (versão 3.0.2), ambos integrados com o software Analyst®.

A quantificação de BPA foi realizada por meio da construção de curva analítica por superposição de matriz, preparada em urina sintética, com padronização interna.

Neste caso, o sinal analítico do BPA foi normalizado pelo sinal do padrão interno *surrogate* (BPA-d16, adicionado anteriormente a incubação da amostra) resultando em um valor referente à razão entre as áreas cromatográficas de ambas as substâncias. Treze soluções-padrão foram preparadas em urina sintética com concentrações crescentes de BPA, na faixa de 1,0 a 2000 ng/mL, e concentração fixa de 50 ng/mL de BPA-d16. Soluções controle (branco processual) de urina sintética, enriquecidas com BPA-d16 e enzima, foram analisadas periodicamente para verifica possíveis contaminações, e o espectrômetro de massas foi calibrado a cada quatro injeções com a solução APCI *Negative Calibration Solution* (Part N. 4460134, Sciex, Forster City, EUA) para manter a calibração da massa acurada.

3.6 Validação de método

O método foi validado por meio de Análise de Variância (ANOVA), ensaios de recuperação, efeito de matriz, precisão, e outras figuras de mérito. A linearidade da curva foi avaliada pelo coeficiente de correlação (R^2) obtido da regressão linear por mínimos quadrados, e a significância estatística da regressão e a falta de ajuste foram avaliadas por Teste F.

Um fator de concentração (FC) de 10 foi obtido durante o preparo de amostra no qual 2,0 mL de amostra foram reduzidos à 0,2 mL de extrato. O limite de quantificação do método (mLOQ) levou em consideração o menor ponto da curva analítica dividido por FC, enquanto que o limite de detecção foi obtido dividindo-se mLOQ por 3.3

Para os ensaios de recuperação e efeito de matriz, foi utilizada uma amostra composta, preparada pela mistura de dez amostras individuais cuja quantificação de BPA mostrou-se abaixo de mLOD, sendo, portanto, consideradas livres de BPA. A amostra composta foi submetida a centrifugação e duas alíquotas de 2,0 mL foram retiradas. A primeira foi fortificada com 2,5 ng/mL de BPA e 5,0 ng/mL de BPA-d16 anteriormente à MELL. Em seguida, foi submetida ao processo de extração e secagem e denominada E₂. A segunda alíquota foi fortificada com 5,0 ng/L de BPA-d16 anteriormente à extração, e então submetida à MELL e secagem. Em seguida foi fortificada com 25 ng/L de BPA, sendo denominada E₃. A recuperação (R%) foi calculada pela razão das concentrações normalizadas de BPA nos extratos E₂/E₃.

Ensaio para avaliar o efeito de matriz foram conduzidos em paralelo com os de recuperação. Neste caso, uma alíquota de 2,0 mL de água Milli Q foi fortificada

previamente à extração com 2,5 ng/mL de BPA e 5,0 ng/mL de BPA-d16, e submetida à MELL e secagem e denominada de E₁. O Efeito de matriz (EM %) foi calculado pela razão das concentrações normalizadas de BPA nos extratos E₃/E₁ [302].

A precisão do método foi avaliada por meio de ensaios de precisão realizados tanto no mesmo dia (intra-dia), quanto em dias diferentes (inter-dia). No primeiro caso três alíquotas de uma mesma amostra foram submetidas separadamente ao processo de extração e secagem. Cada extrato foi injetado em triplicata no mesmo dia, e o coeficiente de variação para as três determinações foi estimado pela Equação 8.

Para avaliar a precisão inter-dia foram utilizadas cinco amostras. De cada amostra foram separadas três alíquotas, que foram submetidas à extração e secagem, uma réplica de cada amostra por dia, ao longo de três dias consecutivos. Cada alíquota foi injetada em triplicata. Para estimar a precisão inter-dia, foram calculados os coeficientes de variação (CV%) para cada triplicata autêntica. A precisão instrumental também foi avaliada por meio dos valores de CV% estimados para cada triplicata de injeção.

Para avaliar a exatidão, foram estimados os valores de recuperação em cada ensaio (E₁, E₂ e E₃) pela Equação 23 onde, C_{Ext} representa a concentração de analito no extrato estimada pela curva analítica, e C_{Sp} representa a concentração de referência, dada pelo enriquecimento (*spike*) de analito ao extrato.

$$R(\%)_{Ensaio} = \frac{C_{Ext}}{C_{Sp}} \quad (23)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seleção de parâmetros instrumentais

A Figura 4.3 mostra um espectro de massas no qual encontram-se as razões massa carga (m/z) dos íons precursores e os íons produto identificados.

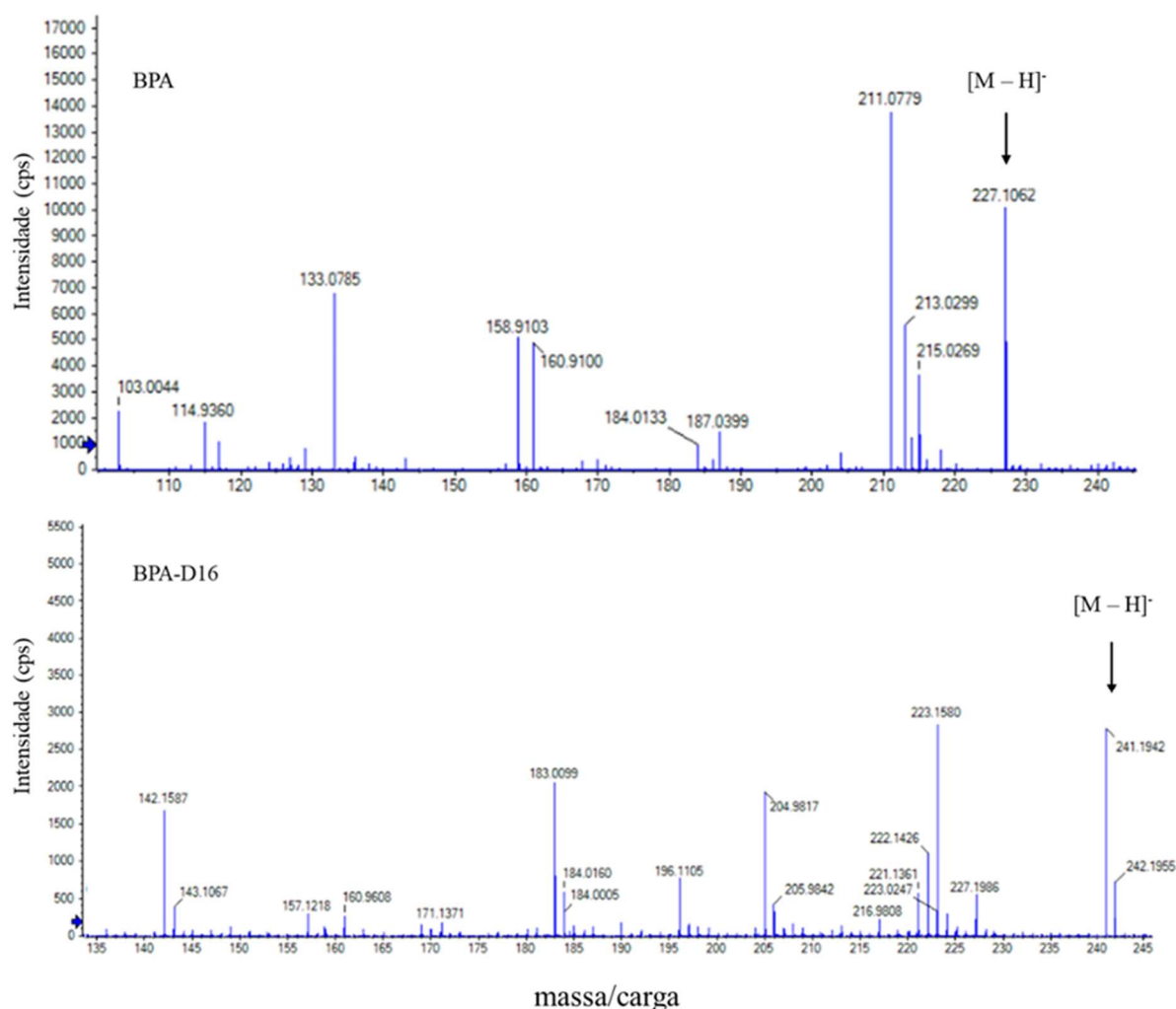


Figura 4.3: Espectro de massas obtido por infusão direta para BPA (A) e BPA-d16 (B). DP = -80 eV e EC = 25 eV.

Para o BPA, o fragmento mais abundante apresentou razão m/z 211,0775, e foi escolhido para quantificação de BPA e como qualificador foi escolhido o íon produto 133,0789. Já para o BPA-d16, foi escolhido o fragmento com $m/z = 223,1585$ para normalização do sinal, e $m/z = 142,1588$. Uma vez estabelecidos quais íons precursores e íons produto seriam monitorados, foi desenvolvido um método cromatográfico para permitir a separação de BPA. Apesar do gradiente cromatográfico ser empregado para a determinação de apenas uma substância e seu análogo marcado isotopicamente, a amostra a ser analisada possui grande quantidade de compostos interferentes que podem competir com os analitos durante a ionização na fonte ESI, e assim, prejudicar a detecção dos mesmos. Para contornar este revés, neste trabalho, foi empregada a calibração por superposição de matriz, na qual as soluções padrão de BPA e BPA-d16 (que compõe a curva analítica) são preparadas em uma matriz sintética que é submetida a todo o

procedimento de preparo de amostra. Ao final do preparo, o extrato resultante é injetado no LC-MS/MS para construção da curva analítica.

Ajustes no método cromatográfico foram feitos de maneira univariada. Diferentes gradientes cromatográficos foram testados até se obter um pico bem definido como os maiores valores possíveis de relação sinal/ruído. A separação cromatográfica foi realizada à 35°C já que esta temperatura proporcionou diminuição da viscosidade do solvente reduzindo a pressão do sistema. Durante as análises otimizou-se o volume de 8 µL para injeção de extratos e demais soluções, a partir de ensaios univariados nos quais foi constatada a diminuição da área do cromatograma de íons extraído (XIC, do inglês *extracted ions chromatogram*), sinal analítico referente a transição utilizada para quantificação sob volumes menores injetados, acarretando perda de detectabilidade. Volumes maiores não foram avaliados devido aos limites impostos pela dimensão da coluna cromatográfica.

O gradiente obtido teve, dentre outros objetivos, permitir que impurezas eventualmente presentes na matriz fossem eliminadas antes da eluição dos compostos de interesse. Devido a maior solubilidade do BPA em ACN, optou-se por iniciar a corrida cromatográfica com 50% de fase aquosa, o que permitiu a obtenção de um tempo de retenção do analito próximo a dois minutos, momento em que foi rapidamente eluído com porcentagem relativa de ACN superior a 60%. Porcentagens relativas maiores de ACN permitem a adequada limpeza da coluna. Por fim, com o retorno às condições iniciais, foi obtido o adequado condicionamento da coluna para a próxima injeção.

No sistema de espectrometria de massas, os valores de DP e EC foram determinados empiricamente de forma a se obter a maior intensidade possível do fragmento de quantificação. A Figura 4.4 exibe o cromatograma de íons extraídos com as transições utilizadas para quantificação e identificação para BPA e para BPA-d16.

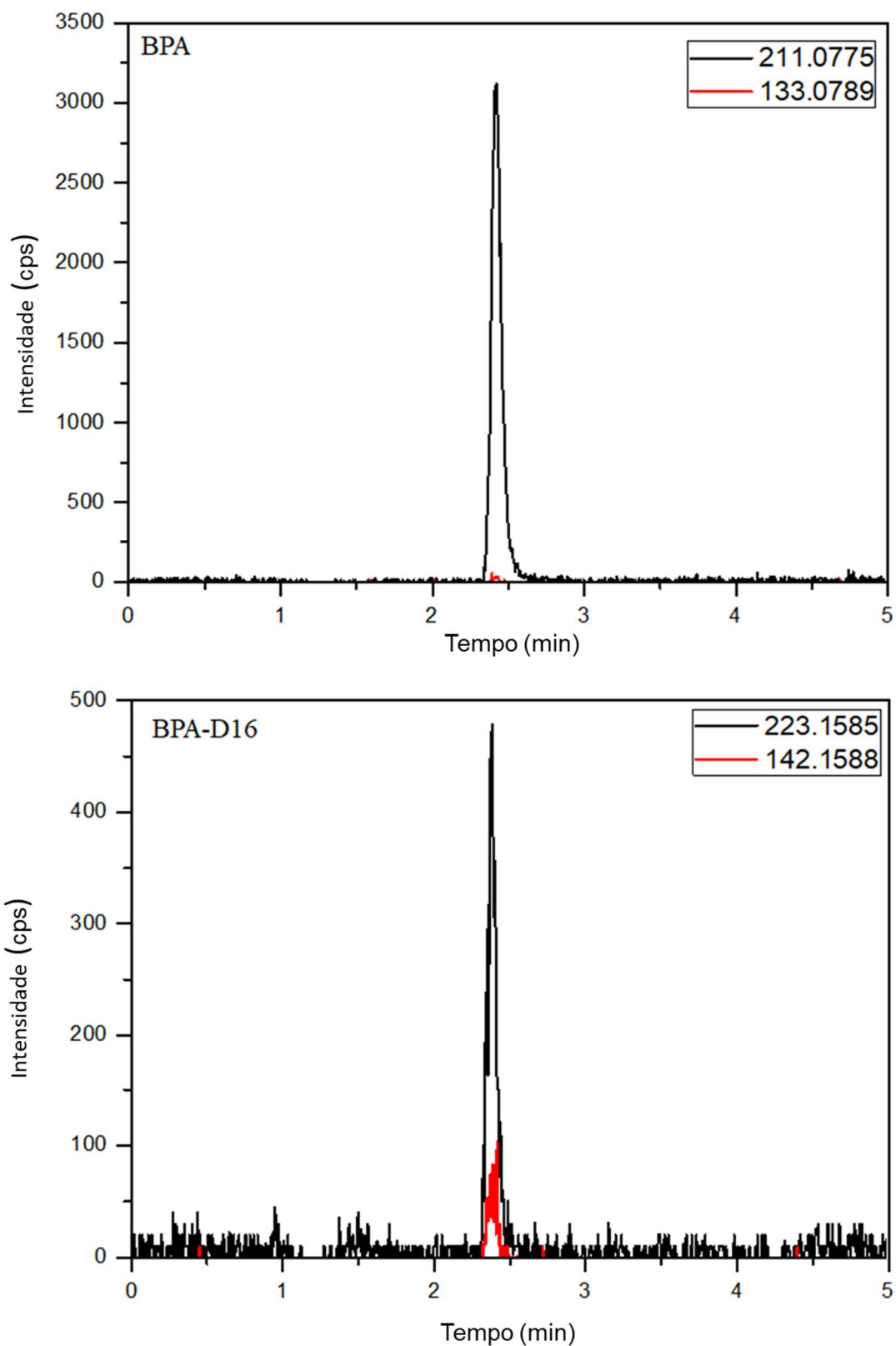


Figura 4.4: Cromatograma de íons extraído (XIC) obtido para os íons produto de BPA, na concentração de 100 ng/mL, e BPA-d16, com 50 ng/mL. Em cada gráfico, são assinalados os íons produto aos quais os cromatogramas se referem. Em preto está a transição utilizada para quantificação e em vermelho a transição de confirmação. A janela de extração utilizada foi de 0,0005 Da.

