



Universidade de Brasília

Instituto de Química

Programa de Pós Graduação em Química

THIAGO ROSA SAMPAIO

Tese de Doutorado

Orientador: Dr. Fernando Fabríz Sodré

Abril de 2018



Universidade de Brasília

Instituto de Química

Programa de Pós Graduação em Química

Micropoluentes emergentes em águas de abastecimento público: estratégia analítica para priorização de mananciais e diagnóstico preliminar no DF

THIAGO ROSA SAMPAIO

Tese apresentada como parte dos requisitos parciais para a obtenção do título de Doutor em Química

Orientador: Dr. Fernando Fabríz Sodré

Área de Concentração: Química Analítica

Brasília, abril de 2018.

Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a) **Thiago Rosa Sampaio**, matrícula nº **14/0107690**, intitulada “***Micropoluentes emergentes em águas de abastecimento público: estratégia analítica para priorização de mananciais e diagnóstico preliminar no DF***”, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 27 de abril de 2018.

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

Prof. Dr. Robson José de Cássia Franco Afonso
Membro Titular (UFOP)

Prof.^a Dra. Cristina Celia Silveira Brandão
Membro Titular (Engenharia Ambiental / UnB)

Prof. Dr. Guilherme Dotto Brand
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. Carlos Martín Infante Córdova
Membro Suplente (FS/UnB)

Em 27 de abril de 2018.

Agradecimentos

Quero agradecer especialmente o professor Dr. Fernando Fabriz Sodré, pelo apoio e compreensão demonstrados ao longo do curso. Tive o privilégio de ter sido orientado por ele, e absorver um pouco do grande conhecimento que ele possui.

À minha mãe que sempre me apoiou e me ajudou nas horas difíceis, sempre desejando o meu sucesso e felicidade.

À família pelo apoio e confiança depositados em mim.

À minha namorada Christiani, que ao longo do curso me deu apoio, suporte, companhia, amizade, sempre estando comigo em momentos de dificuldades. Posso dizer que sem ela o caminho trilhado até aqui teria sido muito sem graça.

Aos amigos de graduação e pós graduação, Humberto, Vinícius, Gustavo, Valadão, Daniel, Ítalo, Pedro, Saulo, Elias, Leandro, Gabriel, Hélio, Matheus e tantos outros que fizeram o curso valer a pena.

Aos meus amigos Guilherme Fredão, Carlos, Telmo, Álvaro, Henrique pela amizade construída durante esses anos.

Aos meus amigos Silvano, Tiago, Afonso, Wesley, Rodrigo e respectivas namoradas/esposas pela amizade ao longo desses anos.

Aos colegas do AQQUA pela agradável convivência no laboratório, especialmente Hadassa, Gabriel, Damiana, Jaqueline, Daniel, Cinthia, Milena.

Aos que não me lembrei de citar, mas que contribuíram com algo na minha vida.

E a CAPES pelo fornecimento da bolsa.

Resumo

Este trabalho teve como objetivos desenvolver uma estratégia para priorização de mananciais, utilizados na produção de água para consumo humano e realizar um diagnóstico inicial quanto a presença de contaminantes em água para consumo humano do Distrito Federal. Na primeira etapa do trabalho empregou-se a cafeína, uma substância indicadora de atividade antrópica, como parâmetro para priorizar ambientes impactados por micropoluentes emergentes. Foi desenvolvido e validado método para quantificação de cafeína em água para consumo humano por LC-MS/MS. O método apresentou-se seletivo e linear ($R^2 > 0,99$), os limites de detecção e quantificação foram de 0,12 e 0,33 ng L⁻¹, respectivamente, e as recuperações utilizando cartucho SPE C₁₈ foram, em média, de 91 ± 7%. Ensaios de preservação de amostras indicaram a possibilidade de envio de amostras a pH 2 e temperatura ambiente para análise em um laboratório central em até 3 dias. O método foi aplicado em cinco amostras de água para consumo humano no DF e as concentrações variaram de 10 ± 1 a 17,3 ± 0,8 ng L⁻¹. Considerando que altas concentrações de cafeína podem indicar a presença de outros contaminantes, o método foi considerado satisfatório, sendo proposto um kit voltado à coleta de água para consumo humano de diferentes regiões do país. Na segunda parte do trabalho foi desenvolvido e validado método para quantificação de 35 analitos, incluindo fármacos, metabólitos, produtos de higiene pessoal, dentre outros. O método, baseado na quantificação por adição de padrão, mostrou-se preciso e exato para a maior parte dos analitos e foi aplicado em sete amostras de água para consumo humano do DF. Dos 35 analitos avaliados, 20 foram detectados em ao menos uma amostra enquanto que cafeína, DEET e bisfenol A (BPA) apresentaram frequência de detecção de 100%. As concentrações variaram entre 1,20 e 21,98 ng L⁻¹, sendo o nível mais baixo encontrado para estrona (E1) e o nível mais alto para o DEET. Foi realizada uma avaliação de risco ambiental e para a saúde humana através do cálculo de quociente de risco (QR). 17 α etinilestradiol (EE2), 17 β -estradiol (E2) e E1, apresentaram QR_{amb} superiores a 1,0, indicando risco. Estriol, BPA, atrazina e gemfibrozil apresentaram QR_{amb} superiores a 0,1 indicando a necessidade de mais estudos. Para a saúde humana, EE2 e E2 apresentaram QR_{hum} superiores a 1, indicando risco. Espera-se que os dados obtidos neste trabalho, possam servir de base para a realização de pesquisas futuras de abrangência nacional.

Abstract

The objective of this work was to develop a strategy for the prioritization of water sources used in the production of water for human consumption and to carry out an initial diagnosis of the presence of contaminants in drinking water in the Federal District. In the first stage of the work, caffeine, an indicator of anthropic activity, was used as a parameter to prioritize environments impacted by emerging micropollutants. A method was developed and validated for the quantification of caffeine in drinking water by LC-MS/MS. The method was selective and linear ($R^2 > 0.99$), the limits of detection and quantification were 0,12 and 0,33 ng L⁻¹, respectively, and recoveries using C18 SPE cartridge were on an average of 91 ± 7%. Specimen preservation tests indicated the possibility of sending samples at pH 2 and at ambient temperature for analysis in a central laboratory within 3 days. This method was applied in five samples of drinking water in the FD and the concentrations ranged from 10 ± 1 to 17,3 ± 0,8 ng L⁻¹. Considering that high concentrations of caffeine may indicate the presence of other contaminants, the method was considered satisfactory, therefore, a kit is being proposed for the collection of drinking water samples from different regions of the country. In the second part of the work, another method was developed and validated for the quantification of 35 analytes, including drugs, metabolites, personal care products, among others. This method, based on standard addition quantification, was accurate for most of the analytes and was applied to seven samples of drinking water from the FD. Of the 35 analyzed analytes, 20 were detected in at least one sample while caffeine, DEET and bisphenol A (BPA) have evidenced a detection frequency of 100%. Concentrations ranged from 1,20 to 21,98 ng L⁻¹, the lowest level found for estrone (E1) and the highest level for DEET. An environmental and human health risk assessment was performed by calculating the risk quotient (RQ). 17 α ethinylestradiol (EE2), 17 β -estradiol (E2) and E1, had RQ_{amb} higher than 1,0, indicating risk. Estriol, BPA, atrazine and gemfibrozil presented RQ_{amb} higher than 0,1 indicating the need for further studies. For human health, EE2 and E2 presented QR_{hum} greater than 1, indicating risk. It is hoped that the data obtained in this work could serve as a basis for conducting future surveys of national scope.

Sumário

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1.1 ESCASSEZ E REUSO DE ÁGUA	4
1.1.1 <i>Situação Hídrica no Brasil</i>	4
1.1.2 <i>Situação Hídrica no DF</i>	7
1.1.3 <i>Reutilização de água para fins potáveis</i>	8
1.2 MICROPOLUENTES DE INTERESSE EMERGENTE	10
1.2.1 <i>Fármacos em águas naturais</i>	11
1.2.2 <i>Fármacos na água para consumo humano</i>	17
1.3 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM MATRIZES DE ÁGUA	19
1.3.1 <i>Métodos de Extração</i>	20
1.3.2 <i>Separação cromatográfica e técnica de detecção</i>	21
1.3.3 <i>Espectrômetros de massa utilizados na determinação de contaminantes emergentes</i>	23
1.3.4 <i>Efeitos de matriz em LC-MS/MS</i>	25
1.4 PRIORIZAÇÃO DE FÁRMACOS E AVALIAÇÃO DE RISCO	27
1.4.1 <i>Avaliação de risco ambiental</i>	28
1.4.2 <i>Avaliação de Risco a Saúde Humana</i>	32
2 CAFEÍNA NA ÁGUA TRATADA: ESTRATÉGIA PARA PRIORIZAÇÃO DE MANANCIAIS	36
2.1 INTRODUÇÃO	36
2.2 OBJETIVOS	38
2.3 PARTE EXPERIMENTAL	38
2.3.1 <i>Instrumentação, Materiais, Reagentes e Padrões Analíticos</i>	38
2.3.2 <i>Limpeza de Vidrarias</i>	41
2.3.3 <i>Desenvolvimento do Método Analítico</i>	41
2.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO	50
2.4.1 <i>Curva analítica e linearidade</i>	50
2.4.2 <i>Limites de Detecção e Quantificação</i>	51
2.4.3 <i>Seletividade</i>	51
2.4.4 <i>Ensaio de Recuperação</i>	51
2.4.5 <i>Precisão</i>	52
2.4.6 <i>Exatidão</i>	53

2.5	APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE ÁGUA TRATADA	53
2.5.1	<i>Coleta e Manuseio das amostras</i>	53
2.5.2	<i>Pontos de Amostragem de água para consumo humano no DF</i>	54
2.6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
2.6.1	<i>Escolha dos íons precursor e produto</i>	56
2.6.2	<i>Método Cromatográfico</i>	58
2.6.3	<i>Otimização dos Parâmetros da Fonte de Ionização</i>	61
2.6.4	<i>Avaliação dos processos de concentração</i>	62
2.6.5	<i>Preservação de amostras e pH de extração</i>	63
2.6.6	<i>Validação do Método Analítico</i>	66
2.6.7	<i>Análise de amostras de água para consumo humano do DF</i>	70
2.7	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	72
3	MICROPOLUENTES EMERGENTES NAS ÁGUAS PARA CONSUMO HUMANO DO DF	75
3.1	INTRODUÇÃO	75
3.1.1	<i>Justificativa</i>	75
3.1.2	<i>Produtos farmacêuticos e de higiene pessoal investigados neste trabalho</i>	77
3.1.3	<i>Objetivos</i>	79
3.2	PARTE EXPERIMENTAL	79
3.2.1	<i>Instrumentação, Materiais, Reagentes e Padrões Analíticos</i>	79
3.2.2	<i>Limpeza de Vidrarias</i>	83
3.2.3	<i>Desenvolvimento Método Analítico</i>	83
3.3	VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	96
3.3.1	<i>Curva analítica e linearidade</i>	96
3.3.2	<i>Limite de Detecção e Limite de Quantificação</i>	96
3.3.3	<i>Seletividade</i>	97
3.3.4	<i>Ensaio de Recuperação</i>	97
3.3.5	<i>Precisão e Exatidão</i>	98
3.4	DETERMINAÇÃO DE MICROPOLUENTES EMERGENTES NA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO DO DF	98
3.4.1	<i>Procedimento de Coleta e Manuseio das amostras</i>	98
3.4.2	<i>Pontos de Amostragem</i>	98
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	100
3.5.1	<i>Escolha do íon precursor e íons produtos para quantificação e identificação dos analitos alvo</i>	100