A Figura 4.4 mostra que as intensidades do íon produto com m/z 211,0775 é bastante superior ao do íon produto 133,0789, que apenas é utilizado para confirmação. Conforme esperado, os íons produto 223,1585 e 142,1588 provenientes do BPA-d16 são eluídos no mesmo tempo de retenção que BPA e que a intensidade do sinal do BPA-d16, é menor do que a de BPA, mesmo se considerarmos as concentrações. É possível que durante a ionização haja perda de BPA—d16 devido a trocas protônicas, resultando em diminuição de seu sinal analítico.

4.2 Desempenho do método analítico.

Com os parâmetros instrumentais selecionados, o método desenvolvido foi validado por meio de ensaios de recuperação, efeito de matriz, linearidade, precisão e outras figuras de mérito. Para avaliar a linearidade, uma curva analítica construída por superposição de matriz com padronização interna do tipo *surrogate* foi construída com 13 soluções padrão, correspondendo a faixa de 1,0 a 2000 ng/mL. Todas as soluções padrão apresentaram uma concentração fixa de 50 ng/mL de BPA-d16. A Figura 4.5 apresenta uma curva analítica obtida.

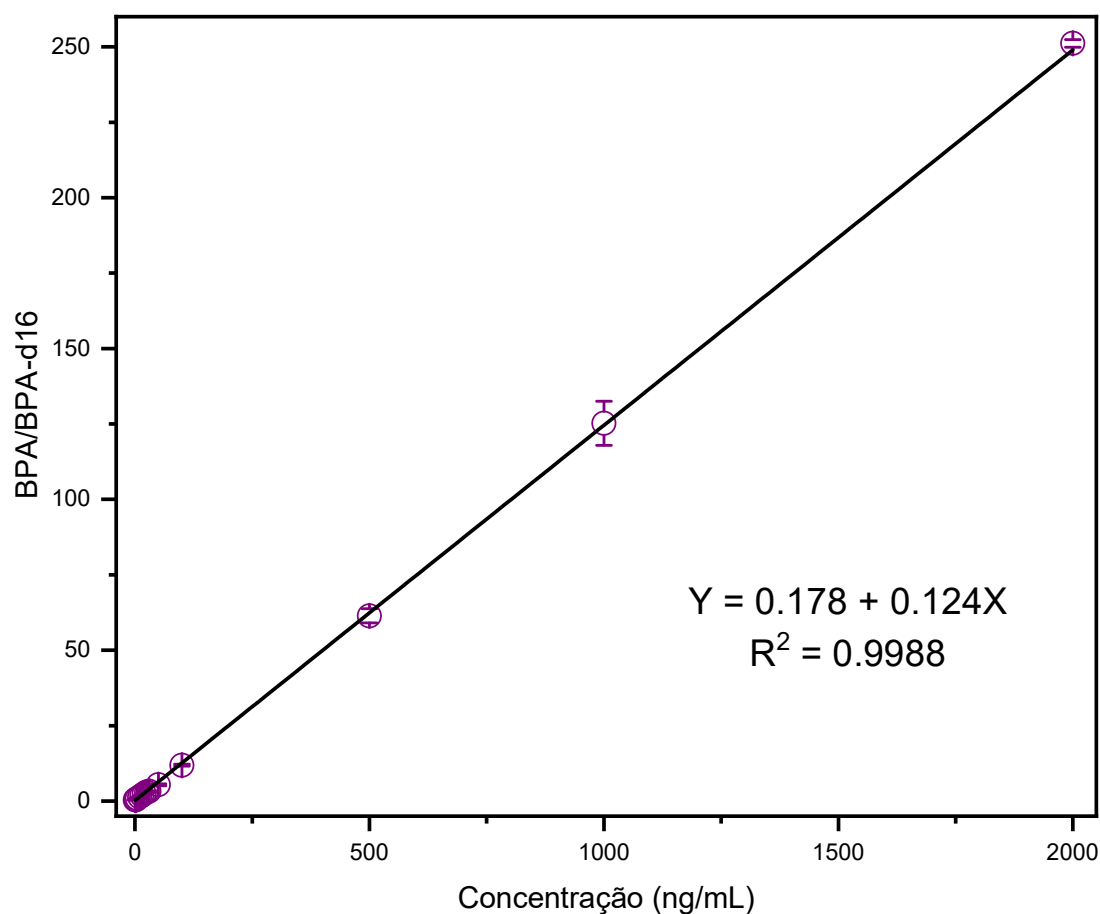


Figura 4.5: Curva analítica por superposição de matriz com padronização interna para determinação de BPA em amostras de urina.

A curva analítica apresentou elevada linearidade ($R^2 = 0,998$) e a regressão por mínimos quadrados mostrou-se significativa por meio de ANOVA, onde observou-se que o valor calculado de $F_{(1,37; 95\%)}$ foi de $5,6 \times 10^5$, enquanto o valor de crítico de $F_{(1,37;95\%)} = 4,10$. O elevado valor calculado deve-se a extensão da faixa linear, que cobre 4 ordens de grandeza. Também por meio de teste F constatou-se que não há falta de ajuste, uma vez que o valor calculado de $F_{(11, 26; 95\%)}$ foi de 0,16, sendo portanto inferior ao valor crítico, que corresponde a $F_{(11, 26; 95\%)} = 2,18$.

No nível de concentração do limite de quantificação instrumental (LOQ_i), as replicatas apresentaram coeficiente de variação de 7,1%. Vale ressaltar que outros estudos realizados com amostras de urina também reportam valores de CV entre 3-16%, devido à complexidade das amostras [282,303,304], sendo assim, a variação percentual obtida no presente estudo foi considerada adequada para fins analíticos. Já os valores de $mLOQ$ e $mLOD$ foram de 0,10 e 0,03 ng/mL, respectivamente. Estes valores são mais de 10

vezes menores do que outros LOQs e LODs reportados na literatura para acessar concentrações de BPA urinário, cujos valores médios variam de entre 0,35 a 10,6 ng/mL [303,305–308], mostrando-se, portanto, coerentes com valores determinados em diversos estudos.

A padronização interna foi empregada com o intuito de corrigir possíveis perdas de analito durante o preparo de amostra. Esta estratégia foi avaliada por meio do cálculo da recuperação (R%), estimado pela Equação 18 como sendo de $86 \pm 14 \%$. Outros estudos realizados com LLE reportam elevadas recuperações, como Asimakopoulos *et al* [19] obtiveram 71.9-114% porém utilizando 9 mL de solvente em um preparo de amostra que durou 3,5h por amostra, desconsiderando o tempo de hidrólise do conjugado glucuronidado, enquanto no presente trabalho, a MELL utilizou 5 mL de solvente e levou 20 min por amostra. A variação microextração líquido-líquido dispersiva (DMLLE) também pode proporcionar elevadas R%, como demonstrado por Vela-Soria *et al* [309] (96 - 102%) e Jiménez-Díaz *et al* [305] (R% entre 89-108%). Entretanto, nestes estudos, o volume de amostra consumido é maior e o preparo de amostra exibe maior complexidade, sendo mais propenso a erros. Diversos trabalhos reportam a eficiência da SPE, e seu uso é bastante difundido devido a facilidade operacional, e por proporcionar bons resultados. Zhou *et al* [310] obteve 88% de recuperação e Chen *et al*. [311] reportou valores variando entre 94,6 e 100,3%. Apesar dos resultados adequados, a SPE a tem maior custo, inviabilizando sua aplicação em determinações de rotina ou para muitas amostras.

A eficiência do emprego da calibração por superposição de matriz com padronização interna foi avaliada pelo cálculo do efeito de matriz (EM%), realizado por meio da Equação 19, a qual retornou o valor de $96 \pm 12 \%$. Este valor indica que houve supressão de sinal analítico em 4%, sendo considerado bastante satisfatório. Os poucos estudos encontrados que realizam a avaliação do EM% em amostras biológicas, reportam que o uso da calibração por superposição de matriz aliado a padronização interna, proporciona estimativas de EM% próximos a 100%, onde não é verificada supressão nem acréscimo de sinal analítico [312] conforme reportado por Sakhi *et al* [313] (EM% estimado em 102%) e Chen *et al* [311] (EM% entre 99.1 e 100.8 %), entretanto, é possível que o emprego destas estratégias se mostre mais eficiente quando o preparo de amostra proporcionar melhor remoção de sais. Venisse *et al* [314] também empregaram esta estratégia de calibração, porém utilizaram LLE assistida por *salting out*. Os autores obtiveram maior supressão de sinal entre 67 – 78%, possivelmente devido a formação de

adutos não monitorados. Considerando os valores de R% e EM%, foi estimada uma eficiência global do processo em $83 \pm 17\%$.

A exatidão do método foi avaliada por meio da recuperação em cada ensaio utilizado para a obtenção dos extratos E₁, E₂ e E₃. Por meio da Equação 23. Esta avaliação permite identificar qual a maior fonte de perdas no processo de extração-análise. o extrato E₁, preparado em água ultrapura, apresentou R% de $98 \pm 7\%$, enquanto E₂ apresentou $82 \pm 12\%$ e E₃ $95 \pm 9\%$ de R% respectivamente. Para o extrato E₁, elevadas recuperações eram esperadas devido à ausência de interferentes na solução, uma vez que este é preparado em água ultrapura. Já o valor de R% apresentado para E₃ (preparado em amostra composta de urina) indica que a correção de sinal devido a padronização interna foi eficiente. Já no em E₂, pode-se observar que há perda de analito durante o processo de MELL. Conforme demonstrado por Asimakopoulos *et al* [19], maiores recuperações podem ser obtidas realizando extrações sequenciais. Entretanto, os tempos de análise e consumo de solventes seriam maiores.

A precisão intra-dia e inter-dia também foram avaliadas por meio do coeficiente de variação (CV%), que são apresentados na Tabela 4.2. No primeiro caso, a variação percentual obtida para três determinações independentes conduzidas em triplicatas durante o mesmo dia, teve variação percentual inferior a 8%. No segundo caso, três determinações independentes foram realizadas para 5 amostras distintas, todas em triplicata, e conduzidas ao longo de três dias consecutivos revelaram variações percentuais inferiores a 12%. Em ambos os casos, os valores de CV% são considerados satisfatórios para fins analíticos e bioanalíticos [315].

Tabela 4.2 Valores médios e coeficientes de variação para ensaios de precisão intra-dia (n=1, em triplicata) e inter-dia (n=5, em triplicata).

Precisão	Amostra	Média (ng/mL)*	CV %*
Intra-dia	Amostra	1,23	7,48
	Amostra 1	2,4	10,7
Inter-dia	Amostra 2	2,7	7,98
	Amostra 3	2,4	11,0
	Amostra 4	0,89	6,17
	Amostra 5	4,1	3,75

*referente às replicatas autênticas; No CV%, os algarismos significativos foram baseados na significância do desvio padrão referente às replicatas autênticas.

4.3 BPA em amostras de urina

Com o método validado, procedeu-se a quantificação de BPA nas amostras de urina. Um total de 343 amostras de urina foram analisadas sendo que o BPA foi detectado em 89,5% delas. Cinco amostras apresentaram concentrações menores que mLOQ e duas apresentaram resultados significativamente imprecisos, sendo inconclusivos e reportados como não-analisados (NA). Trinta e quatro amostras apresentaram concentrações abaixo mLOD sendo então reportadas como não-detectadas (ND). Dentre as amostras reportadas com concentrações acima de mLOQ, a concentração de BPA variou de 0,11 a 123 ng/mL. Os valores médios, medianos e a média geométrica foram de 3,9, 1,5 e 1,46 ng/mL, respectivamente. Valores corrigidos por creatinina correspondem a 5,13, 1,64 e 1,76 ng/mL, respectivamente, com valores mínimo e máximo de 0,08 250,6 ng/mg. A distribuição das concentrações de BPA nas amostras em percentis é representada na Figura 4.6 e a Figura 4.7 apresenta um histograma com a distribuição das amostras em cada faixa de concentração de BPA.