3.5.2	<i>Método Cromatográfico</i>	103
3.5.3	<i>Otimização dos Parâmetros de Fonte de Ionização</i>	107
3.5.4	<i>Otimização do método de extração em fase sólida</i>	107
3.5.5	<i>Validação do Método Analítico</i>	111
3.5.6	<i>Análise de amostras de água para consumo humano</i>	117
3.5.7	<i>Avaliação de Risco</i>	133
3.6	CONCLUSÕES	143
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	146
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	147
	ANEXO-I	161
	ANEXO-II	170

Lista de Abreviaturas e Acrônimos

- ACT – Acetaminofeno
- ADASA – Agência Reguladora de Águas, Energia e Saneamento Básico do DF
- AINE – Anti-inflamatórios não esteroidais
- AMT - Amitriptilina
- ANOVA - Coleção de modelos estatísticos
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AQQUA - Grupo de Automação, Quimiometria e Química Ambiental
- ATN – Atenolol
- ATZ - Atrazina
- BPA – Bisfenol A
- BUP - Bupropiona
- BUP - Bupropiona
- BZF - Bezafibrato
- CAESB – Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal
- CAF – Cafeína
- CE – *Collision Energy*
- CFB – Ácido Clofíbrico
- CFX - Cefalexina
- CMZ - Carbamazepina
- COT - Cotinina
- CPX - Ciprofloxacina
- CUR – *Curtain Gas*
- CV – Coeficiente de Variação
- DAP – Dapsona
- DEET – N,N-dimetil-meta-toluamida
- DF – Distrito Federal
- DFN – Diclofenaco Sódico
- DP– *Declustering Potential*
- E1 – estrona
- E2 – 17 β -estradiol
- E3 - Estriol
- EE2 – 17 α -etinilestradiol

ESI – *Electrospray Ionization*
ETA – Estação de tratamento de água
ETE – Estação de tratamento de esgoto
ETM - Eritromicina
EUA – Estados Unidos da América
FM – Fase Móvel
GC – *gas chromatography*
GC-MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GC-MS/MS – Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com fragmentação e formação de íon produto
GFB - Gemfibrozil
GS1 – *Gas 1*
GS2 – *Gas 2*
HCT – Hidroclorotiazida
IDA – Ingestão Diária Aceitável
IBU - Ibuprofeno
Inmetro – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IS- *Ion Spray Voltage*
IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry*
Kow - Coeficiente de partição octanol/água
LC – *liquid chromatography*
LC-MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
LC-MS/MS – Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas com fragmentação e formação de íon produto.
LOD – Limite de Detecção
Log K_{ow} - Logarítimo decimal do coeficiente de partição octanol/água
LOQ – Limite de Quantificação
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MBR – *Membrane Bio Reactor*
MEF – Ácido Mefenâmico
MRM – *Multiple Reaction Monitoring*
MS – *mass spectrometry*
NOAEL - *No Observed Adverse Effect Level*

NGT - Norgestrel
NIC - Nicotina
NOR - Nortriptilina
NPX - Naproxeno
OH-COT – Trans-3-hidroxicotinina
OMS – Organização Mundial da Saúde
ONU – Organização das Nações Unidas
PEC – *Predicted Environmental Concentration*
PHP – Produtos de Higiene Pessoal
PNEC – Predicted non effect concentration
PTFE – politetrafluoretileno
PXT - Paraxantina
QqQ – triploquadropolo
Q-TOF – espectrômetro híbrido quadropolo com TOF
SMX - Sulfametoxazol
SPE – *solid phase extraction*
TCS - Triclosan
TEM. *Temperature*
TEO - Teobromina
TOF – *time-of-flight*
UHPLC – *ultra high performance liquid chromatography*
UnB – Universidade de Brasília
USEPA – *United States Environmental Protection Agency*
VEN - Venlafaxina
VMP – Valor Máximo Permitido
WHO – *World Health Organization*

Lista de Figuras

Figura 1. Mapa descritivo das direções dos rios voadores. (Adaptado de www.riosvoadores.com.br).....	7
Figura 2. Rotas de aporte e exposição ambiental de micropoluentes de interesse emergente (adaptado de Raghav, 2013)	11
Figura 3. Etapas no processo de extração em fase sólida. (adaptado de Canela et al., 2014)	21
Figura 4. Resumo das aplicações dos métodos analíticos para determinação de fármacos. (adaptado de WHO, 2012)	22
Figura 5. Diagrama de priorização de contaminantes (adaptado de Raghav et al, 2013).....	31
Figura 6. Estrutura molecular das substâncias avaliadas neste trabalho.	40
Figura 7. TripleTOF. a) Esquema do interior de um LC-MS/MS(Q-TOF), modelo TripleToF5600+ (Sciex). b) Fotografia real do sistema de quadropolos e detecção. (Adaptado).....	44
Figura 8. Fotografia do sistema de extração <i>labmade</i> aplicado neste trabalho.	48
Figura 9. Sistemas de abastecimento de água no DF (adaptado de CAESB, 2011). Pontos amostrais marcados com X.....	55
Figura 10. Espectros de massa mostrando diferentes perfis de fragmentação da cafeína sob quatro níveis de energia de colisão.....	57
Figura 11. Cromatograma dos analitos avaliados e seus respectivos tempos de retenção (min) e transições para quantificação massa/carga. Concentração dos analitos 10 µg L ⁻¹ ...	60
Figura 12. Sistemas de abastecimento de água no DF (adaptado de CAESB, 2011). Pontos amostrais marcados com X e respectivas concentrações determinadas para Cafeína (n=3).	71
Figura 13. Kit para coleta de amostras. a) caixa de isopor 3 litros; b) frasco eppendorf; c) frasco PET âmbar 150 mL com tampa.....	73
Figura 14. Fluxograma para recebimento, coleta, envio, e análise de amostras de água para consumo humano, considerando serviço SEDEX dos Correios.	73
Figura 15. Estrutura molecular das substâncias avaliadas neste trabalho.	81
Figura 16. Fotografia do sistema de extração <i>labmade</i> aplicado neste trabalho.	92
Figura 17. Expressão gráfica de uma curva analítica por adição de padrão. (Adaptado de Harris and Lucy, 2015).....	95
Figura 18. Regiões onde foram coletadas amostras de água para consumo humano. Pontos amostrais marcados com X.....	99
Figura 19. Cromatogramas individuais de analitos investigados no modo positivo.	104
Figura 20. Cromatogramas individuais de analitos investigados no modo negativo	106
Figura 21. Recuperações obtidas para NPX em cada experimento do planejamento fatorial e o gráfico de probabilidade normal mostrando os efeitos principais e secundários de cada fator avaliado.	108
Figura 22. Chuva acumulada (mensal) no Distrito Federal entre janeiro de 2017 e fevereiro de 2018 e a indicação dos meses de coleta das amostras.	117
Figura 23. Curva analítica com adição de padrão para quantificação de DEET. Amostra da ETA Lago Norte.	118
Figura 24. Frequência de detecção dos micropoluentes emergentes investigados neste trabalho (n=14).	123
Figura 25. Frequência de quantificação dos analitos investigados neste trabalho.	133

Figura 26. Avaliação de risco ambiental segundo dados obtidos de QRamb para cada analito quantificado.....	135
Figura 27. Avaliação de risco a saúde humana conforme resultados obtidos de QRhum para cada analito investigado	139
Figura 28. Avaliação de risco a saúde humana para E2 e EE2 comparando-se diferentes valores de VMP propostos para estas substâncias.....	140
Figura 29. Índice de Risco para cada amostra analisada neste trabalho.....	142

Lista de Tabelas

Tabela 1. Ocorrência de alguns fármacos em águas naturais superficiais, subterrâneas e efluentes de ETE. Adaptado de Sui et al. (2015), Verlicchi et al. (2012) e (Lorz et al., 2014)	14
Tabela 2. Propriedades físico-químicas das substâncias avaliadas. (<i>Drug Bank</i>)	40
Tabela 3. Massas exatas e íons precursores selecionados	43
Tabela 4. Gradiente de eluição utilizado na separação cromatográfica	45
Tabela 5. Planejamento Fatorial 1 – Otimização dos parâmetros de fonte	46
Tabela 6. Planejamento Fatorial 2 – Otimização dos parâmetros de fonte	46
Tabela 7. Planejamento Fatorial 3 – Otimização dos parâmetros de fonte	47
Tabela 8. Gradiente de vácuo utilizado na concentração dos extratos em equipamento Syncore Analyst	48
Tabela 9. Otimização do método de SPE	50
Tabela 10. Pontos amostrais e sistemas produtivos representados	56
Tabela 11. Valores ótimos dos parâmetros DP e CE para cada analito e respectivos íons produtos utilizados para quantificação e identificação	58
Tabela 12. Efeitos principais calculados de acordo com às áreas relativas encontradas para cafeína	61
Tabela 13. Valores otimizados para os parâmetros de fonte de ionização para a cafeína ...	62
Tabela 14. Recuperação de cafeína em solventes submetidos a diferentes métodos de concentração de amostra (n = 3, 95% de confiança)	63
Tabela 15. Resultados obtidos para ensaios de recuperação em amostras de água ajustadas a pH 2,0 e 10,0 e em diferentes dias	64
Tabela 16. Análise de variância de modelo linear - ANOVA	67
Tabela 17. Linearidade, Limite de Detecção e Quantificação Instrumental	67
Tabela 18. Precisão (Repetibilidade) e Exatidão (Recuperação): coeficientes de variação para os três níveis de concentração de cafeína, dia 1.	68
Tabela 19. Precisão (Repetibilidade) e Exatidão (Recuperação): coeficientes de variação para os três níveis de concentração de cafeína, dia 2	68
Tabela 20. Precisão Intermediária para Cafeína	69
Tabela 21. Limite de Detecção e Quantificação do Método Completo	69
Tabela 22. Substâncias investigadas neste trabalho e suas classes	78
Tabela 23. Propriedades físico-químicas das substâncias investigadas neste trabalho. (<i>Drug Bank; Pubchem</i>)	82
Tabela 24. Massas exatas e íons precursores avaliados	84
Tabela 25. Gradiente de eluição utilizado na separação cromatográfica utilizada para analitos no modo de ionização positivo	87
Tabela 26. Gradiente de eluição utilizado na separação cromatográfica utilizada para analitos no modo de ionização negativo	87
Tabela 27. Matriz utilizada para construção do planejamento fatorial para otimização da processo de extração	90
Tabela 28. Planejamento fatorial para otimização do processo de extração	90
Tabela 29. Pontos amostrais e sistemas produtivos representados	100
Tabela 30. Valores ótimos dos parâmetros DP e CE para cada analito e respectivos íons produtos utilizados para quantificação e identificação	101