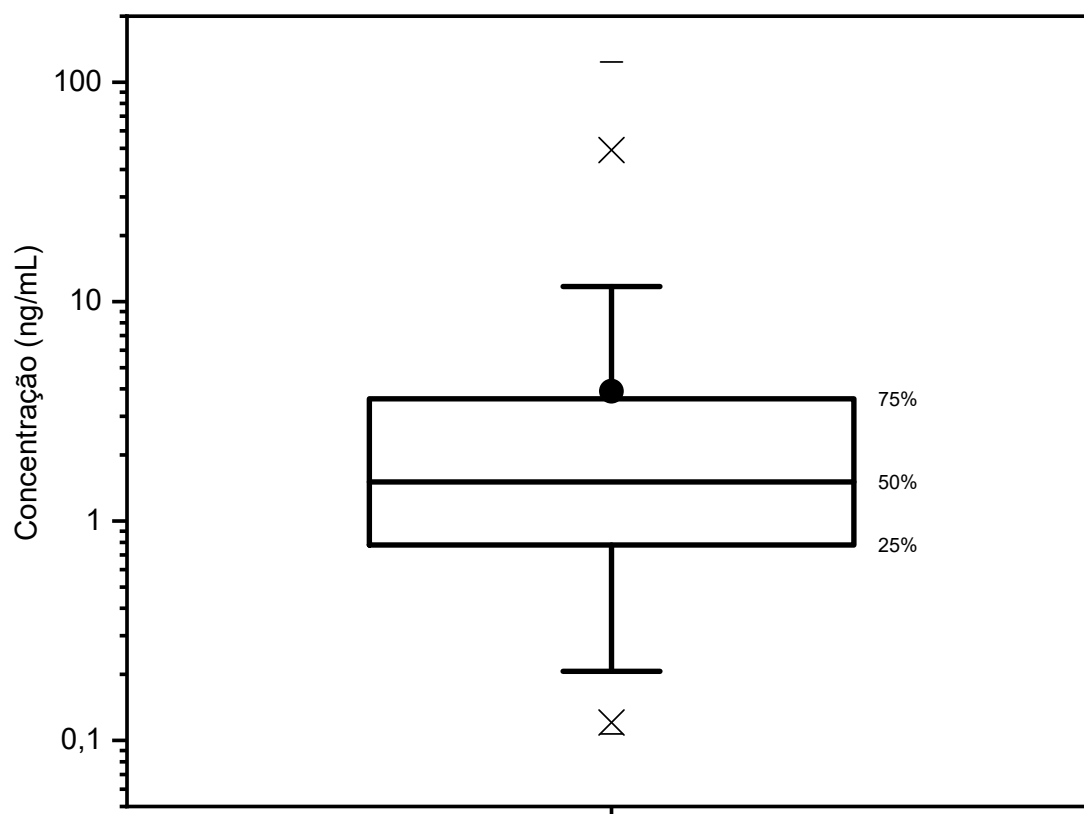


Figura 4.6: Box-plot das concentrações de BPA em amostras de urina. No quadrado central estão representados os percentis 25%, 75% e a mediana. As barras marcadas, representam os percentis 5% e 95%. As barras nas extremidades, já na parte externa ao quadrado marcam os valores mínimo e máximo, e por fim, as marcas em x compreendem de 1 a 99 % das amostras analisadas.

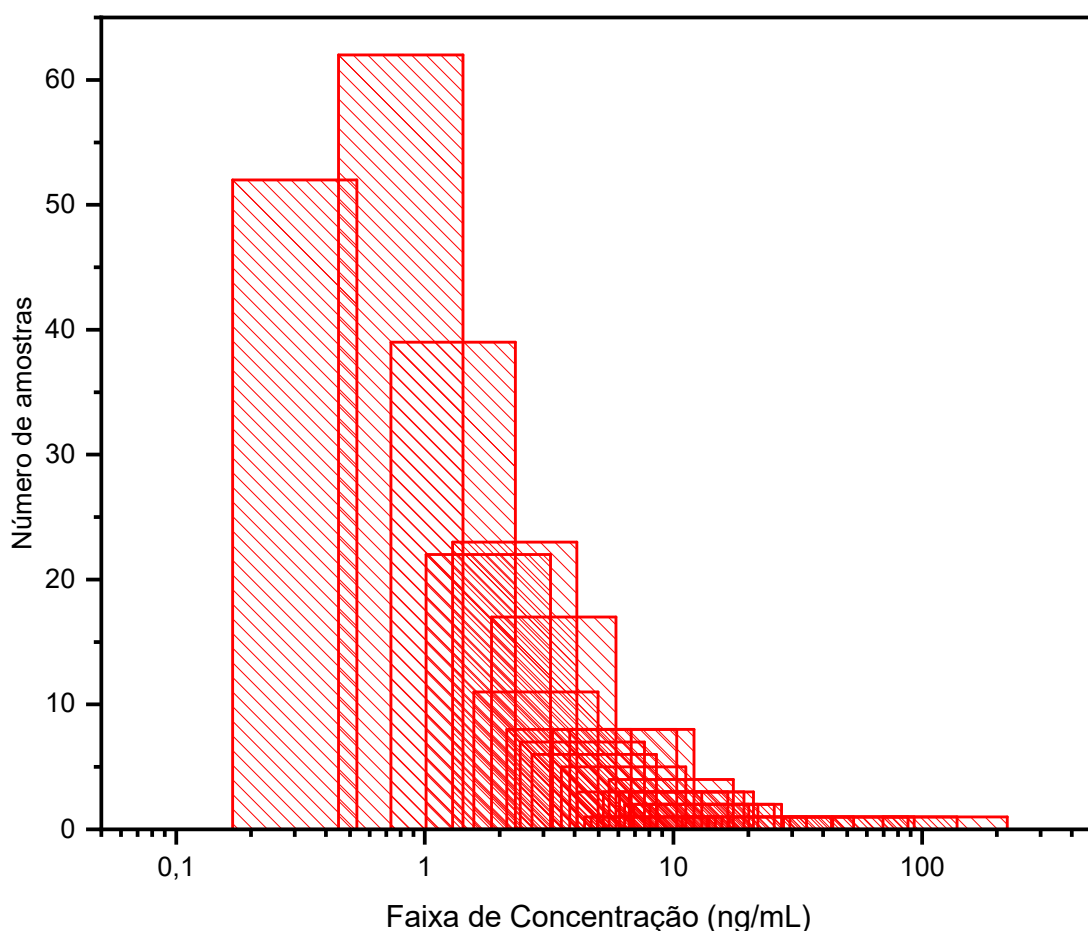


Figura 4.7: Histograma de distribuição das amostras de acordo com a faixa de concentração.

O histograma mostra que a maioria das amostras apresenta concentração de BPA inferior a 10 ng/mL, coerente com os estudos anteriormente citados. 22 amostras apresentaram concentração acima de 10 ng/L e em partículas 4, apresentam valores entre 45 e 123 ng/mL. Valores semelhantes foram encontrados em outros estudos como Correia Sá *et al* [303], Myridakis *et al* [316] e Cutanda *et al* [304] os quais sugerem que as elevadas concentrações de BPA podem estar atreladas aos hábitos alimentares.

Os resultados obtidos nestes estudos foram comparados com os de Rocha *et al* [18], trabalho no qual, até esta data, constitui o único estudo brasileiro a monitorar a presença de BPA em matrizes biológicas. Em um estudo de abrangência nacional, os autores realizaram a determinação de BPA em amostras de urina de 300 crianças, distribuídas entre as 5 regiões brasileiras, das quais apenas 31 correspondem à região Centro-Oeste, onde o município de Ceilândia se encontra. Considerando as 300 amostras, a frequência de detecção reportada foi de 98 %, com média geométrica, valor mínimo e

máximo obtidos de 1,74, 0,3 e 35,9 ng/mL, respectivamente para dados não corrigidos por creatinina. Os autores reportam que a média geométrica para dados nacionais com correção é de 2,09 ng/mg e considerando apenas a Região Centro-Oeste, o valor médio de concentração urinária de BPA não corrigida é de 2,50 ng/mL. Este valor é mais próximo dos resultados obtidos no presente estudo (média aritmética não corrigida de 3,9 ng/mL), do que os resultados referentes a concentração média obtida para a totalidade do território brasileiro. As diferenças nos valores provavelmente devem-se a representatividade da amostra. Enquanto Rocha *et al* [18] utilizou apenas 31 amostras para representar a região Centro-Oeste, no presente estudo as 343 amostras são provenientes da região em estudo, de forma que diferentes realidades socioeconômicas são contempladas. Tais informações não podem ser extraídas do estudo dos autores, limitando as possibilidades de comparação.

Em comparação com outros estudos, Sakhi *et al* [271], realizaram a determinação de BPA em amostras de 54 crianças norueguesas, sendo encontrado em todas com concentração média de 4,54 ng/mL, e média geométrica de 3,70 ng/mL. Estes resultados são compatíveis com a média aritmética obtida neste trabalho. Outros resultados semelhantes foram apresentados por Myridakis *et al* [316] ao determinar as concentrações de BPA urinário em amostras de 390 crianças gregas. Os autores também reportam elevadas frequências de detecção (99,6%) com média aritmética de 4,5 ng/mL, média geométrica de 2,0 ng/mL e concentrações individuais variando entre 2,1 e 68,7 ng/mL. Correia-Sá *et al* [274] realizaram a quantificação de BPA em amostras de 12 crianças italianas. Semelhantemente a Sakhi *et al* [313], a frequência de detecção foi de 100 %, com valores entre 1,5 e 48,9 ng/mL, sendo o valor médio de 10,6 ng/mL, e com média geométrica de 6,35 ng/mL. Um fato particular sobre a pesquisa realizadas consiste em 2/3 dos voluntários apresentarem quadros de obesidade/sobrepeso. Apesar de os valores para médias aritméticas e geométricas serem superiores aos dos demais estudos apresentados, correlações entre as concentrações de BPA urinário e o excesso de peso dos participantes não foram identificadas pelos autores, provavelmente devido ao pequeno número de amostras.

Estes estudos mostram concentrações elevadas de BPA em amostras de urina quando comparados com as médias norte americana (1,5 ng/mL) [317], dinamarquesa (1,7 ng/mL) [318] e sueca (1,3 ng/mL) [319]. Lakind e Naiman [320] e Larsson *et al* [319] reportaram tendências a diminuição das concentrações urinárias de BPA, possivelmente devido ao enfoque negativo que este composto tem atraído juntamente com regulações

que proíbem o uso de BPA em produtos dedicados a crianças, além de sua substituição por outros que proporcionem os mesmos benefícios [321].

4.4 Associação da concentração de BPA urinário com excesso de peso em crianças.

Este desfecho foi objeto de estudo das pesquisadoras Prof. Dra Angélica Amato e Prof. Dra Priscilla Rocha, da Faculdade de Saúde- FS-UnB. Para esta análise, as autoras [322] consideraram 319 amostras, devido a disponibilidade de dados referentes aos participantes, sendo que 285 apresentaram concentração de BPA acima de mLOD e 34 amostras com concentrações abaixo de mLOD. Para as amostras consideradas, os valores brutos de concentração urinária de BPA foram corrigidos pelo doseamento individual de creatinina, e para este conjunto de amostras, o valor médio das concentrações foi de $(4,62 \pm 17,04)$ ng/mg de creatinina. Em seguida, utilizando os valores corrigidos, as concentrações de BPA urinário foram apresentadas em intervalos interquartílicos, a fim de avaliar o grau de dispersão dos espalhamentos em torno da medida de centralidade.

Foram avaliadas também, algumas variáveis clínicas e demográficas (como gênero, idade, renda familiar, grau de escolaridade dos pais, consumo de produtos industrializados, prematuridade e peso ao nascer, entre outros) e a distribuição destas características em cada intervalo interquartílico. Para verificar se houve diferença entre a distribuição das características analisadas (clínicas, demográficas) e a exposição ao BPA (determinada pelos quartis), foi utilizado o teste do Qui-quadrado para as variáveis categóricas e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para as variáveis contínuas, em um intervalo de confiança de 95%, com valor significativo para $p < 0,05$. Conforme reportado pelas autoras [322], a única variável que apresentou diferença significativa foi a renda familiar, onde se observou ser significativamente menor no quarto quartil de concentração urinária de BPA (maior concentração urinária), quando comparada ao primeiro quartil (menor concentração). As demais características da amostra não diferiram de acordo com o quartil do BPA.

Na segunda etapa do estudo, foi analisada a associação entre a concentração urinária de BPA ajustada para a creatinina urinária e o desfecho de interesse (excesso de peso). Os participantes foram então agrupados de acordo com o desfecho de interesse (excesso de peso) e através do teste de qui quadrado (variáveis categóricas) e teste exato de fisher (para comparar médias). Foram então calculados a razão de chances (*odds ratio*,

OR), o intervalo de confiança (IC 95%) e valor p para verificar a existência de associação entre a concentração urinária de BPA e a ocorrência de excesso de peso. Considerou-se o primeiro quartil de concentração urinária de BPA como referência, e como significativo um $p < 0,05$. Neste modelo, o valor *Odds Ratio* (OR) reporta o aumento de chance de ocorrência de excesso de peso em relação ao aumento de exposição ao BPA, associado a variável, e o valor de p atesta significância estatística da associação. As distribuições em quartis, os fatores elencados como influenciadores para a exposição ao BPA, os valores de OR, intervalo de confiança e valor de p são mostrados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Associação entre a concentração urinária de BPA e a presença de excesso de peso de acordo com características da amostra (n = 319)^c