Tabela 31. Valores otimizados para os parâmetros de fonte de ionização no modo positivo	107
Tabela 32. Valores otimizados para os parâmetros de fonte de ionização no modo negativo	107
Tabela 33. Valores de pH de amostra empregados para garantir elevada recuperação empregando-se extração SPE (Oasis HLB)	111
Tabela 34. Linearidade, Limite de Detecção e Quantificação Instrumental	113
Tabela 35. Precisão (Repetibilidade) e Exatidão (Recuperação): coeficientes de variação .	115
Tabela 36. Limite de Detecção e Quantificação do Método Completo	116
Tabela 37. Resultados obtidos na primeira campanha de coleta (setembro de 2017). Dados em (ng L ⁻¹)	119
Tabela 38. Resultados obtidos na segunda campanha de coleta (Janeiro de 2018). Dados em (ng L ⁻¹)	121
Tabela 39. Ocorrência de micropoluentes emergentes em água para consumo humano em diferentes países.	129
Tabela 40. Valores de PNEC utilizados para o cálculo de risco ambiental.....	134
Tabela 41. Valores de VMP e NOAEL utilizados para o cálculo de risco à saúde humana	138

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Na última década, inúmeros trabalhos têm evidenciado a presença de poluentes químicos como fármacos e produtos de higiene pessoal (PHP) em águas residuárias, subterrâneas, superficiais e voltadas ao abastecimento público. Tais substâncias são utilizadas, produzidas e/ou consumidas em ambientes urbanos como reflexo das atividades e do estilo de vida adotado pelas sociedades humanas. Presentes no ambiente sob níveis traço, compartilham as mesmas origens, geralmente associadas ao descarte de esgotos em corpos aquáticos receptores, notadamente em ambientes urbanos. Por estas características, e por serem objeto de interesse relativamente recente nos meios acadêmicos e regulatórios, são considerados como micropoluentes emergentes.

As legislações ambientais e da água para consumo humano vigentes no Brasil, bem como na vasta maioria dos países do mundo, ainda não contemplam padrões para micropoluentes emergentes. Embora algumas classes já tenham sido investigadas no Brasil nos últimos anos, os estudos ainda são incipientes evidenciando que existe uma carência de dados químicos (monitoramento sistemático) que possam subsidiar futuras regulações baseando-se na avaliação de risco toxicológico. Neste sentido, a detecção de micropoluentes emergentes em matrizes ambientais e na água para consumo humano reveste-se de grande importância, pois representa uma ferramenta acessória, e por muitas vezes essencial, ao estabelecimento do verdadeiro cenário de contaminação do ambiente e dos riscos para o ecossistema aquático e para saúde humana.

Diante desse cenário, o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de métodos para determinação de micropoluentes emergentes, principalmente fármacos, em amostras de água para consumo humano. Além de desenvolver uma ferramenta empírica que possa ser útil à priorização de mananciais em situação crítica de contaminação e dimensionar possíveis riscos em termos de usos da água para proteção da vida aquática e para consumo humano.

Como objetivos específicos, o trabalho propõe:

- a) Desenvolver métodos de extração e concentração das substâncias de interesse em amostras de água para consumo humano.

- b) Desenvolver métodos para a identificação e quantificação de micropoluentes emergentes por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas;
- c) Realizar um diagnóstico preliminar quanto à presença de fármacos na água para consumo humano do Distrito Federal
- d) Realizar avaliação de risco ambiental e à saúde humana.

Este trabalho foi desenvolvido como forma de atender parte das demandas científicas do projeto de pesquisa intitulado “Diagnóstico nacional quanto à presença de fármacos na água de abastecimento público: monitoramento, detecção in-situ e avaliação ecotoxicológica”, financiado pela Fundação Nacional de Saúde, FUNASA.

Neste sentido, o primeiro capítulo desta tese traz uma revisão bibliográfica onde são discutidos temas como escassez e reuso de água, presença de micropoluentes emergentes em águas e seus efeitos ao ambiente e à saúde humana.

No segundo capítulo é apresentado o desenvolvimento e aplicação de método analítico voltado à quantificação de cafeína em amostras de água para consumo humano como estratégia empírica para priorização de mananciais a serem monitorados quanto a presença de micropoluentes emergentes.

O terceiro capítulo apresenta o desenvolvimento e aplicação de método analítico multirresíduo para determinação de 39 micropoluentes emergentes em amostras de água para consumo humano.

CAPÍTULO 1

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 ESCASSEZ E REUSO DE ÁGUA

Muitas partes do mundo enfrentam escassez de água. A baixa disponibilidade de água coloca restrições significativas ao desenvolvimento social e econômico de países e deteriora a qualidade de vida. Este problema é especialmente preocupante em países cuja economia é fundamentada no setor primário, ou seja, na produção agrícola. A agricultura representa mais de 80% do consumo total de água no mundo, sendo que a escassez de água exerce efeito direto sobre a quantidade e a qualidade de produtos agrícolas e, portanto, sobre a economia de vários países. Por outro lado, em regiões densamente povoadas o consumo de água para fins domésticos aumenta devido ao crescimento da população que demanda água de qualidade (Rijsberman, 2006).

As cidades, por sua natureza, concentram espacialmente as demandas de muitos habitantes em uma pequena área, o que, por si só, aumenta o estresse nos suprimentos finitos de água doce disponíveis nas proximidades. A Organização das Nações Unidas (UN-DESA, 2012) estima que, entre 2011 e 2050, a população mundial passará de 7 bilhões para 9,3 bilhões de habitantes, sendo que nas cidades aumentará de 3,6 para 6,3 bilhões. Isto significa que o crescimento da população mundial será absorvido pelas cidades e acompanhado de um forte crescimento nas demandas de água urbana, especialmente na África Oriental e Ocidental, na América Latina e na Ásia. Estima-se assim que os sistemas de distribuição de água não conseguirão acompanhar essa rápida urbanização.

1.1.1 Situação Hídrica no Brasil

No Brasil, os principais usos da água são para irrigação, abastecimento humano e animal, industrial, geração de energia, mineração, aquicultura, navegação, turismo e lazer. O conhecimento acerca desses usos vem sendo constantemente ampliado através de levantamentos diretos e estudos setoriais. A compatibilização dos usos múltiplos da água deve levar em conta as peculiaridades e as diferentes necessidades de cada uso (BRASIL, 2017). Por exemplo, a qualidade das águas não é relevante

para a navegação, mas essencial para o abastecimento humano, para o lazer em balneários, dentre outros usos.

A demanda por diferentes usos de água no Brasil é crescente, com aumento estimado de aproximadamente 80% no total de água retirado nas últimas duas décadas. A previsão é de que, até 2030, esta retirada aumente mais 30% (BRASIL, 2017).

O histórico da evolução dos usos da água está diretamente relacionado ao desenvolvimento econômico e ao processo de urbanização do país. Na década de 1940, o uso preponderante da água em todos os estados brasileiros era o abastecimento humano (rural e urbano). A partir desse período, o processo de industrialização brasileira ocasionou um aumento do uso industrial até meados dos anos 1980, com posterior estagnação e retomada da expansão nos anos 2000. (BRASIL, 2017) Observou-se uma leve redução do crescimento a partir de 2012, fato este relacionado à crise hídrica verificada em diversas regiões do país, assim como à desaceleração do crescimento econômico brasileiro. A partir desse ano, observou-se também um aumento do uso da água para geração termoelétrica, em função da necessidade de ativação de fontes de energias complementares, ocasionada pela redução no volume de água disponível no país para geração hidroelétrica. Atualmente, o principal uso de água no país, em termos de quantidade utilizada, é a irrigação, que corresponde 67,2% do total de água consumida no país (BRASIL, 2017).

O Brasil reconhecidamente possui suprimentos de águas em abundância. Episódios de secas e escassez foram historicamente confinados apenas a partes da região nordeste do país. Desde 2012, no entanto, a crise de água também atingiu diferentes regiões do país (Marengo et al., 2015). No Nordeste, muitos rios estão em condições críticas devido à baixa precipitação e à alta evaporação. No Sudeste, há alta demanda de água nas áreas metropolitanas, bem como graves cenários de poluição. No sul do país, há estresse hídrico devido à forte demanda de irrigação do arroz, e no Distrito Federal, há uma combinação de falta de chuva por longos períodos do ano e alta demanda (Melo, 2016).

A crise da água é o resultado de uma combinação de causas locais, regionais e globais que levaram a mudanças no ciclo da água, nas chuvas e nas vazões dos rios. O intenso bombeamento de águas subterrâneas para diversos fins, especialmente para irrigação tem levado à diminuição do nível freático em aquíferos, bem como à

redução do volume de água superficial nos rios, tornando-os intermitentes ou efêmeros (de Moura, 2015). Outro motivo é o desmatamento e a substituição da vegetação natural por extensas plantações comerciais de árvores ou por pastagens artificiais para gado. Isso afetou o ciclo da água e também reduziu o armazenamento natural de água no solo, que é importante para alimentar os rios (Cohen et al., 2007).

Outras causas incluem ocupação ilegal de terras, a urbanização não controlada, a ocupação e o desenvolvimento em áreas de recarga de aquíferos e o despejo de resíduos e esgotos em rios. Além disso, a perda de água no uso e nos sistemas de abastecimento reduzem substancialmente a quantidade de água tratada disponível (Alegre et al., 2005).

Existem causas globais que também influenciaram a crise da água no Brasil em certos períodos. Por exemplo, o *El Niño*, o aquecimento do Oceano Pacífico, teve consequências adversas, como maiores secas no nordeste e inundações no sul do Brasil (Marengo, 2008). A mudança climática também tem efeitos locais, já que dados de longa data mostram que, historicamente, a tomada de decisões acerca dos investimentos em infraestrutura de água tornou-se pouco confiável, devido principalmente a diminuição da precipitação em relação à média histórica (Grimm et al., 1998).

No Brasil, a floresta amazônica é a controladora do regime climático das regiões mais densamente povoadas, pois é o ponto de partida do deslocamento de massas úmidas para a região centro/sul do país. Com evaporação e ventos soprando do Atlântico para o oeste, há a formação dos chamados “rios voadores” (Figura 1) que transportam umidade pelos ventos. Sua passagem para o leste, no entanto, é bloqueada pelos Andes e, conseqüentemente, eles se voltam para o sul e, finalmente, precipitam na forma de chuva no centro do Brasil e no sudeste (Nobre, 2014). Diante deste cenário, o desmatamento na Amazônia para fins agropecuários enfraqueceu os rios voadores e também reduziu substancialmente o volume de chuvas (Nobre, 2014).

De 2013 a 2016, 48 milhões de pessoas foram afetadas por secas e estiagens no Brasil, 6 vezes mais que por cheias. Foram quantificados 4.824 eventos de seca associados a danos humanos, quase 3 vezes mais que os de cheias (1.738) (Brasil, 2016). O ano de 2016 foi o mais crítico quanto aos impactos da seca sobre a população. Na avaliação mensal, o mês de outubro, seguido de abril e maio, foram os meses que apresentaram maiores registros de seca. Um total de 83% das pessoas

afetadas por secas de 2013 a 2016 vivem na Região Nordeste. Ceará, Minas Gerais e Bahia totalizaram 61% dos registros do país. No Acre foi registrada a maior média de pessoas afetadas pelo evento de seca (58 mil) (CGEE, 2016).



Figura 1. Mapa descritivo das direções dos rios voadores. (Adaptado de www.riosvoadores.com.br)

1.1.2 Situação Hídrica no DF

No Distrito Federal (DF), a combinação de chuvas abaixo da média, altas temperaturas, captações clandestinas, ocupação desordenada, aumento da população – recentemente, na ordem de 60 mil por ano em média – e ausência de obras estruturantes por mais de 16 anos, impactaram diretamente o abastecimento de água em Brasília em 2017, principalmente para a população abastecida pelos reservatórios do Descoberto e Santa Maria, que juntos fornecem 89,3% da água tratada no Distrito Federal, representando 81,7% da população atendida pela Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (Caesb) (Benfica et al., 2017; BRASIL, 2017).

Dentre as ações emergenciais adotadas pelo Governo do DF para enfrentar a crise, (por meio da Agência Reguladora de Águas, Energia e Saneamento Básico - ADASA) foram suspensas as permissões para perfuração de poços artesianos e cisternas, captação de água por caminhões-pipa e, após redução da pressão na rede de distribuição, foi implantado racionamento de água em sistema de rodízio. Também foi adotada uma tarifa de contingência a partir de dezembro de 2016, e elaborado um plano emergencial de captação de água do Lago Paranoá, incluindo a construção de uma estação de tratamento de água (ETA) emergencial e a interligação dos sistemas Santa Maria-Torto e Descoberto para reforçar o abastecimento nas regiões atendidas pelo Descoberto. O início da operação desta nova ETA ocorreu em outubro de 2017 (BRASIL, 2017). Outras medidas consistem na implementação de novos subsistemas de abastecimento, que consistem no subsistema produtor de água do Bananal (Ribeirão Bananal) e subsistema produtor de água do Corumbá (Rio Corumbá).

O DF encontra-se em situação de escassez em função da alta demanda acompanhada de uma baixa disponibilidade hídrica. Neste sentido há uma necessidade crescente de gerenciar recursos hídricos de forma sustentável, sendo que o reuso torna-se cada vez mais importante.

1.1.3 Reutilização de água para fins potáveis

O reuso indireto de água inclui a descarga de água reciclada altamente tratada em um corpo aquático receptor, como um rio, riacho, reservatório ou aquífero, antes do tratamento para a produção de água para consumo humano. O tempo de residência pode variar de semanas a anos, permitindo processos naturais de recuperação do corpo aquático, como por exemplo a autodepuração. Outro fator importante é a diluição ao longo do corpo aquático, que reduz a concentração de eventuais contaminantes introduzidos através da água reciclada. Diferentemente, o reuso direto da água consiste na introdução de água reciclada derivada de esgoto altamente tratado em um sistema de reciclagem sem passar por um corpo intermediário de recepção de água. Este tipo de uso é comum em indústrias e na agricultura. (AUSTRALIA, 2008)

A reutilização de água para fins potáveis, que consiste no reuso indireto de água, se desenvolveu, em grande parte, como resultado dos avanços em tecnologia de

tratamento que permitem a produção de água reciclada de alta qualidade, com custos cada vez mais razoáveis. Neste cenário, as águas residuárias são tratadas e os efluentes finais descartados nas fontes de águas subterrâneas ou superficiais com a intenção de aumentar a quantidade de água disponível para o abastecimento. Recentemente, esse procedimento passou a ser utilizado no DF, com a utilização do Lago Paranoá, que recebe efluentes de duas estações de tratamento de esgotos (ETE), como manancial para fins de abastecimento público. Entretanto, no Brasil, o reuso de água, direto ou indireto, ainda não possui legislação específica.

A água recuperada é usada para cobrir as necessidades dos fluxos de água doce nos ecossistemas, bem como para a recarga de aquíferos e para o aprimoramento do abastecimento de água urbana. Tal estratégia também foi seguida, por exemplo, para a restauração ecológica do ecossistema Everglades na Flórida (Canals et al., 2009). Cidades com recursos hídricos limitados, como Dalas, Tampa, San Diego, Las Vegas e Washington nos EUA, Londres na Inglaterra, Berlin na Alemanha, Barcelona na Espanha, Windhoek na Namíbia, além de regiões em países como Cingapura, Austrália e Bélgica, já implementaram a reutilização de águas residuárias para fins potáveis como uma opção viável ao gerenciamento sustentável. Trata-se de uma alternativa de abastecimento que não depende diretamente da precipitação, sendo possível obter água reciclada de alta qualidade que atendem padrões e diretrizes que definem a potabilidade da água (AUSTRALIA, 2008; Sato et al., 2013; WaterReuse Research Foundation, 2015).

Outros países sob escassez de água, como Chipre, Jordânia e Israel, reutilizam 100%, 95% e 80% de suas águas residuárias, respectivamente. Em Israel o abastecimento de água é aumentado em 18% utilizando as águas residuárias tratadas como alternativa (MED-EUWI, 2007).

Apesar das vantagens em se utilizar águas residuárias como fonte de recarga em sistemas de abastecimento público, considerando as características do reuso indireto de água, é necessária uma abordagem cautelosa para gerenciar possíveis riscos ao ambiente e à saúde humana, uma vez que os perigos químicos e biológicos de águas residuárias são muito superiores aos encontrados em águas livres de atividade antrópica.

Neste sentido, para garantir o lançamento de efluentes de águas residuárias em mananciais é preciso que indicadores físicos, químicos, bacterianos, virais e

patogênicos sejam devidamente monitorados. Embora existam no Brasil padrões para o lançamento de efluentes em corpos aquáticos receptores (CONAMA, 2011), é importante mencionar que águas residuárias também trazem consigo substâncias não legisladas que devem ser investigadas de forma que não existam riscos tanto à biota aquática quanto à saúde humana. Este aspecto é essencial para se garantir usos sustentáveis da água em cenários de crise hídrica.

1.2 MICROPOLUENTES DE INTERESSE EMERGENTE

O termo micropoluentes se refere à substâncias orgânicas ou minerais cujo teor tóxico, propriedades persistentes e bioacumulativas podem ter um efeito negativo sobre o ambiente e/ou organismos. A maioria dos contaminantes que são recalcitrantes na natureza são compostos xenobióticos. Estes compostos não são comumente produzidos na natureza. No entanto, infelizmente, eles fazem parte da vida humana na sociedade moderna. Diferentes indústrias desenvolvem e produzem vários compostos que devem melhorar a vida humana. No entanto, a maioria deles é altamente tóxica ao meio ambiente se não for gerenciada adequadamente (Macedonio and Drioli, 2017). Comumente o termo microcontaminantes também é utilizado para se referir a estas substâncias (Aquino et al., 2013), no entanto este termo refere-se a existência de agentes ambientais nocivos cujas identidades, ocorrências, perigos e efeitos não são suficientemente compreendidos (Halden, 2015). Neste trabalho os dois termos são utilizados para se referir as mesmas substâncias.

Em geral, há grande preocupação com relação a micropoluentes de interesse recente em ambientes aquáticos, especialmente aqueles associados às atividades antrópicas, pois estes são continuamente eliminados pela sociedade atingindo diferentes fontes de água. Atualmente, grande parte das operações envolvidas durante o tratamento de esgotos, não é completamente efetiva na eliminação de várias substâncias. Além disso, em locais onde o tratamento é incipiente, realidade comum de muitos países e cidades brasileiras, há o descarte direto de esgotos em corpos aquáticos. Assim, tanto os efluentes de ETE quanto o esgoto bruto tornam-se portas de entrada para muitos micropoluentes emergentes no ambiente.

No mundo, segundo a OMS (WHO, 2014), 2,4 bilhões de pessoas não tem acesso ao saneamento básico. No Brasil, um estudo recente mostrou que somente

48,7% dos municípios contam com ao menos um sistema de tratamento de esgoto, totalizando 38,7% da população do país (BRASIL, 2016). Outra rota de contaminação importante remete ao lixiviado de aterros sanitários que atingem águas subterrâneas. Quando os resíduos são dispostos em aterros sobre áreas com solo permeável (cascalho, areia ou rochas fissuradas) a migração do lixiviado pode provocar a contaminação de áreas muito maiores do que aquelas em que os resíduos estão dispostos (Nakamura et al., 2014). Na Figura 2, é apresentado um diagrama representativo das fontes de microcontaminantes ambientais e suas rotas de transporte no ambiente.