			Quartil da concentração urinária de BPA						
			Q1 (< 0,59 ng/mg cr) (n=73)	Q2 (0,59-1,42 ng/mg cr) (n=89)	Q3 (1,42-3,52 ng/mg cr) (n=75)		Q4 (3,52-250,6 ng/mg cr) (n=82)		
	EP/total	% EP	OR	OR	IC (p valor)	OR	IC (p valor)	OR	IC (p valor)
Excesso de peso	68/319	21,3	1 (referência)	1,2	0,53-2,70 0,66 ^a	1,6	0,71-3,62 0,25 ^a	1,75	0,79-3,86 0,16 ^a
Sexo									
Feminino	29/154	18,8	1 (referência)	1,23	0,37-4,04 0,72 ^a	2,34	0,73-7,47 0,14 ^a	1,31	0,39-4,31 0,65 ^a
Masculino	39/165	23,6	1 (referência)	1,09	0,35-3,39 0,87 ^a	1,10	0,34-3,50 0,86 ^a	2,01	0,67-6,01 0,20 ^a
Idade (anos)									
6-8	37/183	20,2	1 (referência)	1,63	0,51-5,22 0,40 ^a	2,13	0,62-7,25 0,21 ^a	2,58	0,84-7,89 0,008 ^a
>8	31/136	22,8	1 (referência)	0,89	0,27-2,90 0,85 ^a	1,19	0,39-3,58 0,75 ^a	1,13	0,34-3,75 0,83 ^a
Peso ao nascer (g)									
<2500*	5/32	15,6	1 (referência)	2,0	0,09-41,0 1,0 ^b	2,4	0,20-27,7 0,61 ^b	4,0	0,36-44,1 0,33 ^b
≥ 2500 – 4000	53/252	21,0	1 (referência)	1,18	0,50-2,76 0,70 ^a	1,53	0,63-3,73 0,33 ^a	1,48	0,62-3,50 0,36 ^a
> 4000	5/15	33,3	1 (referência)	0,40	0,01-10,01 1,0 ^b	0,40	0,01-10,01 1,0 ^b	1,33	0,06-26,61 1,0 ^b
Prematuridade									
Sim	29/123	23,6	1 (referência)	1,14	0,34-3,79 0,82 ^a	0,62	0,16-2,42 0,49 ^a	1,39	0,46-4,17 0,54 ^a
Não	31/154	20,1	1 (referência)	1,05	0,30-3,63 0,93 ^a	1,86	0,55-6,22 0,30 ^a	2,5	0,75-8,30 0,12 ^a
Tempo de aleitamento materno (meses)									
Até 6	16/86	18,6	1 (referência)	3,15	0,31-31,29 0,63 ^b	3,33	0,35-33,11 0,37 ^b	5,83	0,64-52,88 0,12 ^b

> 6	47/220	21,3	1 (referência)	1,05	0,41-2,68 0,90 ^a	1,50	0,59-3,82 0,38 ^a	2,20	0,82-5,83 0,10 ^a
Renda familiar (SM)									
Até 3	39/226	17,2	1 (referência)	1,03	0,33-3,20 0,95 ^a	1,90	0,65-5,55 0,23 ^a	1,77	0,62-5,08 0,28 ^a
3 a 5	8/32	25,0	1 (referência)	0,33	0,02-4,54 0,55 ^b	0,60	0,04-8,73 1,0 ^b	3,0	0,36-24,91 0,60 ^b
> 5	5/12	41,7	1 (referência)	3,0	0,18-47,96 0,57 ^b	3,0	0,08-107,45 1,0 ^b	2,0	0,07-51,59 1,0 ^b
Nível educacional materno									
Ensino Fundamental incompleto ou inferior	13/56	23,2	1 (referência)	1,12	0,15-8,20 1,0 ^b	1,22	0,16-9,01 1,0 ^b	2,04	0,31-13,15 0,66 ^b
Ensino Fundamental completo a Médio incompleto	13/68	19,1	1 (referência)	1,64	0,13-20,11 1,0 ^b	3,0	0,27-32,45 0,60 ^b	5,0	0,51-48,45 0,19 ^b
Ensino Médio completo, Superior ou Pós-Graduação	35/168	20,8	1 (referência)	1,36	0,47-3,92 0,56 ^a	1,30	0,41-4,02 0,64 ^a	1,28	0,42-3,85 0,65 ^a
Lanche da escola									
Saudável	20/117	17,1	1 (referência)	0,84	0,25-2,84 0,79 ^a	0,84	0,20-3,41 0,80 ^a	0,57	0,12-2,57 0,46 ^a
Não saudável	40/152	26,3	1 (referência)	1,65	0,48-5,71 0,41 ^a	2,24	0,69-7,17 0,16 ^a	3,11	0,99-9,74 0,04 ^a
Consumo de fast food > 2 vezes/mês	16/65	24,6	1 (referência)	2,19	0,46-10,35 0,37 ^b	2,13	0,38-11,84 0,39 ^b	1,71	0,47-6,11 0,49 ^b
Prática de atividade física programada									
Sim	22/85	25,8	1 (referência)	1,47	0,29-7,21 0,70 ^b	1,38	0,28-6,79 1,0 ^b	3,46	0,77-15,56 0,09 ^a
Não	45/224	20,1	1 (referência)	1,26	0,47-3,38 0,63 ^a	1,73	0,64-4,69 0,27 ^a	1,46	0,54-3,93 0,41 ^a
Tempo de atividade física (min)									

< 100	19/49	38,8	1 (referência)	1,75	0,26-11,73 0,66 ^b	1,75	0,24-12,64 0,65 ^b	5,6	0,81-38,51 0,09 ^b
> 100*	1/12	8,4	1 (referência)	2,0	0,09-44,35 1,0 ^b	3,0	0,12-73,64 1,0 ^b	1,5	0,07-31,57 1,0 ^b
Tempo de tela > 2h/d	51/218	23,4	1 (referência)	0,70	0,16-3,05 0,69 ^b	3,02	0,34-26,45 0,42 ^b	3,0	0,34-26,19 0,42 ^b
Histórico familiar									
Estado nutricional materno segundo o IMC									
Eutrófico	22/136	16,2	1 (referência)	1,50	0,34-6,54 0,72 ^b	2,34	0,52-10,45 0,29 ^b	2,25	0,52-9,61 0,31 ^b
Sobrepeso	19 /94	20,2	1 (referência)	2,33	0,60-9,04 0,21 ^a	0,25	0,02-2,42 0,35 ^b	2,10	0,50-8,75 0,30 ^a
Obesidade	21/61	34,5	1 (referência)	0,84	0,14-5,07 1,0 ^b	3,66	0,75-17,72 0,09 ^a	3,14	0,58-16,84 0,23 ^b
Estado nutricional paterno segundo o IMC									
Eutrófico	11/89	12,4	1 (referência)	2,07	0,19-21,59 1,0 ^b	2,84	0,27-29,90 0,60 ^b	4,80	0,48-47,70 0,33 ^b
Sobrepeso	23/99	23,2	1 (referência)	1,85	0,38-8,87 0,69 ^b	2,74	0,61-12,3 0,28 ^b	2,53	0,58-10,95 0,30 ^b
Obesidade	14/39	35,9	1 (referência)	1,0	0,15-6,34 1,0 ^b	3,75	0,58-23,9 0,20 ^b	3,0	0,38-23,7 0,34 ^b

^a Teste de qui-quadrado; ^b teste exato de Fisher; ^c Análise univariada. Extraído das autoras [322]

Na análise univariada, a chance de ocorrência de excesso de peso aumentou conforme o nível de exposição ao BPA, mostrado pelos crescentes valores de OR do quartil 1 em comparação ao quartil 4, porém sem significância estatística. O mesmo pode ser observado para aqueles com idade entre 6 e 8 anos, e no grupo daqueles que nasceram com baixo peso (OR do quartil 2 foi 2,0; comparado ao Q4 4,0). Foi observada tendência de associação linear entre a ocorrência de excesso de peso e a exposição ao BPA, entre os meninos (Q2 OR 1,09 x Q4 OR 2,01) e no grupo com consumo mais frequente de produtos industrializados (Q2 OR 1,65 x Q4 OR 3,11), ou seja, de lanches não saudáveis. Nas categorias de nível educacional materno, observou-se tendência de ocorrência de excesso de peso na criança com aumento da exposição ao BPA (OR crescente de Q1 em direção à Q4) e esta tendência apresentou maior magnitude nas crianças cujas mães apresentavam Ensino Fundamental completo ou Médio incompleto, em comparação com aquelas cujas mães apresentavam nível educacional maior, onde OR é maior que 1, porém diminui de Q1 à Q4. Em todas as categorias de estado nutricional (IMC) paterno ou materno, foi observada tendência de aumento da frequência de excesso de peso nas crianças de acordo com a exposição ao BPA, sem observar tendência nos valores de OR. Apesar dos indícios de associação entre o aumento da exposição ao BPA, não houve significância estatística para nenhuma das associações utilizando modelo univariado.

Em seguida, algumas características estudadas, consideradas como confundidoras (sexo, idade, IMC mãe, nível de escolaridade mãe, renda mensal familiar, tempo de tela) foram analisadas no modelo multivariado, através da regressão logística simples. Foi considerado intervalo de confiança (IC 95%) e valor $p < 0,20$ para a associação entre a concentração urinária de BPA e os desfechos estudados. Nesta análise, o chamado “modelo vazio” reporta o aumento de chance de ocorrência de excesso de peso e a exposição ao BPA, medida pela sua concentração urinária. No “Modelo Cheio” além da variável desfecho (excesso de peso) e da variável de exposição (concentração urinária de BPA), considerou-se os fatores confundidores presentes na amostra. Os resultados da análise multivariada são mostrados na Tabela 4.4, onde observou-se que a chance de ocorrência (OR) de excesso de peso aumentou conforme a concentração urinária de BPA se elevava, mas sem significância estatística.

Tabela 4.4 - Associação da concentração urinária de BPA e excesso de peso: análise multivariada^c

Concentração urinária de BPA - Quartil	Modelo vazio ^a		Excesso de Peso ^b	
	OR	IC (p valor)	OR	IC (p valor)
1	Referência	Referencia	Referencia	Referencia
2	1,20	0,53-2,70 (0,66)	1,51	0,48-4,71 (0,47)
3	1,60	0,71-3,62 (0,25)	2,15	0,65-7,10 (0,20)
4	1,75	0,79-3,86 (0,16)	2,79	0,88-8,11 (0,07)

^a Concentração urinária de BPA por quartil x excesso de peso

^b Cada modelo (cada quartil) ajustado para sexo, idade, IMC mãe, nível de escolaridade mãe, renda mensal familiar, tempo de tela.

^c Análise multivariada.

Quartil 1: 0-0,59 ng/mg de creatinina; quartil 2: 0,59-1,42 ng/mg de creatinina; quartil 3: 1,42-3,52 ng/mg de cr; quartil 4: 3,52-250,6 ng/mg de creatinina.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, o método desenvolvido mostrou-se capaz de realizar as determinações de BPA em amostras de urina com acurácia ($R\% = 86 \pm 14$) e precisão ($CV < 12\%$), além de rapidez e custo reduzido em relação a demais estudos realizados tornando-o adequado para análises de rotina. As estratégias baseadas em calibração por superposição de matriz e padronização interna foram cruciais para o bom desempenho do método, permitindo que o efeito de matriz fosse reduzido (96 ± 12), favorecendo a confiabilidade dos dados obtido. Acredita-se que o emprego da espectrometria de massas de alta resolução tenha favorecido menores valores de EM% devido a massa acurada. Os limites de detecção (0,03 ng/mL) e quantificação (0,1 ng/mL) foram dez vezes menores do que diversos estudos publicados, mostraram-se adequados para realizar as determinações. Apesar de o método apresentar boa eficiência (83 ± 17), valores superiores poderiam ser obtidos com MELL sequencial, ainda que esta alternativa proporcione maiores custo e tempo de análise.

Os resultados proporcionados pela quantificação de BPA em mostras de urina de crianças pertencente a rede pública de ensino indicam que a prevalência de hábitos não saudáveis, como consumo de produtos industrializados e sedentarismo favorecem a ocorrência de excesso de peso, entretanto, esta associação não se mostrou estatisticamente significativa. Dentre os fatores clínicas, demográficos, familiares e socioeconômicos avaliados, houve associação significativa entre a ocorrência de excesso de peso e a renda familiar, indicando que quanto menor a renda, maior o consumo de produtos industrializados. É possível que a ausência de outras associações significativas entre as características clínicas, sociais e demográficas e a concentração urinária de BPA esteja

atrelada às menores taxas de obesidade no Brasil do que em outros países, como EUA, bem como devido a coleta de uma amostra por criança, de forma que, se não houve exposição das crianças ao BPA no dia anterior a amostragem de urina, o resultado pode ter sido subavaliado.

Apesar das inúmeras pesquisas que apontam os efeitos danosos do BPA sobre a saúde humana, e da proibição de seu uso em produtos destinados à crianças, como mamadeiras, as legislações brasileiras ainda são bastante permissivas quanto ao seu uso em produtos e alimentos industrializado que fazem parte do dia-a-dia da população, não configurando um caráter protetivo e favorecendo a exposição à estes contaminante. Finalmente, os dados apresentados neste estudo são similares ao de Rocha *et al* [18], ainda que as possibilidades de comparação sejam limitadas, e mostram a importância de monitorar a presença deste contaminante em matrizes biológicas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [225] J. Michałowicz, Bisphenol A - Sources, toxicity and biotransformation, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 37 (2014) 738–758. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.02.003>.
- [226] C. Kubwabo, I. Kosarac, B. Stewart, B.R. Gauthier, K. Lalonde, P.J. Lalonde, Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles, *Food Addit. Contam. Part A.* 26 (2009) 928–937. <https://doi.org/10.1080/02652030802706725>.
- [227] S.-H. Nam, Y.-M. Seo, M.-G. Kim, Bisphenol A migration from polycarbonate baby bottle with repeated use, *Chemosphere.* 79 (2010) 949–952. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.049>.
- [228] D. Feldman, Bisphenol-A: an Estrogenic Substance is Released from Polycarbonate Flasks During Autoclaving, (1993). <https://doi.org/10.1210/en.132.6.2279>.
- [229] K.R. Munkittrick, C.B. Portt, G.J. Van Der Kraak, I.R. Smith, D.A. Rokosh, Impact of Bleached Kraft Mill Effluent on Population Characteristics, Liver MFO Activity, and Serum Steroid Levels of a Lake Superior White Sucker (*Catostomus commersoni*) Population, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48 (1991) 1371–1380. <https://doi.org/10.1139/f91-164>.