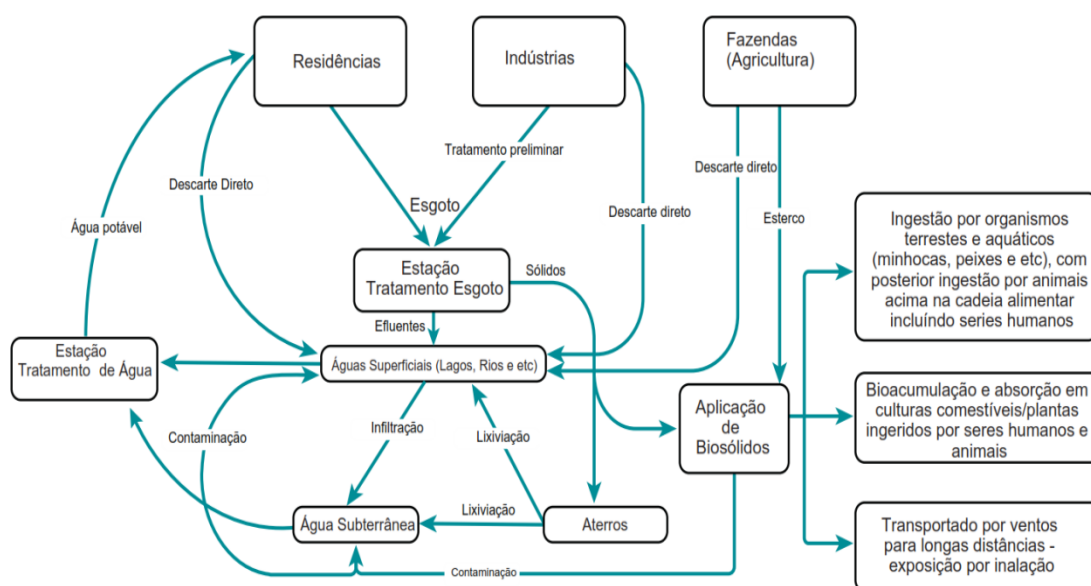


Figura 2. Rotas de aporte e exposição ambiental de micropoluentes de interesse emergente (adaptado de Raghav, 2013)

1.2.1 Fármacos em águas naturais

Fármacos têm sido detectados em águas superficiais e subterrâneas, especialmente em países desenvolvidos, desde a década de 90. São geralmente medicamentos para uso humano e veterinário, bem como seus metabólitos.

Devido a aspectos como volume de prescrição, toxicidade e evidências quanto a presença no ambiente, anti-inflamatórios não esteroidais (AINE), antibióticos, betabloqueadores, antiepilépticos, agentes hipolipemiantes, antidepressivos, hormônios e anti-histamínicos são os grupos farmacêuticos mais estudados (Heberer, 2002).

Mesmo que uma série de pesquisas tenha sido focada na ocorrência, destino e efeitos de produtos farmacêuticos no ambiente, existem dados sobre a ocorrência de mais de 600 substâncias farmacêuticas presentes no meio ambiente em todo o mundo, além de poucas informações sobre seus efeitos (Kuster and Adler, 2014). Há ainda menos informações sobre a ocorrência e o destino dos produtos de transformação/degradação (ativos ou não). Investigações qualitativas e quantitativas de produtos farmacêuticos em matrizes ambientais são sempre bons pontos de partida para o estabelecimento de novas regulações para fins de avaliação do risco ambiental de produtos farmacêuticos. (Khetan and Collins, 2007)

Os AINE são a classe mais utilizada de medicamentos para o tratamento de dor aguda e inflamação (Bessone, 2010). Eles são administrados por via oral e tópica e estão disponíveis sob prescrição médica e como medicamentos de venda livre (sem receita médica). O alto consumo e o modo de administração dos AINE resultam em concentrações elevadas em efluente das ETE (Miege et al., 2009). Dentre os AINEs mais estudados durante os tratamentos de águas residuárias estão o ibuprofeno, o diclofenaco, o naproxeno, o cetoprofeno e o ácido mefenâmico (Migowska et al., 2012). Os AINEs detectados sob concentrações mais elevadas no afluente de ETE são o ibuprofeno, o naproxeno e o cetoprofeno (na faixa de alguns $\mu\text{g L}^{-1}$). Embora estas concentrações sejam relativamente baixas, estão longe de serem insignificantes. Heberer (2002) identificou o diclofenaco como um dos produtos farmacêuticos mais importantes no ciclo da água, já que foi encontrado em concentrações de 3,0 e 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ no afluente e no efluente, respectivamente, de uma ETE municipal de Berlim.

Os betabloqueadores são outra classe importante de medicamentos prescritos, pois são muito eficazes no tratamento de doenças cardiovasculares. Assim como os AINE, os betabloqueadores não são altamente persistentes, mas estão presentes no ambiente devido ao alto volume de produção e uso. Estas substâncias são geralmente encontradas em fase aquosa devido à sua baixa afinidade por meios sorventes e à elevada biodegradabilidade. Atenolol, metoprolol e propranolol tem sido frequentemente identificados em águas residuárias, sendo a primeira substância frequentemente detectada sob concentrações mais altas atingindo até 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Kuster et al., 2009).

Fármacos reguladores lipídicos, como estatinas e fibratos, também são utilizados no tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares. Dentre os fármacos reguladores lipídicos, em geral, o ácido clofíbrico é um dos mais frequentemente detectados no ambiente e também uma das substâncias mais persistentes no ambiente, persistência estimada em 21 anos (Khetan and Collins, 2007). Foi detectado em concentrações da faixa de ng L^{-1} tanto em águas residuárias quanto em efluentes de ETE. Muitos análogos do clofibrato, como o gemfibrozil, bezafibrato e fenofibrato, foram detectados em afluentes de ETE em concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ (Jelic et al., 2011).

Os fármacos antibióticos são destinados ao tratamento de doenças e infecções causadas por bactérias. Estão entre os medicamentos mais frequentemente prescritos para humanos e animais na medicina moderna. Betalactamas, macrólidos, sulfonamidas, fluoroquinolonas e tetraciclinas são os grupos de antibióticos mais utilizados na medicina humana e veterinária. O alto consumo global de até 200.000 toneladas por ano e alta porcentagem de antibióticos que podem ser excretados sem sofrer metabolismo (até 90%) resultam em uma presença generalizada no ambiente (Kummerer, 2001). As formas farmacêuticas não metabolizadas de antibióticos concentrados em lodo de esgoto bruto podem promover o desenvolvimento da resistência bacteriana. As bactérias em lodo são mais resistentes do que bactérias provenientes de outros lugares. O sulfametoxazol é uma das sulfonamidas mais detectadas sob concentrações na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras de efluentes de ETE (Américo et al., 2013).

Embora o antiepiléptico carbamazepina seja um dos produtos farmacêuticos mais estudados e detectados no ambiente, não há muita informação sobre a ocorrência e o destino de outros medicamentos da mesma classe em ETE. A carbamazepina é um dos fármacos mais amplamente receitados e muito importante para o tratamento da epilepsia e de algumas doenças psiquiátricas, como por exemplo, transtornos bipolares (Cunningham et al., 2010). A carbamazepina é quase completamente transformada pelo metabolismo com menos de 5% de excretada na forma inalterada. Ainda assim, os conjugados glucuronídeos da carbamazepina podem presumivelmente ser clivados durante o tratamento de águas residuárias, de modo que suas concentrações ambientais aumentam (Guasch et al., 2012). A

carbamazepina e seus metabólitos também tem sido detectadas em águas residuárias e em biossólidos (Miao et al., 2005).

Na Tabela 1 é apresentado um resumo dos fármacos encontrados em águas naturais ao redor do mundo.

Tabela 1. Ocorrência de alguns fármacos em águas naturais superficiais, subterrâneas e efluentes de ETE. Adaptado de Sui et al. (2015), Verlicchi et al. (2012) e (Lorz et al., 2014)

Substância	Número de Amostras	Frequência de Detecção (%)	Concentração (ng L ⁻¹)	País
Antibióticos				
Sulfametazol	16	12–19*	<LOD-17	Suíça
	121	29	9–46	Espanha
	32	80–100*	<LOD-65	Espanha
	27	4–42	<LOD-0,8	China
	28	24	28,7–124,5	China
	20	60	0,1–113	Estados Unidos
	60	100	26-727	Brasil
Sulfametazina	121	46	<LOD-83,9	Espanha
	32	23–100*	<LOD-29,2	Espanha
	27	8–63*	<LOD-1,2	China
Ofloxacina	32	100	10,2–367	Espanha
	27	10–68*	<LOD-7,6	China
	28	9	<LOD-44,2	China
Norfloxacina	16	6–19*	<LOD-2	Suíça
	32	69–100*	<LOD-462	Espanha
	27	64–79*	<LOD-47,1	China
Azitromicina	44	5	<LOD-68	Sérvia
	16	12	<LOD-10	Suíça
	32	80–100*	<LOD-1620	Espanha
	27	100	0,2–0,7	China
Trimethoprim	16	6	<LOD-0,4	Suíça
	121	19	<LOD-3	Espanha
	32	20–100*	<LOD-9,41	Espanha
	27	4–68*	<LOD-5,2	China
	28	4	<LOD-10,5	China
	20	5	<LOD-0,7	Estados Unidos
	60	3-13	<LOQ	Brasil
Anti-inflamatórios				
Ibuprofeno	6	17	92	Sérvia
	32	46–92*	<LOD-988	Espanha
	51	2	<LOD-104	Alemanha
	28	11	<LOD-57,9	China

Substância	Número de Amostras	Frequência de Detecção (%)	Concentração (ng L ⁻¹)	País
	NA	NA	10	Canada
	32	14	<LOD-65	Jordânia
	60	23-90*	3-496	Brasil
Naproxeno	6	17	27,6	Sérvia
	16	6-12*	<LOD-12	Suíça
	121	NA	145	Espanha
	32	8-40*	<LOD-5,59	Espanha
	28	3	<LOD-86,9	China
	30	80	<LOQ	Brasil
Diclofenaco	16	6-12*	<LOD-3	Suíça
	121	NA	15-55	Espanha
	32	40-100*	<LOD-380	Espanha
	51	2	<LOD-129	Alemanha
	138	4	<LOD-17	Cingapura
	-	-	8500	Paquistão
	-	-	1100 - 15600	Africa
	60	7-100*	<LOQ-2520	Brasil
Ácido Salicílico	6	83	<LOD-2,5	Sérvia
	121	41	<LOD-9,3	Espanha
	32	100	26,6-620	Espanha
	28	98	<LOD-2015	China
	138	58	<LOD-1994	Cingapura
Reguladores Lípidicos				
Bezafibrato	121	45	<LOD-4,22	Espanha
	32	54-100*	<LOD-25,8	Espanha
	51	8	<LOD-19	Alemanha
	60	90-100*	<LOQ	Brasil
Gemfibrozil	121	NA	15,5b	Espanha
	32	62-100*	<LOD-751	Espanha
	51	2	<LOD-23	Alemanha
	20	5	<LOD-1,2	Estados Unidos
	138	4	<LOD-17	Cingapura
	60	47-100*	8-761	Brasil
Ácido Clofíbrico	32	31	<LOD-7,57	Espanha
	51	4	<LOD-1350	Alemanha
	28	3	<LOD-73,9	China
	138	9	<LOD-18	Cingapura
Drogas Psiquiátricas				
Carbamazepina	6	17	3,4	Sérvia
	44	23	<LOD-41	Sérvia

Substância	Número de Amostras	Frequência de Detecção (%)	Concentração (ng L ⁻¹)	País
	121	48	<LOD-62,4	Espanha
	32	92–100*	136	Espanha
	51	33	<LOD-35	Alemanha
	20	25	<LOD-72	Estados Unidos
	138	67	<LOD-9,3	Cingapura
	32	13	<LOD-100	Jordan
	60	43-100*	17-11300	Brasil
Diazepam	121	36	<LOD-8,28	Espanha
	32	23–100*	35,1b	Espanha
Primidona	16	6–19*	<LOD-11	Suíça
	121	41	<LOD-27,62	Espanha
	36	NA	<LOD-140	Alemanha
Estimulante				
Cafeína	121	40	<LOD-55,5	Espanha
	148	80–83*	<LOD-16249	Cingapura
	148	100	1,9–3481	Cingapura
	103	100	200-16900	Brasil
	60	100	60-18000	Brasil
Beta-Bloqueadores				
Propranolol	6	67	<LOD-4,5	Sérvia
	32	23	<LOD-9,38	Espanha
Metoprolol	16	6–12*	<LOD-9	Suíça
	60	13-100*	<LOQ	Brasil
	32	100	95,3–355	Espanha

* Mais de uma área de estudo ou campanhas em diferentes períodos, por isso as frequências de detecção são mostradas por intervalo

NA: Não avaliado

LOD: Limite de Detecção

LOQ: Limite de Quantificação

Na Tabela 1 observa-se que vários fármacos têm sido investigados como micropoluentes de águas. Os principais grupos são representados por antibióticos, analgésicos e antipiréticos, antidepressivos e tranquilizantes, antiinflamatórios e antirreumáticos, produtos esteroides e hormônios relacionados, anestésicos, betabloqueadores, antiepiléticos, antineoplásicos, reguladores lipídicos no sangue, e produtos de contraste de raios-X.

A presença de fármacos em águas naturais urbanas está associada ao constante crescimento do já elevado consumo de medicamentos. Cerca de 4000 fármacos são

fabricados e consumidos anualmente em quantidades elevadas, sendo que no Brasil houve aumento cumulativo de 82,2% nas vendas de medicamentos entre 2007 e 2011 (Kihara et al., 2013). Somente no ano de 2017 houve um crescimento de 11,73% em relação ao ano de 2016 (SINDUSFARMA, 2018).

Além do descarte e da excreção de fármacos pelos habitantes de regiões urbanas, a produção farmacêutica também pode ser uma fonte significativa de resíduos. Considerando que a remoção em ETE é problemática, espera-se um grande aporte de fármacos em corpos aquáticos, o que pode representar até cerca de 60 a 80% da carga total de poluição nos países em desenvolvimento (Schwarzenbach et al., 2010). Somando-se a isso, a expectativa de aporte de fármacos em águas naturais via descarte de esgoto sem tratamento no Brasil deve ser considerada como uma fonte majoritária.

Os níveis de concentração de fármacos em águas naturais estão na faixa de nanograma por litro (ng L^{-1}). No entanto, para algumas substâncias são reportadas concentrações consideravelmente mais altas, na faixa de microgramas por litro ($\mu\text{g L}^{-1}$). Como as concentrações de fármacos em águas naturais são baixas para apresentar quaisquer efeitos tóxicos agudos observáveis, os seus impactos à longo prazo para a vida de organismos, incluindo os seres humanos, estão aos poucos sendo conhecidos. Evidências laboratoriais sugerem que alguns fármacos apresentam efeitos crônicos sobre a reprodução, desenvolvimento e comportamento de espécies aquáticas, entre outros efeitos (Fong, 1998). Efeitos de fármacos na água potável utilizada por seres humanos, embora não seja visto como provável (Webb et al., 2003), não podem ser descartados.

1.2.2 Fármacos na água para consumo humano

No que diz respeito à água tratada, os resultados quanto à presença de fármacos são menos abundantes em comparação aos disponíveis para águas naturais. Um dos estudos mais completos sobre a presença de contaminantes emergentes em água para consumo humano foi realizada por Benotti e colaboradores (2009), que avaliaram 19 fontes de distribuição de água potável nos Estados Unidos. Dentre as 11 substâncias com maior frequência de detecção os fármacos naproxeno, carbamazepina, atenolol, sulfametazol, gemfibrozil apresentaram concentrações

inferiores a 10 ng L⁻¹, sendo o valor mais elevado (40 ng L⁻¹) encontrado para o meprobamato.

Outros estudos também reportaram a presença de vários fármacos na água para consumo humano em concentrações que variaram de nanogramas a microgramas por litro em vários países da Europa, incluindo Alemanha, Países Baixos e Itália. Na Alemanha foram encontrados o analgésico fenazona e o antipirético propilfenazona na água tratada de Berlim, sendo a maior concentração (400 ng L⁻¹) reportada para a primeira substância (Huerta-fontela et al., 2010; Reddersen et al., 2002).

No Brasil, Sodr e e colaboradores (2010b) mostraram a presença de alguns micropoluentes emergentes na água para consumo humano distribuída para a cidade de Campinas no estado de São Paulo e reportaram a presença de cafeína em níveis de concentração de até 220 ng L⁻¹. Canela e colaboradores (2014) publicaram um livro sobre a presença de cafeína em água de abastecimento público de 22 capitais brasileiras e evidenciaram níveis variando entre de 3,5 e 2800 ng L⁻¹. Mais recentemente, Machado e colaboradores (2016), investigaram a presença de vários contaminantes emergentes na água bruta e na água para consumo humano de diversas regiões do Brasil, mas detectaram apenas quatro substâncias na água para consumo humano. Além da cafeína, os autores reportaram a presença do herbicida atrazina, do PHP triclosan e da fenolftaleína.

Embora a ideia de ingerir fármacos via consumo da água tratada seja compreensivelmente preocupante para o grande público, é importante que dois aspectos sejam considerados quando se discute as implicações de fármacos na água para consumo humano:

- a) as concentrações encontradas são bastante baixas se comparadas com as doses terapêuticas e;
- b) as informações toxicológicas sobre os fármacos são mais abundantes quando comparadas a outros contaminantes ambientais de interesse recente.

A presença de contaminantes emergentes na água para consumo humano permite inferir que os níveis de concentração em mananciais são elevados e que os métodos utilizados durante tratamento da água não são completamente eficazes. Com efeito, é possível que não apenas fármacos estejam presentes na água para consumo humano, mas também seus respectivos produtos de degradação e metabólitos. Daí

surge a necessidade de se desenvolver métodos analíticos para acessar a presença destes contaminantes em amostras de águas.

1.3 DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS EM MATRIZES DE ÁGUA

Devido ao grande consumo de diferentes tipos de fármacos, há uma expectativa de encontra-los em diferentes tipos de amostras aquosas em ambientes urbanos. Além disso, nestas amostras, haverá a presença de outras substâncias derivadas, tais como metabólitos e produtos de degradação, aumentando a possibilidade de serem encontradas misturas complexas, já nestas matrizes nunca se encontrará um analito de forma isolada. Por conseguinte, existe a necessidade de se investigar concomitantemente uma vasta gama de fármacos e seus respectivos derivados que contaminam em diferentes matrizes ambientais.

Tendo-se em conta todos os recursos, despesas e tempo envolvidos nesta tarefa, os métodos analíticos devem ser capazes de determinar, idealmente, os níveis de concentração para a maior quantidade possível de substâncias. Tais métodos são conhecidos como métodos multicomponentes ou multirresíduos (Fatta et al., 2007).

Métodos analíticos multirresíduos constituem um pré-requisito essencial para fornecer dados confiáveis sobre a ocorrência, partição, remoção e destino de fármacos no ambiente, reduzindo os custos de monitoramento e, simultaneamente, permitindo aumentar a frequência de análise. Nestes métodos, é preciso considerar todas as diferentes etapas da sequência analítica. Ou seja, não basta apenas assegurar o acesso a sistemas de separação e detecção adequados, mas também que haja um preparo adequado das amostras, incluindo etapas de conservação de amostras e extração de analitos, processos estes que se tornam críticos quando aplicados a matrizes complexas, tais como de águas naturais.

Duas etapas críticas que regem a determinação de baixas concentrações de fármacos em amostras ambientais, remetem aos processos de extração e às técnicas instrumentais utilizadas para separação analítica, detecção e quantificação.

1.3.1 Métodos de Extração

O objetivo principal dos métodos de extração é obter ao final do processo um extrato enriquecido com os analitos alvo e livre de outros componentes interferentes da matriz. Para obter extratos sob estas condições, algumas etapas devem ser realizadas:

- a) extração de pequenas quantidades dos analitos alvo da matriz da amostra, o que geralmente implica em mudanças de fase
- b) concentração dos analitos em uma fase aceitadora;
- c) Remoção de interferentes co-extraídos, concentradas simultaneamente, que comprometem a eficiência do método.

Os métodos baseados em adsorção são os mais amplamente utilizados na extração e concentração de analitos em amostras ambientais, sendo a extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) a mais utilizada neste processo. Neste tipo de extração, a amostra líquida é percolada em um material adsorvente que possui grupos químicos capazes de reter o analito de interesse. Posteriormente, o analito é retirado do material adsorvente com a utilização de um solvente, em um processo conhecido como eluição. A Figura 3 mostra as etapas típicas envolvidas durante a extração SPE (Fritz, 2000).

A extração SPE é tipicamente realizada manualmente, empregando-se cartuchos comercialmente disponíveis, embora existam algumas desvantagens com relação a esta abordagem. Notadamente, a extração SPE consome tempo, é cara e trabalhosa, o que pode atrapalhar a produtividade. Além disso, a recuperação do analito ao fim de todo o processo pode variar de lote para lote, causando problemas de reprodutibilidade. Portanto, todo esforço voltado para a melhoria desta etapa analítica pode resultar em aumento significativo do rendimento e da qualidade dos resultados obtidos (Fritz, 2000).