- [230] Y. Zhang, Y. Guan, T. Zhang, C. Yuan, Y. Liu, Z. Wang, Adult exposure to bisphenol A in rare minnow *Gobiocypris rarus* reduces sperm quality with disruption of testicular aquaporins, *Chemosphere*. 193 (2018) 365–375. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.034>.
- [231] F. Vahdati Hassani, S. Mehri, K. Abnous, R. Birner-Gruenberger, H. Hosseinzadeh, Protective effect of crocin on BPA-induced liver toxicity in rats through inhibition of oxidative stress and downregulation of MAPK and MAPKAP signaling pathway and miRNA-122 expression, *Food Chem. Toxicol.* 107 (2017) 395–405. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.007>.
- [232] N. Acevedo, B. Davis, C.M. Schaeberle, C. Sonnenschein, A.M. Soto, Perinatally administered bisphenol A as a potential mammary gland carcinogen in rats, *Environ. Health Perspect.* 121 (2013) 1040–1046. <https://doi.org/10.1289/ehp.1306734>.
- [233] X. Jiang, L. Yin, N. Zhang, F. Han, W. bin Liu, X. Zhang, H. qiang Chen, J. Cao, J. yi Liu, Bisphenol A induced male germ cell apoptosis via IFN β -XAF1-XIAP pathway in adult mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 355 (2018) 247–256. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.07.009>.
- [234] S.H. Pollard, K.J. Cox, B.E. Blackburn, D.G. Wilkins, D.T. Carrell, J.B. Stanford, C.A. Porucznik, Male exposure to bisphenol A (BPA) and semen quality in the Home Observation of Periconceptional Exposures (HOPE) cohort, *Reprod. Toxicol.* 90 (2019) 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.08.014>.
- [235] J.A. Brotons, M.F. Olea-Serrano, M. Villalobos, V. Pedraza, N. Olea, Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans, *Environ. Health Perspect.* 103 (1995) 608–612. <https://doi.org/10.1289/ehp.95103608>.
- [236] J.G. Teeguarden, N.C. Twaddle, M.I. Churchwell, X. Yang, J.W. Fisher, L.M. Seryak, D.R. Doerge, 24-hour human urine and serum profiles of bisphenol A: Evidence against sublingual absorption following ingestion in soup, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 288 (2015) 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.01.009>.
- [237] J.G. Teeguarden, S. Hanson-Drury, A systematic review of Bisphenol A “low dose” studies in the context of human exposure: A case for establishing standards for reporting “low-dose” effects of chemicals, *Food Chem. Toxicol.* 62 (2013) 935–948. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.007>.
- [238] A. V. Krishnan, P. Stathis, S.F. Permuth, L. Tokes, D. Feldman, Bisphenol-a: An estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving,

- Endocrinology. 132 (1993) 2279–2286.
<https://doi.org/10.1210/endo.132.6.8504731>.
- [239] W. Völkel, T. Colnot, G.A. Csanády, J.G. Filser, W. Dekant, Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration, *Chem. Res. Toxicol.* (2002). <https://doi.org/10.1021/tx025548t>.
- [240] J.R. Rochester, Bisphenol A and human health: A review of the literature, *Reprod. Toxicol.* 42 (2013) 132–155. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>.
- [241] M. Boas, U. Feldt-Rasmussen, K.M. Main, Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals, *Mol. Cell. Endocrinol.* 355 (2012) 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.09.005>.
- [242] S. Ehrlich, P.L. Williams, S.A. Missmer, J.A. Flaws, K.F. Berry, A.M. Calafat, X.Y. Ye, J.C. Petrozza, D. Wright, R. Hauser, Urinary bisphenol A concentrations and implantation failure among women undergoing in vitro fertilization, *Environ. Health Perspect.* 120 (2012) 978–983. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104307>.
- [243] Y.J. Yang, Y.C. Hong, S.Y. Oh, M.S. Park, H. Kim, J.H. Leem, E.H. Ha, Bisphenol A exposure is associated with oxidative stress and inflammation in postmenopausal women, *Environ. Res.* (2009). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.04.014>.
- [244] D.K. Li, Z. Zhou, M. Miao, Y. He, J. Wang, J. Ferber, L.J. Herrinton, E. Gao, W. Yuan, Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality, *Fertil. Steril.* 95 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.09.026>.
- [245] C. Nicolucci, S. Errico, A. Federico, M. Dallio, C. Loguercio, N. Diano, Human exposure to Bisphenol A and liver health status: Quantification of urinary and circulating levels by LC–MS/MS, *J. Pharm. Biomed. Anal.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.02.058>.
- [246] I.A. Lang, T.S. Galloway, A. Scarlett, W.E. Henley, M. Depledge, R.B. Wallace, D. Melzer, Association of Urinary Bisphenol A Concentration With Medical Disorders and Laboratory Abnormalities in Adults, n.d. www.jama.com.
- [247] M.Z. Bocato, C.A. Cesila, B.F. Lataro, A.R.M. de Oliveira, A.D. Campiglia, F. Barbosa, A fast-multiclass method for the determination of 21 endocrine disruptors in human urine by using vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction (VADLLME) and LC-MS/MS, *Environ. Res.* 189 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109883>.
- [248] C. Nicolucci, S. Errico, A. Federico, M. Dallio, C. Loguercio, N. Diano, Human exposure to Bisphenol A and liver health status: Quantification of urinary and

- circulating levels by LC–MS/MS, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 140 (2017) 105–112. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.02.058>.
- [249] S.H. Yang, A.A. Morgan, H.P. Nguyen, H. Moore, B.J. Figard, Liquid Chromatography Mass Spectrometry Quantitative Determination of Bisphenol A from Human Saliva using MAYI Trap column and LCMS – IT-TOF, *Liq. Chromatogr. Mass Spectrom.* (2015) 1–7.
- [250] M. Yang, S.Y. Kim, S.M. Lee, S.S. Chang, T. Kawamoto, J.Y. Jang, Y.O. Ahn, Biological monitoring of bisphenol A in a Korean population, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 44 (2003) 546–551. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-2124-0>.
- [251] S.M. Zimmers, E.P. Browne, P.W. O’Keefe, D.L. Anderton, L. Kramer, D.A. Reckhow, K.F. Arcaro, Determination of free Bisphenol A (BPA) concentrations in breast milk of U.S. women using a sensitive LC/MS/MS method, *Chemosphere.* 104 (2014) 237–243. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.085>.
- [252] Y. Chen, J. Fang, L. Ren, R. Fan, J. Zhang, G. Liu, L. Zhou, D. Chen, Y. Yu, S. Lu, Urinary bisphenol analogues and triclosan in children from south China and implications for human exposure, *Environ. Pollut.* 238 (2018) 299–305. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.031>.
- [253] W. Völkel, M. Kiranoglu, H. Fromme, Determination of free and total bisphenol A in urine of infants, *Environ. Res.* 111 (2011) 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2010.10.001>.
- [254] National Toxicology Program U.S. Department of Health and Human Services, 2008.
- [255] T. Piper, U. Mareck, H. Geyer, U. Flenker, M. Thevis, P. Platen, W. Schanzer, Determination of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of endogenous urinary steroids: method validation, reference population and application to doping control purposes, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 22 (2008) 2161–2175. <https://doi.org/10.1002/rcm>.
- [256] K.A. Thayer, D.R. Doerge, D. Hunt, S.H. Schurman, N.C. Twaddle, M.I. Churchwell, S. Garantziotis, G.E. Kissling, M.R. Easterling, J.R. Bucher, L.S. Birnbaum, Pharmacokinetics of bisphenol A in humans following a single oral administration, *Environ. Int.* 83 (2015) 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.008>.
- [257] R.B. Van Breemen, G. Li, Y. Yuan, K. Huang, Quantitative analysis of bisphenol A in water and serum using UHPLC-MS-MS, *Hum. Heal.* 2 (2014) 32–34.

- [258] D. Gramec Skledar, L. Peterlin Mašič, Bisphenol A and its analogs: Do their metabolites have endocrine activity?, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 47 (2016) 182–199. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.09.014>.
- [259] C. Liao, F. Liu, H. Alomirah, V.D. Loi, M.A. Mohd, H.B. Moon, H. Nakata, K. Kannan, Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: Occurrence and human exposures, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 6860–6866. <https://doi.org/10.1021/es301334j>.
- [260] K. Owczarek, P. Kubica, B. Kudłak, A. Rutkowska, A. Konieczna, D. Rachoń, J. Namieśnik, A. Wasik, Determination of trace levels of eleven bisphenol A analogues in human blood serum by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Sci. Total Environ.* 628–629 (2018) 1362–1368. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.148>.
- [261] A.G. Asimakopoulos, J. Xue, B.P. De Carvalho, A. Iyer, K.O. Abualnaja, S.S. Yaghmoor, T.A. Kumosani, K. Kannan, Urinary biomarkers of exposure to 57 xenobiotics and its association with oxidative stress in a population in Jeddah, Saudi Arabia, *Environ. Res.* 150 (2016) 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.11.029>.
- [262] O.A. Ismaiel, T. Zhang, R.G. Jenkins, H.T. Karnes, Investigation of endogenous blood plasma phospholipids, cholesterol and glycerides that contribute to matrix effects in bioanalysis by liquid chromatography/mass spectrometry, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* (2010). <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.10.012>.
- [263] Y. He, M. Miao, L.J. Herrinton, C. Wu, W. Yuan, Z. Zhou, D.K. Li, Bisphenol A levels in blood and urine in a Chinese population and the personal factors affecting the levels, *Environ. Res.* 109 (2009) 629–633. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.04.003>.
- [264] Y. Yang, J. Guan, J. Yin, B. Shao, H. Li, Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a manufacturing plant in south China, *Chemosphere.* 112 (2014) 481–486. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.004>.
- [265] A.G. Asimakopoulos, L. Wang, N.S. Thomaidis, K. Kannan, A multi-class bioanalytical methodology for the determination of bisphenol A diglycidyl ethers, p-hydroxybenzoic acid esters, benzophenone-type ultraviolet filters, triclosan, and triclocarban in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1324 (2014) 141–148.

- <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.11.031>.
- [266] F. Artacho-Cordón, J.P. Arrebola, O. Nielsen, P. Hernández, N.E. Skakkebaek, M.F. Fernández, A.M. Andersson, N. Olea, H. Frederiksen, Assumed non-persistent environmental chemicals in human adipose tissue; matrix stability and correlation with levels measured in urine and serum, *Environ. Res.* 156 (2017) 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.030>.
- [267] G. Provencher, R. Bérubé, P. Dumas, J.F. Bienvenu, É. Gaudreau, P. Bélanger, P. Ayotte, Determination of bisphenol A, triclosan and their metabolites in human urine using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* 1348 (2014) 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.072>.
- [268] H. Frederiksen, L. Aksglaede, K. Sorensen, O. Nielsen, K.M. Main, N.E. Skakkebaek, A. Juul, A.M. Andersson, Bisphenol A and other phenols in urine from Danish children and adolescents analyzed by isotope diluted TurboFlow-LC-MS/MS, *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 216 (2013) 710–720. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.01.007>.
- [269] K. Owczarek, P. Kubica, B. Kudłak, A. Rutkowska, A. Konieczna, D. Rachoń, J. Namieśnik, A. Wasik, Determination of trace levels of eleven bisphenol A analogues in human blood serum by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Sci. Total Environ.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.148>.
- [270] W. Dekant, W. Völkel, Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: Methods, results and assessment of environmental exposures, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (2008). <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.12.008>.
- [271] A.K. Sakhi, A. Sabaredzovic, E. Papadopoulou, E. Cequier, C. Thomsen, Levels, variability and determinants of environmental phenols in pairs of Norwegian mothers and children, *Environ. Int.* 114 (2018) 242–251. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.02.037>.
- [272] C. La Rocca, F. Maranghi, S. Tait, R. Tassinari, F. Baldi, G. Bottaro, E. Buzzigoli, F. Carli, S. Cianfarani, R. Conte, A. Deodati, A. Gastaldelli, A.P. Pala, A. Raffaelli, C. Saponaro, G. Scirè, G.L. Spadoni, L. Busani, L. Narciso, B. Baldini Ferroli, R. Marini, D. Germani, G. Barsotti, D. Ciociaro, V. Della Latta, G. Distante, M. Gaggini, P. Landi, A. Di Virgilio, A. Martinelli, M. Valeri, F.R. Mancini, E. Fabbri, G. Toffol, The LIFE PERSUADED project approach on phthalates and

- bisphenol A biomonitoring in Italian mother-child pairs linking exposure and juvenile diseases, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25 (2018) 25618–25625. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2660-4>.
- [273] H.-J. Lehmler, B. Liu, M. Gadogbe, W. Bao, Exposure to Bisphenol A, Bisphenol F, and Bisphenol S in U.S. Adults and Children: The National Health and Nutrition Examination Survey 2013–2014, *ACS Omega.* 3 (2018) 6523–6532. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b00824>.
- [274] L. Correia-Sá, S. Norberto, C. Delerue-Matos, C. Calhau, V.F. Domingues, Micro-QuEChERS extraction coupled to GC–MS for a fast determination of Bisphenol A in human urine, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 1072 (2018) 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.10.060>.
- [275] K. Larsson, K. Ljung Björklund, B. Palm, M. Wennberg, L. Kaj, C.H. Lindh, B.A.G. Jönsson, M. Berglund, Exposure determinants of phthalates, parabens, bisphenol A and triclosan in Swedish mothers and their children, *Environ. Int.* 73 (2014) 323–333. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.08.014>.
- [276] A. Myridakis, E. Fthenou, E. Balaska, M. Vakinti, M. Kogevinas, E.G. Stephanou, Phthalate esters, parabens and bisphenol-A exposure among mothers and their children in Greece (Rhea cohort), *Environ. Int.* 83 (2015) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.05.014>.
- [277] Y. Yamano, S. Miyakawa, K. Iizumi, H. Itoh, M. Iwasaki, S. Tsugane, J. Kagawa, T. Nakadate, Long-term study of urinary bisphenol A in elementary school children, *Environ. Health Prev. Med.* 13 (2008) 332–337. <https://doi.org/10.1007/s12199-008-0049-6>.
- [278] S.C. Cunha, J.O. Fernandes, Quantification of free and total bisphenol A and bisphenol B in human urine by dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) and heart-cutting multidimensional gas chromatography-mass spectrometry (MD-GC/MS), *Talanta.* 83 (2010) 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.08.048>.
- [279] X. Zhou, J.P. Kramer, A.M. Calafat, X. Ye, Automated on-line column-switching high performance liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry method for the quantification of bisphenol A, bisphenol F, bisphenol S, and 11 other phenols in urine, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 944 (2014) 152–156. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.11.009>.
- [280] D.A. Markham, J.M. Waechter, M. Wimber, N. Rao, P. Connolly, J.C. Chuang, S.