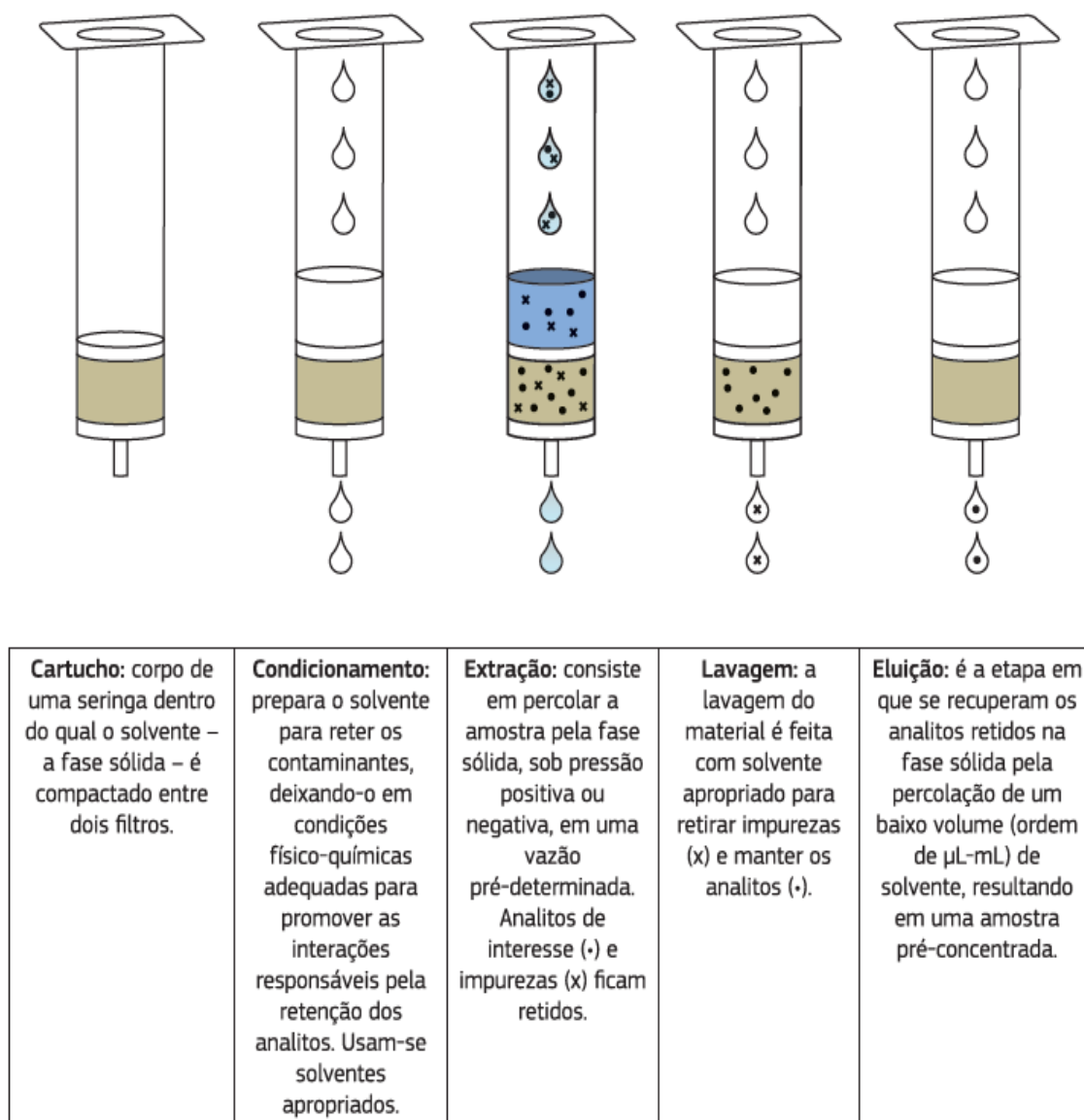


Figura 3. Etapas no processo de extração em fase sólida. (adaptado de Canela et al., 2014)

1.3.2 Separação cromatográfica e técnica de detecção

Após a extração dos analitos da amostra e da geração de um extrato, a etapa subsequente é tipicamente realizada utilizando cromatografia gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) ou cromatografia líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*) combinada com espectrometria de massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*), a fim de realizar a separação dos analitos e efetuar a quantificação.

A utilização de técnicas hífenadas avançadas como GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS e LC-MS/MS para análise ambiental tem permitido a determinação de uma ampla gama de substâncias, incluindo fármacos. Atualmente, cada vez mais métodos são

A técnica de LC-MS/MS é a mais utilizada em análise de fármacos, devido à sua elevada sensibilidade e à sua capacidade de confirmar a identidade das substâncias de interesse, quando comparada com as técnicas de LC convencionais que utilizam detectores de arranjo de diodos (DAD-UV) ou de fluorescência. O uso de espectrometria de massas *in tandem* (MS/MS) permite o monitoramento de íons moleculares específicos e, portanto, a detecção de substâncias que possuem a mesma massa molecular, mas que formam fragmentos moleculares (íons produtos) específicos diferentes, garantindo boa seletividade analítica e permitindo a determinação de diferentes substâncias mesmo que ocorra co-eluição cromatográfica. Desta maneira a técnica de análise por MS/MS permite aumentar a sensibilidade analítica e a seletividade durante a análise de matrizes complexas, tais como águas residuárias, naturais e tratadas (Wille et al., 2012).

Nos últimos anos, os avanços em métodos analíticos contribuíram para a detecção de inúmeros fármacos em diferentes matrizes ambientais. Estima-se que este número continue a crescer à medida que mais produtos farmacêuticos forem aprovados para uso e os avanços em métodos analíticos continuem.

1.3.3 Espectrômetros de massa utilizados na determinação de contaminantes emergentes

Espectrômetros com analisadores do tipo triplo-quadrupolo (QqQ) são os mais utilizados em espectrometria de massas para determinações quantitativas de substâncias químicas de baixa massa molecular, como os fármacos. Os triplo-quadrupolos são constituídos por quadrupolos em sequência, sendo que no centro está localizada uma célula de colisão (Q2). Os outros dois quadrupolos agem como filtros de massa, selecionando íons da amostra de interesse. O modo de aquisição mais comum em espectrômetros do tipo QqQ é denominado monitoramento de reações múltiplas (MRM, do inglês *Multiple Reaction Monitoring*).

Em métodos MRM, o primeiro quadrupolo (Q1), é responsável por selecionar um íon precursor, característico da substância de interesse. Esses íons podem ser produtos da protonação, da desprotonação ou da formação de adutos entre o analito e demais íons presentes durante a medida, tais como sódio ou potássio.

Em seguida, os íons selecionados em Q1 são transferidos à célula de colisão (Q2) onde serão fragmentados por meio de colisões com um gás inerte, geralmente N₂, sob a aplicação de diferentes potenciais. Alguns íons gerados na célula de colisão serão então filtrados no terceiro quadrupolo (Q3). Estes íons, denominados íons produtos, são característicos de uma determinada substância e, portanto, possuem relação direta com o íon precursor.

As transições de precursor para produto são únicas para cada substância e utilizadas para fins de quantificação e identificação. Equipamentos do tipo QqQ tornam-se mais vantajosos frente aos quadrupolos simples por fornecerem mais informações sobre o analito, além de permitir a utilização do modo MRM.

Outra abordagem empregada para aumentar a seletividade e evitar resultados falsos positivos consiste no uso de espectrômetros de massas do tipo tempo de voo (*Time of Flight* – TOF-MS). Ao comparar a capacidade de detecção de um TOF-MS e de um triplo-quadrupolo para a determinação de vários fármacos em águas residuárias, Benotti e colaboradores (2009) concluíram que a sensibilidade global do LC-MS(TOF), operado no modo de massa com alta precisão, frequentemente se aproximou daquela obtida pelo triplo quadrupolo operado em modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM). Algumas desvantagens envolvidas no uso LC-MS(TOF) para medições quantitativas diz respeito à menor faixa linear de trabalho e à menor velocidade de aquisição quando comparado com equipamentos QqQ (Hernández et al., 2014).

Instrumentos híbridos com analisadores de quadrupolo e tempo de voo LC-MS/MS(Q-TOF) também estão sendo utilizados para determinação de fármacos em amostras de águas naturais. Este tipo de equipamento oferece as vantagens dos dois tipos de MS, uma vez que o TOF aumenta a resolução dos íons gerados, permitindo obter massas precisas de íons produtos. Equipamentos do tipo Q-TOF-MS mimetizam o monitoramento MRM utilizado nos detectores do tipo QqQ, embora ocorra uma ligeira perda de sensibilidade se comparado ao QqQ (Hernández et al., 2014).

Stolker e colaboradores (2004) compararam o desempenho de um triplo-quadrupolo e um Q-TOF-MS na determinação de alguns fármacos em águas superficiais, subterrâneas e para consumo humano e verificaram que ambos espectrômetros apresentaram resultados satisfatórios.

1.3.4 Efeitos de matriz em LC-MS/MS

Na maioria dos trabalhos envolvendo LC-MS/MS, a interface entre as duas técnicas é comumente feita por meio da ionização por eletrospray (ESI, do inglês *eletrospray ionization*), uma vez que ela é bastante eficaz para substâncias polares e não polares e para as substâncias com baixa estabilidade térmica (Cahill et al., 2011). Tem sido comumente aplicada como uma ferramenta seletiva e sensível para a detecção de fármacos e PHP em matrizes biológicas e ambientais devido à natureza polar, termolábil e não volátil desses contaminantes (Zwiener and Frimmel, 2004). Aproximadamente 95% dos trabalhos de LC-MS usa ESI ou ionização química à pressão atmosférica (APCI) como fonte de ionização, no entanto, a ESI é mais comumente usada na detecção de fármacos e PHP em matrizes ambientais.

A utilização da ionização ESI, no entanto, pode ser problemática para amostras contendo vários interferentes ou matrizes muito complexas (Petrović et al., 2005). Desta maneira, a extração SPE deve ser, sempre que possível, otimizada para isolar os analitos de interesse e eliminar os efeitos de matriz.

Os efeitos de matriz são definidos como uma alteração no sinal de analito causada por algo na amostra diferente do analito. Durante o desenvolvimento do método, a identificação e a correção de possíveis efeitos de matriz devem ser realizadas para obter medições precisas. Se os efeitos da matriz não forem abordados, pode ocorrer superestimação ou subestimação da concentração ambiental real fazendo que a acurácia do método seja impactada (Harris, 2007).

Os efeitos de matriz são observados quando a intensidade do sinal de um analito detectado em uma amostra de campo é diferente da intensidade do sinal detectada em uma solução solvente. Estudos demonstram que o aumento na quantidade de matriz presente (geralmente, material orgânico) resulta em supressão ou aprimoramento de sinal, com maior supressão de íons ocorrendo em amostras de efluentes de águas residuárias (Hirsch et al., 1998; Vanderford et al., 2003; Vieno et al., 2006). No entanto, o impacto que a matriz exerce na determinação de uma substância dependerá das características do analito, bem como a composição da matriz.