- Hentges, R.N. Shiotsuka, S. Dimond, A.H. Chappelle, Development of a method for the determination of bisphenol a at trace concentrations in human blood and urine and elucidation of factors influencing method accuracy and sensitivity, *J. Anal. Toxicol.* 34 (2010) 293–303. <https://doi.org/10.1093/jat/34.6.293>.
- [281] A.L. Heffernan, K. Thompson, G. Eaglesham, S. Vijayasathy, J.F. Mueller, P.D. Sly, M.J. Gomez, Rapid, automated online SPE-LC-QTRAP-MS/MS method for the simultaneous analysis of 14 phthalate metabolites and 5 bisphenol analogues in human urine, *Talanta*. 151 (2016) 224–233. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.01.037>.
- [282] Y. Yang, J. Guan, J. Yin, B. Shao, H. Li, Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a manufacturing plant in south China, *Chemosphere*. (2014). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.004>.
- [283] F. Vela-Soria, O. Ballesteros, A. Zafra-Gómez, L. Ballesteros, A. Navalón, A multiclass method for the analysis of endocrine disrupting chemicals in human urine samples. Sample treatment by dispersive liquid-liquid microextraction, *Talanta*. 129 (2014) 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.05.016>.
- [284] B.A. Rocha, B.R.B. Da Costa, N.C.P. De Albuquerque, A.R.M. De Oliveira, J.M.O. Souza, M. Al-Tameemi, A.D. Campiglia, F. Barbosa, A fast method for bisphenol A and six analogues (S, F, Z, P, AF, AP) determination in urine samples based on dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Talanta*. 154 (2016) 511–519. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.098>.
- [285] I. Jiménez-Díaz, F. Artacho-Cordón, F. Vela-Soria, H. Belhassen, J.P. Arrebola, M.F. Fernández, R. Ghali, A. Hedhili, N. Olea, Urinary levels of bisphenol A, benzophenones and parabens in Tunisian women: A pilot study, *Sci. Total Environ.* 562 (2016) 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.203>.
- [286] M. Vosough, N.R. Mojdehi, A. Salemi, Chemometrics assisted dispersive liquid-liquid microextraction for quantification of seven UV filters in urine samples by HPLC-DAD, *J. Sep. Sci.* 35 (2012) 3575–3585. <https://doi.org/10.1002/jssc.201200564>.
- [287] M. Pastor-Belda, D. Bastida, N. Campillo, M.D. Pérez-Cárceles, M. Motas, P. Viñas, A study of the influence on diabetes of free and conjugated bisphenol A concentrations in urine: Development of a simple microextraction procedure using gas chromatography–mass spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 129 (2016)

- 458–465. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.07.042>.
- [288] N. Venisse, C. Grignon, B. Brunet, S. Thévenot, A. Bacle, V. Migeot, A. Dupuis, Reliable quantification of bisphenol A and its chlorinated derivatives in human urine using UPLC-MS/MS method, *Talanta*. 125 (2014) 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.064>.
- [289] A. Cappiello, G. Famigliani, P. Palma, H. Trufelli, Matrix Effects in Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 33 (2010) 1067–1081. <https://doi.org/10.1080/10826076.2010.484314>.
- [290] S.S. Andra, P. Charisiadis, M. Arora, J. V. Van Vliet-Ostaptchouk, K.C. Makris, Biomonitoring of human exposures to chlorinated derivatives and structural analogs of bisphenol A, *Environ. Int.* 85 (2015) 352–379. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.09.011> Review Article.
- [291] Z.Z. Hauck, K. Huang, G. Li, R.B. van Breemen, Determination of bisphenol A-glucuronide in human urine using ultrahigh-pressure liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 30 (2016) 400–406. <https://doi.org/10.1002/rcm.7450>.
- [292] G.P. Black, T. Anumol, T.M. Young, Analyzing a broader spectrum of endocrine active organic contaminants in sewage sludge with high resolution LC-QTOF-MS suspect screening and QSAR toxicity prediction, *Environ. Sci. Process. Impacts.* 21 (2019) 1099–1114. <https://doi.org/10.1039/c9em00144a>.
- [293] G. Hopfgartner, D. Tonoli, E. Varesio, High-resolution mass spectrometry for integrated qualitative and quantitative analysis of pharmaceuticals in biological matrices, *Anal. Bioanal. Chem.* 402 (2012) 2587–2596. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5641-8>.
- [294] A.T. Lebedev, O. V. Polyakova, D.M. Mazur, V.B. Artaev, The benefits of high resolution mass spectrometry in environmental analysis, *Analyst.* (2013). <https://doi.org/10.1039/c3an01237a>.
- [295] A.T. Lebedev, O. V. Polyakova, D.M. Mazur, V.B. Artaev, The benefits of high resolution mass spectrometry in environmental analysis, *Analyst.* 138 (2013) 6946. <https://doi.org/10.1039/c3an01237a>.
- [296] B.A. Rocha, A.G. Asimakopoulos, M. Honda, N.L. da Costa, R.M. Barbosa, F. Barbosa, K. Kannan, Advanced data mining approaches in the assessment of urinary concentrations of bisphenols, chlorophenols, parabens and benzophenones in Brazilian children and their association to DNA damage, *Environ. Int.* 116

- (2018) 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.04.023>.
- [297] S.A. Polyzos, J. Kountouras, G. Deretzi, C. Zavos, C.S. Mantzoros, The Emerging Role of Endocrine Disruptors in Pathogenesis of Insulin Resistance: A Concept Implicating Nonalcoholic Fatty Liver Disease, 2012. <http://www.fda.gov/ScienceResearch/BioinformaticsTo>.
- [298] S. Bertoli, A. Leone, A. Battezzati, Human bisphenol a exposure and the “diabesity phenotype,” Dose-Response. 13 (2015). <https://doi.org/10.1177/1559325815599173>.
- [299] World Health Organization., Obesity, (n.d.). https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1 (accessed June 30, 2021).
- [300] B.A. Rocha, B.R.B. Da Costa, N.C.P. De Albuquerque, A.R.M. De Oliveira, J.M.O. Souza, M. Al-Tameemi, A.D. Campiglia, F. Barbosa, A fast method for bisphenol A and six analogues (S, F, Z, P, AF, AP) determination in urine samples based on dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Talanta. (2016). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.098>.
- [301] ABESO - Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica, Mapa da Obesidade, (n.d.). <http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapa-obesidade> (accessed December 23, 2018).
- [302] B.K. Matuszewski, M.L. Constanzer, C.M. Chavez-Eng, Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS, Anal. Chem. (2003). <https://doi.org/10.1021/ac020361s>.
- [303] L. Correia-Sá, S. Norberto, C. Delerue-Matos, C. Calhau, V.F. Domingues, Micro-QuEChERS extraction coupled to GC–MS for a fast determination of Bisphenol A in human urine, J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci. (2018). <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.10.060>.
- [304] F. Cutanda, H.M. Koch, M. Esteban, J. Sánchez, J. Angerer, A. Castaño, Urinary levels of eight phthalate metabolites and bisphenol A in mother-child pairs from two Spanish locations, Int. J. Hyg. Environ. Health. (2015). <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.07.005>.
- [305] I. Jiménez-Díaz, F. Artacho-Cordón, F. Vela-Soria, H. Belhassen, J.P. Arrebola, M.F. Fernández, R. Ghali, A. Hedhili, N. Olea, Urinary levels of bisphenol A, benzophenones and parabens in Tunisian women: A pilot study, Sci. Total Environ. (2016). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.203>.

- [306] H. Frederiksen, J.K.S. Nielsen, T.A. Mørck, P.W. Hansen, J.F. Jensen, O. Nielsen, A.M. Andersson, L.E. Knudsen, Urinary excretion of phthalate metabolites, phenols and parabens in rural and urban Danish mother-child pairs, *Int. J. Hyg. Environ. Health.* (2013). <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.02.006>.
- [307] L. Casas, M.F. Fernández, S. Llop, M. Guxens, F. Ballester, N. Olea, M.B. Irurzun, L.S.M. Rodríguez, I. Riaño, A. Tardón, M. Vrijheid, A.M. Calafat, J. Sunyer, Urinary concentrations of phthalates and phenols in a population of Spanish pregnant women and children, *Environ. Int.* (2011). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.012>.
- [308] Y. Chen, J. Fang, L. Ren, R. Fan, J. Zhang, G. Liu, L. Zhou, D. Chen, Y. Yu, S. Lu, Urinary bisphenol analogues and triclosan in children from south China and implications for human exposure, *Environ. Pollut.* (2018). <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.03.031>.
- [309] F. Vela-Soria, O. Ballesteros, A. Zafra-Gómez, L. Ballesteros, A. Navalón, UHPLC-MS/MS method for the determination of bisphenol A and its chlorinated derivatives, bisphenol S, parabens, and benzophenones in human urine samples, *Anal. Bioanal. Chem.* (2014). <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7785-9>.
- [310] X. Zhou, J.P. Kramer, A.M. Calafat, X. Ye, Automated on-line column-switching high performance liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry method for the quantification of bisphenol A, bisphenol F, bisphenol S, and 11 other phenols in urine, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.11.009>.
- [311] M. Chen, L. Tao, E.M. Collins, C. Austin, C. Lu, Simultaneous determination of multiple phthalate metabolites and bisphenol-A in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 904 (2012) 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.07.022>.
- [312] A.G. Asimakopoulos, L. Wang, N.S. Thomaidis, K. Kannan, A multi-class bioanalytical methodology for the determination of bisphenol A diglycidyl ethers, p-hydroxybenzoic acid esters, benzophenone-type ultraviolet filters, triclosan, and triclocarban in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.11.031>.
- [313] A.K. Sakhi, A. Sabaredzovic, E. Papadopoulou, E. Cequier, C. Thomsen, Levels, variability and determinants of environmental phenols in pairs of Norwegian

- mothers and children, *Environ. Int.* (2018).
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.02.037>.
- [314] N. Venisse, C. Grignon, B. Brunet, S. Thévenot, A. Bacle, V. Migeot, A. Dupuis, Reliable quantification of bisphenol A and its chlorinated derivatives in human urine using UPLC-MS/MS method, *Talanta*. (2014).
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.064>.
- [315] C. for M.P. for H.U. (CHMP), Guideline, EMEA Guideline on bioanalytical method validation, 2009. www.ema.europa.eu/contact.
- [316] A. Myridakis, E. Fthenou, E. Balaska, M. Vakinti, M. Kogevinas, E.G. Stephanou, Phthalate esters, parabens and bisphenol-A exposure among mothers and their children in Greece (Rhea cohort), *Environ. Int.* (2015).
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.05.014>.
- [317] Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, 2017, n.d.
- [318] H. Frederiksen, L. Aksglaede, K. Sorensen, O. Nielsen, K.M. Main, N.E. Skakkebaek, A. Juul, A.M. Andersson, Bisphenol A and other phenols in urine from Danish children and adolescents analyzed by isotope diluted TurboFlow-LC-MS/MS, *Int. J. Hyg. Environ. Health.* (2013).
<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.01.007>.
- [319] K. Larsson, K. Ljung Björklund, B. Palm, M. Wennberg, L. Kaj, C.H. Lindh, B.A.G. Jönsson, M. Berglund, Exposure determinants of phthalates, parabens, bisphenol A and triclosan in Swedish mothers and their children, *Environ. Int.* (2014). <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.08.014>.
- [320] J.S. LaKind, D.Q. Naiman, Temporal trends in bisphenol A exposure in the United States from 2003-2012 and factors associated with BPA exposure: Spot samples and urine dilution complicate data interpretation, *Environ. Res.* 142 (2015) 84–95.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.06.013>.
- [321] I. Gyllenhammar, A. Glynn, B.A.G. Jönsson, C.H. Lindh, P.O. Darnerud, K. Svensson, S. Lignell, Diverging temporal trends of human exposure to bisphenols and plastizisers, such as phthalates, caused by substitution of legacy EDCs?, *Environ. Res.* (2017). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.11.012>.
- [322] P.R.S. Rocha, Associação entre a concentração urinária de Bisfenol A e a ocorrência de excesso de peso entre escolares no Distrito Federal, 2018.

CAPÍTULO 5

Conclusões Gerais

1 CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho visou contribuir para aumentar o conhecimento sobre a ocorrência e riscos associados a presença de MPE em matrizes aquosas ambientais e biológicas. Cada um dos contextos estudados tem sido pouco explorado no Brasil. No primeiro caso, foi investigado pela primeira vez em território nacional, a ocorrência de MPE em amostras de águas superficiais, decorrente de fontes industriais. Conforme pode ser verificado, os polos industriais lançam enormes quantidades de MPE diversos, em concentrações superiores em mais de dez vezes às determinadas em corpos hídricos receptores de esgotos domésticos, mesmo quando não tratados. Estas fontes poluidoras ocasionam severos danos ambientais. Apesar da relevância do DAIA no mercado nacional, no que diz respeito a produção de medicamentos, as elevadas concentrações de MPE determinadas impõe severo risco ambiental, evidenciado pelos valores de RQ. Ademais, os corpos hídricos impactados pelos lançamentos da ETE-DAIA tem baixos valores de OD, elevada carga orgânica e fosfatos, de forma que não são adequados tanto para a preservação da vida aquática, quanto para diversos outros usos pretendidos pelos moradores locais. No Brasil, é comum que polos industriais ocasionem severo imacto ambiental, e continuem a operar sem sanções. Caso estas fontes poluidoras não sejam alvo de maior regulação e medidas de controle efetivas, o quadro de degradação ambiental proporcionado por empreendimentos industriais tornar-se-á irreversível.

Com respeito aos estudos voltados para representatividade da amostragem para fins de monitoramento, verificou-se que padrões sazonais na ocorrência de MPE são mais bem avaliados quando abrangem diferentes escalas temporais. Este conhecimento permite avanços em pautas preventivas, de forma a verificar tendencias na ocorrência de MPE e se alterações no padrão de uso e de estações climáticas podem favorecer maior risco ambiental. É possível que as atribuições de efeitos sazonais em águas superficiais sejam pobremente ambasada em diversos estudos que lançam mão de amostragens discretas e com periodicidade mensal.

Quanto às matrizes biológicas, este trabalho foi o segundo, no melhor do nosso conhecimento, a auxiliar em estudos que visam estimar o grau de exposição humana a IE no Brasil, diferentemente de diversas nações desenvolvidas, que já realizam biomonitoramento de IE nestas matrizes a mais de uma década. Como resultados, nestes países, legislações tem sido revisadas, promovendo a redução da utilização de diversos MPE, e até sua proibição. Os resultados obtidos no presente estudo apontam para o

elevado consumo de produtos industrializados e prevalência de hábitos não saudáveis em crianças brasilienses, favorecendo associações entre este elevado consumo com maiores concentrações urinárias de BPA. Estes resultados podem ser indicio de pouca divulgação científica e de um caráter permissivo nas legislações brasileiras em detrimento de caráter protetor sobre a saúde humana. Ademais, mostram a urgência em determinar a exposição humana a diversos IE, com o objetivo de verificar seus possíveis efeitos sobre o organismo humano e proporcionar o subsídio necessário para realizar estas modificações em legislações.

Este trabalho também permitiu um vislumbre das dificuldades enfrentadas para se realizar monitoramento de MPE em amostras biológicas e ambientais. Ambas as matrizes impõem desafios analíticos no que diz respeito a determinações de componentes em nível traço. Porém estratégias analíticas baseadas em padronização interna e calibração por superposição de matriz podem auxiliar na obtenção de resultados fidedignos e confiáveis em determinações de MPE nestas matrizes.

Nosso desejo é que daqui a alguns anos, a legislação brasileira inclua vários destes MPE, de forma a utilizar de indicadores de qualidade da água mais condizentes com o cenário atual e que as legislações referentes a produtos industrializados apresentem um caráter efetivamente protetor sobre a saúde humana.

Material Suplementar.

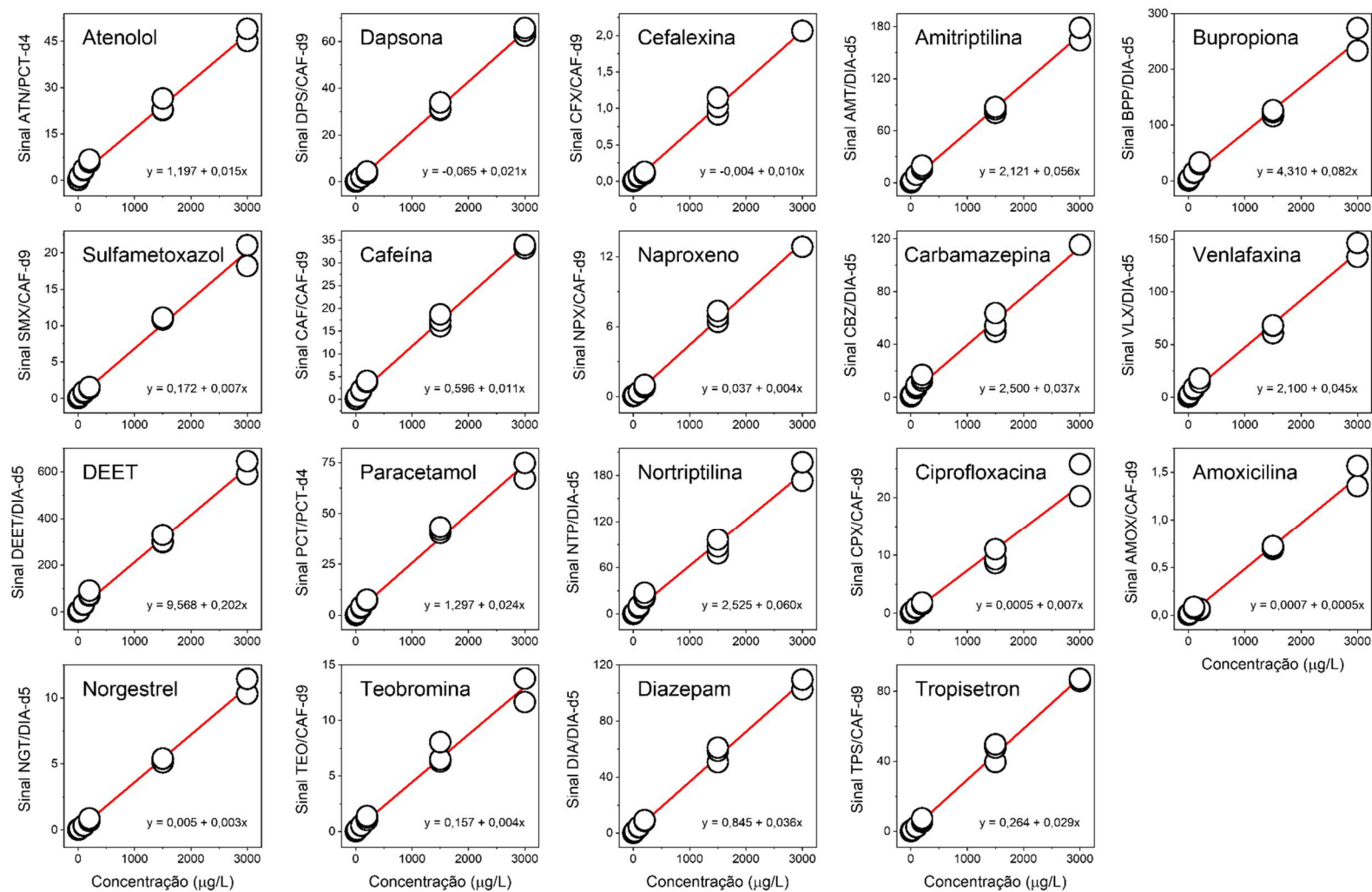


Figura 2A Curvas analíticas típicas para os MPE investigados nas águas superficiais da região do DAIA (continua)

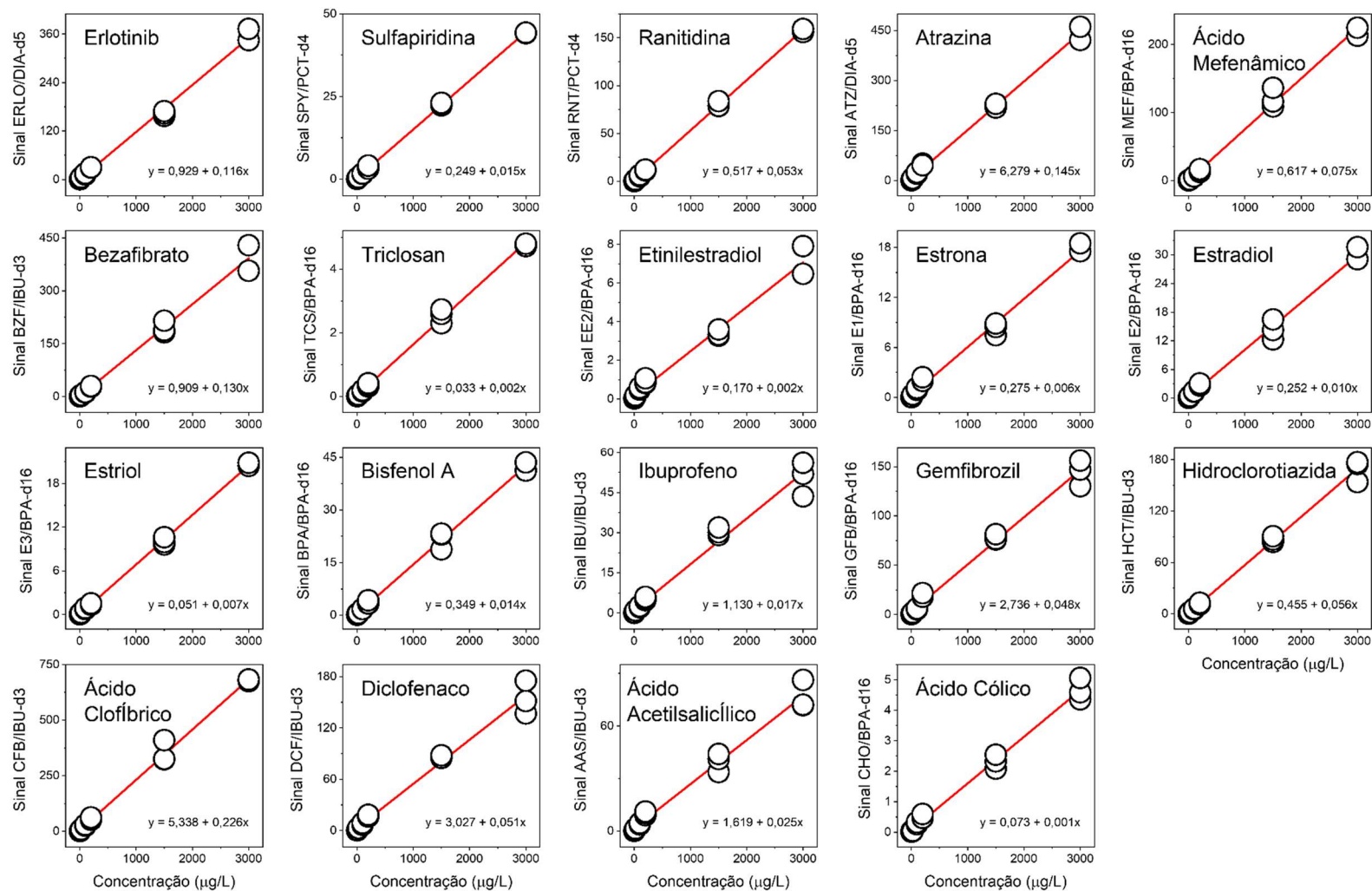


Figura 2ª: (Continuação) Curvas analíticas típicas para os MPE investigados nas águas superficiais da região do DAIA.

Tabela 2A: Parâmetros de qualidade da água obtidos para cada ponto de coleta utilizando medidos multiparâmetro, durante as 6 campanhas amostrais.

Ponto	T (°C)	pH	EC (µS/cm)	DO (mg/L)	SDT (mg/L)
MT_C1	23,79 ± 0,06	6,1 ± 0,1	51 ± 1	6,3 ± 0,1	522,9 ± 0,8
PL_C1	25,84 ± 0,03	7,6 ± 0,2	1046 ± 1	5,6 ± 0,3	25,6 ± 0,5
J1_C1	27,38 ± 0,02	7,12 ± 0,04	843,0 ± 0,9	3,5 ± 0,2	421,4 ± 0,5
J2_C1	26,36 ± 0,01	7,08 ± 0,04	414,1 ± 0,3	3,0 ± 0,2	207,0 ± 0,1
J3_C1	22,37 ± 0,17	7,00 ± 0,06	164 ± 11	6,3 ± 0,2	82 ± 6
MT_C2	24,11 ± 0,01	6,36 ± 0,07	106 ± 1	5,0 ± 0,1	653 ± 7
PL_C2	26,92 ± 0,01	7,67 ± 0,06	1307 ± 14	2,3 ± 0,2	53,2 ± 0,5
J1_C2	26,29 ± 0,01	7,26 ± 0,01	687,6 ± 0,6	3,0 ± 0,1	343,9 ± 0,3
J2_C2	26,45 ± 0,01	6,65 ± 0,08	266,00 ± 0,01	2,1 ± 0,2	133,1 ± 0,1
J3_C2	23,31 ± 0,01	6,6 ± 0,3	129,7 ± 0,5	3,5 ± 0,2	65,0 ± 0,1
MT_C3	25,75 ± 0,02	6,58 ± 0,05	90 ± 8	6,8 ± 0,8	494 ± 6
PL_C3	26,31 ± 0,01	7,87 ± 0,01	988 ± 12	3,80 ± 0,01	45 ± 4
J1_C3	26,57 ± 0,01	7,13 ± 0,02	461,6 ± 0,5	4,0 ± 0,2	231,0 ± 0,1
J2_C3	27,3 ± 0,01	6,73 ± 0,01	213 ± 0,01	2,8 ± 0,1	106,6 ± 0,5
J3_C3	24,29 ± 0,01	6,4 ± 0,07	100,1 ± 0,6	6,3 ± 0,5	50,0 ± 0,2
MT_C4	26,91 ± 0,03	6,45 ± 0,04	94 ± 0,01	6,7 ± 0,01	370,0 ± 0,2
PL_C4	26,23 ± 0,01	7,64 ± 0,01	740,5 ± 0,5	4,4 ± 0,1	47,1 ± 0,1
J1_C4	26,67 ± 0,01	6,9 ± 0,2	420 ± 20	3,5 ± 0,2	210 ± 10
J2_C4	26,94 ± 0,01	6,52 ± 0,06	237,6 ± 0,5	2,8 ± 0,01	119,1 ± 0,1
J3_C4	24,67 ± 0,02	6,2 ± 0,3	126,4 ± 0,5	6,3 ± 0,1	63,1 ± 0,1
MT_C5	29,24 ± 0,02	6,45 ± 0,11	61,3 ± 0,4	3,5 ± 0,1	431 ± 2
PL_C5	28,09 ± 0,02	7,67 ± 0,02	862,4 ± 3,1	5,5 ± 0,8	31,0 ± 0,1
J1_C5	28,93 ± 0,01	7,06 ± 0,03	461,9 ± 0,4	1,7 ± 0,01	231,0 ± 0,1
J2_C5	29,78 ± 0,01	6,73 ± 0,04	290,9 ± 0,3	1,8 ± 0,01	145,1 ± 0,3
J3_C5	26,1 ± 0,01	6,61 ± 0,05	111 ± 0,2	2,7 ± 0,01	55,0 ± 0,1
MT_C6	27,24 ± 0,01	6,24 ± 0,06	37 ± 0,01	6,2 ± 0,2	192 ± 1
PL_C6	25,23 ± 0,01	7 ± 0,2	385 ± 2	6,3 ± 0,6	19 ± 0,1
J1_C6	26,25 ± 0,01	6,5 ± 0,03	160,5 ± 1,8	3,9 ± 0,5	80 ± 1
J2_C6	25,53 ± 0,01	6,15 ± 0,02	91,6 ± 0,6	5,5 ± 0,5	45,9 ± 0,3
J3_C6	24,14 ± 0,01	6,09 ± 0,03	49 ± 12	6,8 ± 0,4	24 ± 6

Tabela 2B: Parâmetros de qualidade da água obtidos para cada ponto de coleta utilizando métodos do Standard Methods, durante as 6 campanhas amostrais.

Ponto	SST (mg/L)	CaCO3 (mg /L)	Cl- (mg /L)	Fosfato (mg/L)	COT (mg/L)	NT (mg/L)
MT_C1	2,800 ± 0,006	16 ± 3	25 ± 6	ND	3,18 ± 0,09	0,4 ± 0,1
PL_C1	62 ± 1	240 ± 12	120 ± 17	3,2 ± 0,1	186 ± 8	2,1 ± 0,1
J1_C1	40,2 ± 0,7	196 ± 13	106 ± 18	3,3 ± 0,1	112 ± 6	1,5 ± 0,1
J2_C1	22,7 ± 0,4	110 ± 7	66 ± 13	2,12 ± 0,09	20 ± 3	0,8 ± 0,1
J3_C1	3,20 ± 0,04	43 ± 2	16 ± 7	0,74 ± 0,06	2,25 ± 0,08	0,7 ± 0,1
MT_C2	15,13 ± 0,02	30 ± 2	21 ± 12	ND	18 ± 2	0,9 ± 0,2
PL_C2	82,50 ± 0,02	243 ± 14	131 ± 13	2,80 ± 0,08	116 ± 5	3,3 ± 0,2
J1_C2	87,30 ± 0,01	142 ± 10	61 ± 8	2,62 ± 0,09	55 ± 4	3,2 ± 0,2
J2_C2	61,07 ± 0,01	51 ± 4	15 ± 6	1,32 ± 0,05	56 ± 2	1,7 ± 0,2
J3_C2	120,60 ± 0,05	20,4 ± 0,8	20,4 ± 0,8	1,25 ± 0,02	4 ± 2	1,2 ± 0,2
MT_C3	4,2 ± 0,1	38,1 ± 0,5	4 ± 3	ND	121,2 ± 0,4	1,75 ± 0,02
PL_C3	100,9 ± 0,1	134 ± 3	78,5 ± 0,4	42,0 ± 0,1	212,6 ± 0,2	2,57 ± 0,02
J1_C3	6,4 ± 0,1	81,8 ± 0,8	40,8 ± 0,4	22,19 ± 0,01	77,00 ± 0,03	1,62 ± 0,02
J2_C3	34,4 ± 0,1	40,7 ± 0,6	18,8 ± 0,4	7,04 ± 0,01	21,37 ± 0,02	0,740 ± 0,001
J3_C3	48,4 ± 0,1	19,5 ± 0,9	7,9 ± 0,2	3,13 ± 0,01	26,0 ± 0,1	0,86 ± 0,01
MT_C4	4,6 ± 0,1	31,2 ± 0,3	9,0 ± 0,2	ND	2,27 ± 0,02	0,958 ± 0,002
PL_C4	111,2 ± 0,1	176 ± 2	66,2 ± 0,4	49,01 ± 0,10	89,6 ± 0,8	2,36 ± 0,01
J1_C4	46,7 ± 0,1	103,0 ± 0,5	37,6 ± 0,4	23,86 ± 0,08	29,7 ± 0,3	1,42 ± 0,03
J2_C4	31,9 ± 0,1	64,7 ± 0,3	19,6 ± 0,4	9,50 ± 0,02	4,360 ± 0,008	0,82 ± 0,02
J3_C4	49,5 ± 0,1	39,2 ± 0,8	10,9 ± 0,4	1,063 ± 0,003	4,44 ± 0,04	1,05 ± 0,02
MT_C5	12,7 ± 0,1	26,3 ± 0,6	5,3 ± 0,4	ND	2,42 ± 0,05	0,734 ± 0,001
PL_C5	146,1 ± 0,1	248,2 ± 0,8	71,0 ± 0,2	38,11 ± 0,05	160 ± 2	1,488 ± 0,003
J1_C5	112,0 ± 0,1	130,3 ± 0,6	37,1 ± 0,4	11,871 ± 0,004	69 ± 1	0,853 ± 0,001
J2_C5	16,9 ± 0,1	79,8 ± 0,8	23,2 ± 0,7	0,312 ± 0,002	27,3 ± 0,5	0,598 ± 0,001
J3_C5	6,9 ± 0,1	36,8 ± 0,3	8,3 ± 0,4	0,131 ± 0,001	6,00 ± 0,06	0,601 ± 0,001
MT_C6	369,2 ± 0,1	18,8 ± 0,3	3,0 ± 0,2	ND	2,9 ± 0,2	0,514 ± 0,001
PL_C6	100,4 ± 0,1	103,7 ± 0,6	35,9 ± 0,4	6,04 ± 0,01	35,7 ± 0,5	2,788 ± 0,001
J1_C6	167,1 ± 0,1	48,0 ± 0,5	13,9 ± 0,4	0,43 ± 0,01	5,30 ± 0,07	0,490 ± 0,001
J2_C6	144,7 ± 0,1	30,2 ± 0,3	7,3 ± 0,4	0,16 ± 0,01	3,84 ± 0,06	0,487 ± 0,001
J3_C6	240,6 ± 0,1	21,7 ± 0,3	5,3 ± 0,4	ND	3,64 ± 0,02	0,567 ± 0,001

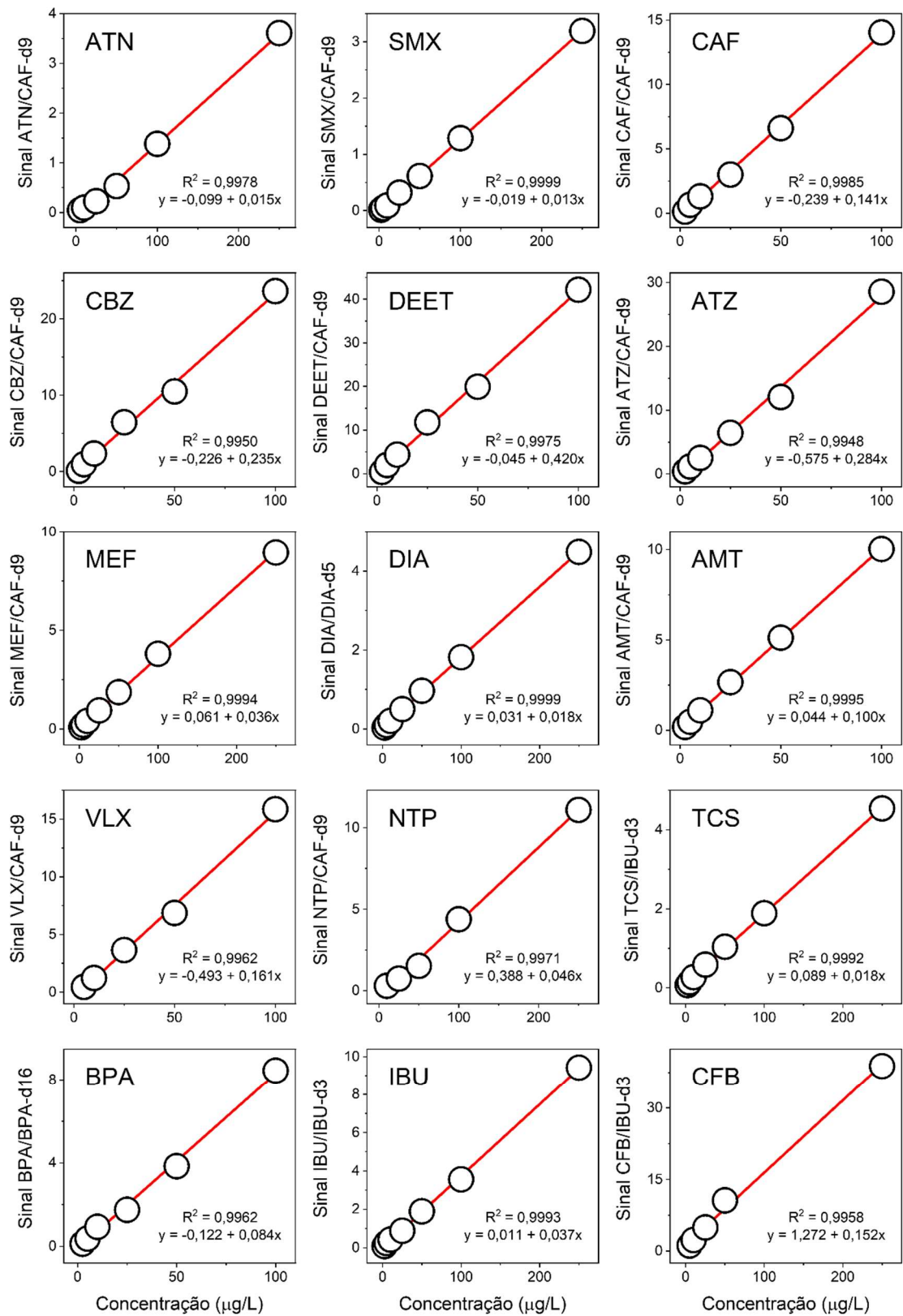


Figura. 3A: Curvas analíticas para os MPE investigados construídas para análise de amostras durante o Período Chuvoso

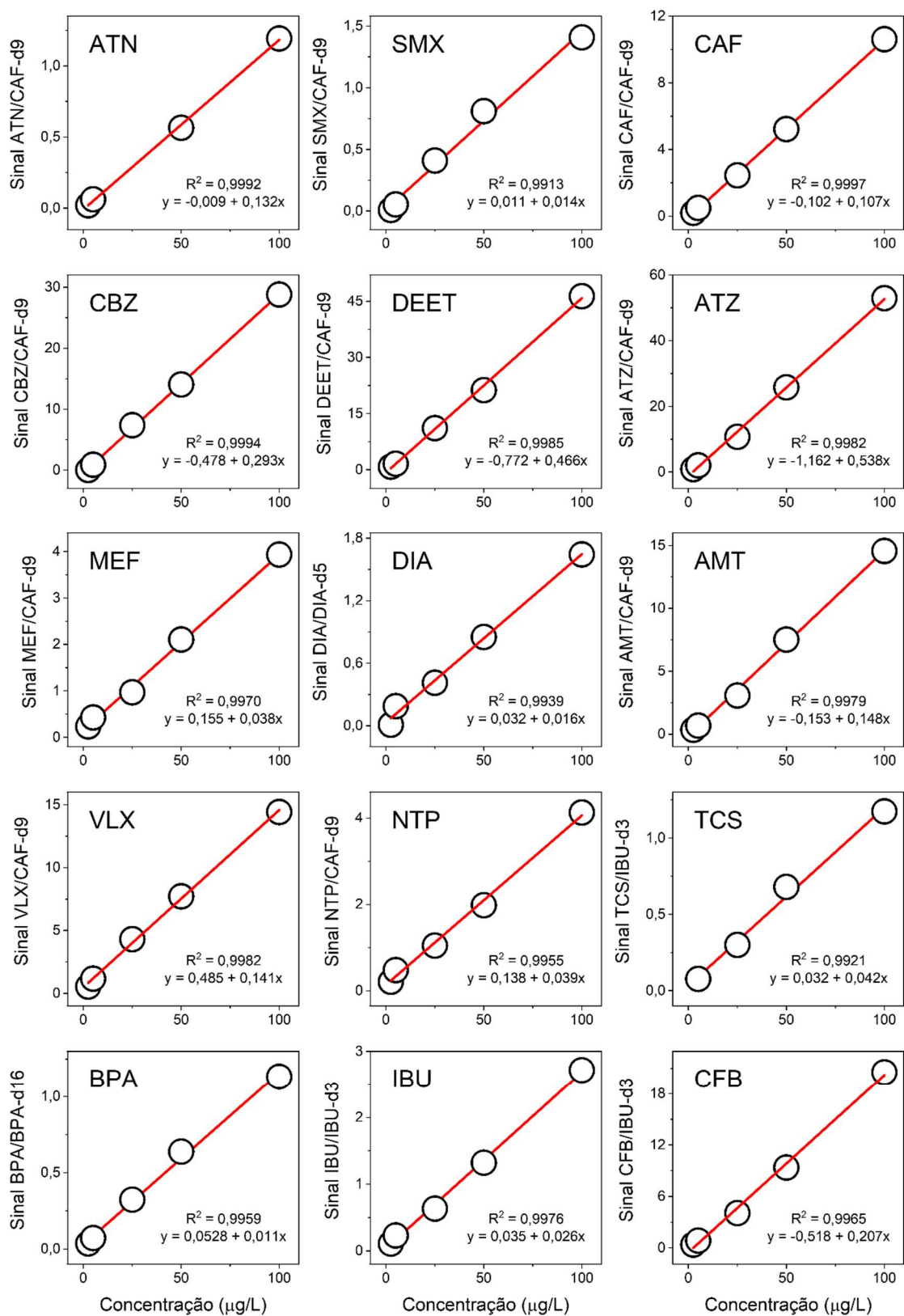


Figura.3B: Curvas analíticas para os MPE investigados construídas para análise de amostras durante o Período de Seca

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE DE TESE DE DOUTORADO

Declaro que a presente tese é original, elaborada especialmente para este fim, não tendo sido apresentada para obtenção de qualquer título e que identifique e cito devidamente todas as autoras e todos os autores que contribuíram para o trabalho, bem como as contribuições oriundas de outras publicações de minha autoria.

Declaro estar ciente de que a cópia ou o plágio podem gerar responsabilidade civil, criminal e disciplinar, consistindo em grave violação à ética acadêmica.

Brasília, 10 de fevereiro de 2022.

Assinatura da discente: *Hadassa de Souza Ramos Pontes Moura*

Programa: Programa de Pós-Graduação em Química – Universidade de Brasília.

Nome completo: Hadassa de Souza Ramos Pontes Moura

Título do Trabalho: Determinação de micropoluentes de preocupação emergente em amostras de origem biológica e ambiental.

Nível: () Mestrado (X) Doutorado

Orientador: Fernando Fabríz Sodré