Desde que os efeitos da matriz foram observados em ESI nos anos 1990, vários mecanismos foram propostos para explicar estes efeitos. Estes incluem componentes

da matriz que impedem o analito de obter carga, competindo com os analitos para ganhar carga, interferindo na capacidade do analito de permanecer carregado na fase gasosa, aumentando a tensão superficial da gota ou aumentando a resistência elétrica. Embora os mecanismos exatos causadores do efeito de matriz ainda não sejam totalmente conhecidos, é comum assumir que os compostos coeluídos competem com os analitos e a ionização será favorecida para as moléculas que são mais ionizáveis e estão em maiores concentrações na amostra. Este efeito interfere na quantificação dos analitos, que deixa de ser confiável pela alteração causada na precisão, exatidão e detectabilidade do método. (Oshita and Jardim, 2015; Zhou et al., 2017).

As possíveis soluções para contornar os efeitos de matriz remetem a melhorias na etapa de extração e limpeza de extratos, a diminuição do volume de injeção fazendo com que uma menor quantidade de matriz entre no sistema cromatográfico, ao uso de extratos diluídos, a alteração de parâmetros operacionais da fonte de ESI e ao uso de estratégias de quantificação envolvendo adição de padrão, uso de padrão interno, padrão sub-rogado, entre outros.

A abordagem de adição padrão tem sido pouco utilizada para quantificar fármacos em diferentes matrizes (Cimetiere et al., 2013; Garcia-Rodríguez et al., 2014), pois tende a ser extremamente trabalhosa e consumir tempo já que diferentes curvas analíticas devem construídas para cada amostra investigada. A padronização interna é uma abordagem comum para quantificar fármacos e outras substâncias orgânicas em matrizes ambientais e água para consumo humano e, ao mesmo tempo, abordar possíveis efeitos de matriz. Os melhores padrões internos em análise por espectrometria de massas consistem em substâncias marcadas isotopicamente, ou seja, marcados com C-13 ou com deutérios. Esses padrões têm propriedades de evaporação semelhantes aos analitos e são submetidos ao mesmo grau de supressão ou aprimoramento do sinal na matriz, assim como o analito de interesse.

Recentemente, o uso de padrões marcados isotopicamente tem sido utilizado para a quantificação de produtos farmacêuticos selecionados em amostras de água tratada, superficiais e residuais (Huerta-fontela et al., 2010; Kim et al., 2007; Riva et al., 2018; Vanderford et al., 2003). No entanto, uma desvantagem deste método remete ao alto custo dos padrões marcados isotopicamente. De forma geral, as maiores dificuldades encontradas no desenvolvimento dos métodos analíticos

multirresíduos remetem a disponibilidade de padrões analíticos e materiais de referência certificados. Padrões analíticos de metabólitos e produtos de degradação normalmente não estão disponíveis ou requerem uma síntese específica que apresenta elevado custo (Van de Steene et al., 2006).

1.4 PRIORIZAÇÃO DE FÁRMACOS E AVALIAÇÃO DE RISCO

Uma vez que a presença de contaminantes de interesse emergente já é conhecida, torna-se importante dimensionar suas concentrações em termos dos potenciais riscos ao ambiente e à saúde humana. Neste sentido, os efeitos relacionados à exposição de baixas concentrações em um longo período de tempo devem ser compreendidos. Pesquisas preliminares indicam que vários fármacos e PHP possuem capacidade de impactar negativamente os sistemas ecológicos aquáticos. Além disso, no contexto da reutilização de água para fins de abastecimento público, questões envolvidas com a análise do risco também se aplicam à saúde humana.

Embora seja preocupante um cenário no qual populações vulneráveis de vida aquática sejam dizimadas, outros impactos não-letais e mais sutis, tais como alterações nos sistemas reprodutivos de organismos aquáticos, são extremamente importantes durante avaliações de riscos (Bolong et al., 2009; Niemuth et al., 2015; Pal et al., 2010; Yan et al., 2012). Em amostras ambientais, a atividade estrogênica/androgênica tem sido um dos efeitos de interesse recente mais comumente investigado. Um estudo controlado em um lago experimental no Canadá indicou que concentrações do estrógeno 17 α -etinilestradiol similares as encontradas nas proximidades de lançamentos de efluentes (5-6 ng L⁻¹), pode alterar a distribuição de gênero do peixe vairão, levando ao colapso da população (Kidd et al., 2007). Aherne e colaboradores (1989) levantaram questões semelhantes sobre saúde humana. Como a exposição a interferentes endócrinos pode alterar o sistema reprodutivo de organismos, esperam-se impactos ecológicos generalizados.

A feminização de peixes, por exemplo, tem sido associada à presença de dezenas de produtos químicos que são comumente encontrados em efluentes de águas residuárias em nível traço. Pomati e colaboradores (2008) relataram impactos

inibitórios de concentrações em nível traço de 11 produtos farmacêuticos em células humanas, *E. coli* e *zebrafish*.

Em termos de saúde humana, informações epidemiológicas sobre os impactos de concentrações ambientalmente relevantes de interferentes endócrinos, tipicamente associados a fármacos e PHP, são poucas e estão em desenvolvimento. Neste sentido, é necessária uma abordagem sistemática que leve em consideração estas preocupações no contexto do descarte de águas residuárias em mananciais utilizados para fins de abastecimento.

Em países como EUA, Canadá, Austrália, já existem critérios de qualidade para alguns micropoluentes emergentes na água com vistas à potabilidade. Para geração de valores máximos permitidos, o Brasil adota as recomendações da OMS para a potabilidade, entretanto, em muitos casos não há informações acerca de diversas substâncias de interesse recente utilizadas rotineiramente (Umbuzeiro, 2012).

Dadas essas preocupações e o conhecimento ainda incipiente acerca da exposição a longo prazo de micropoluentes emergentes para a saúde humana, o monitoramento das concentrações destas substâncias concomitantemente à investigações toxicológicas associada, em todos os tipos de água, é uma questão importante.

Nas seções subseqüentes são descritos alguns métodos utilizados para a avaliação de risco ambiental e para a saúde humana em vista dos dados toxicológicos e da ocorrência de alguns micropoluentes emergentes.

1.4.1 Avaliação de risco ambiental

Programas de monitoramento e gestão ambiental de contaminantes emergentes são um grande desafio. Existem milhares de substâncias a serem consideradas e os dados disponíveis sobre sua utilização, ocorrência, destino, transporte e toxicidade são, em muitos casos, escassos. No caso de fármacos, os dados toxicológicos são mais acessíveis, uma vez que para entrar no mercado um novo fármaco precisa passar por testes rigorosos de toxicidade. Nesse sentido, é possível lançar mão destes dados toxicológicos para priorização de substâncias ou classes de substâncias mais importantes.

Sui e colaboradores (2012) apresentam um modelo para identificação de fármacos prioritários em ambientes aquáticos da China. Neste modelo, utilizaram três critérios para cálculo de um *score* de prioridade, sendo eles: o consumo do fármaco no país, a remoção nas ETE e a bioacumulação. De acordo com os *scores* obtidos, as substâncias foram classificadas em quatro grupos de prioridade, sendo que as substâncias que apresentaram alta prioridade (Grupo I) foram: eritromicina, diclofenaco e ibuprofeno. As duas últimas substâncias estão entre as mais consumidas no Brasil. Outros 14 fármacos, incluindo sulfametoxazol, ácido mefenâmico, etc., tiveram prioridade moderada e classificados no Grupo II. Esses dezessete produtos farmacêuticos dos Grupos I e II foram destacados como fármacos prioritários pelos autores.

Existem várias outras formas de priorização de contaminantes para avaliação de risco ambiental, sendo que a estratégia mais largamente utilizada remete a comparação de concentrações ambientais previstas (PEC, do inglês, *predicted enviromental concentration*) e concentrações ambientais medidas (MEC, do inglês, *measured enviromental concentration*) com valores de concentração prevista que não causam efeito (PNEC, do inglês, *predicted no-effect concentration*).

A primeira etapa da avaliação de risco, na maioria dos métodos, consiste no mesmo princípio geral, ou seja, no uso de dados derivados de testes de toxicidade agudos ou a curto prazo (EC/LC₅₀) e de valores associados a testes de toxicidade crônica, a longos prazos, tais como NOAEL (concentração onde não se observa efeitos adversos, do inglês *no observed adverse effect level*) ou LOAEL (menor concentração onde se observa efeitos adversos, do inglês *lowest observed adverse effect level*). Estes dados toxicológicos são submetidos à aplicação de um fator de segurança, ou seja, um denominador cuja grandeza depende da qualidade do dado toxicológico utilizado, para o cálculo dos valores PNEC.

A utilização de fatores de segurança (também chamados fatores de avaliação, do inglês *assessment factors*) permite a extrapolação dos dados obtidos nos testes de toxicidade realizados em laboratório para efeitos previstos sobre ecossistemas. Ao estabelecer estes fatores de avaliação, uma série de incertezas devem ser consideradas que são inerentes à tentativa de extrapolação a partir de dados laboratoriais para uma única espécie aos ecossistemas com múltiplas espécies. Estes podem ser resumidos da seguinte forma: variação intra e interlaboratórios; variação

intra e interespecies; extrapolação do impacto no ecossistema a partir dos dados laboratoriais; extrapolação da toxicidade aguda e crônica (Hommen et al., 2010). Todas estas incertezas irão definir a grandeza dos fatores de avaliação, que podem variar de 1 a 10000.

A razão PEC ou MEC sobre PNEC fornece, portanto, uma estimativa do risco associado a uma determinada substância. Quando esta razão apresenta valores menores que um não há uma preocupação imediata, enquanto que valores maiores que um indicam risco em potencial tornando a substância investigada candidata a ser monitorada dentro de um sistema de priorização de contaminantes ambientais.

Os valores de PEC para uma determinada substância química são estimados e dependem de vários fatores, tais como: consumo por ano (kg ano^{-1}), porcentagem de remoção em estações de tratamento, número de habitantes da região onde se realiza o estudo, volume per capita por dia (matriz aquosa), degradação da substância química.

Os valores de PEC são calculados quando não há dados de MEC. O cálculo do valor de PEC (g L^{-1}) em um ambiente aquático pode ser calculado de várias formas. A equação geral e simplificada é expressa por (Kümmerer, 2008):

$$PEC = \frac{A \times (100 - R)}{365 \times P \times V \times D \times 100} \quad (1)$$

onde, A é a quantidade utilizada por ano (kg ano^{-1}), R é a remoção em porcentagem, P é o número de habitantes (milhões) da região, V (m^3) é o volume de água residual per capita por dia e D fator de diluição.

A principal desvantagem de utilizar a razão (PEC ou MEC)/PNEC como parâmetro de avaliação de risco, remete ao fato de que, para realizar os cálculos de estimativa de risco, é necessário um banco de dados com informações robustas e de qualidade acerca de todos os fatores citados anteriormente. A outra grande dificuldade remete aos diferentes valores de PNEC relatados para uma única substância química na literatura (You et al., 2015). Na Figura 5, é apresentado um diagrama genérico das etapas de criação de listas de priorização de contaminantes emergentes.

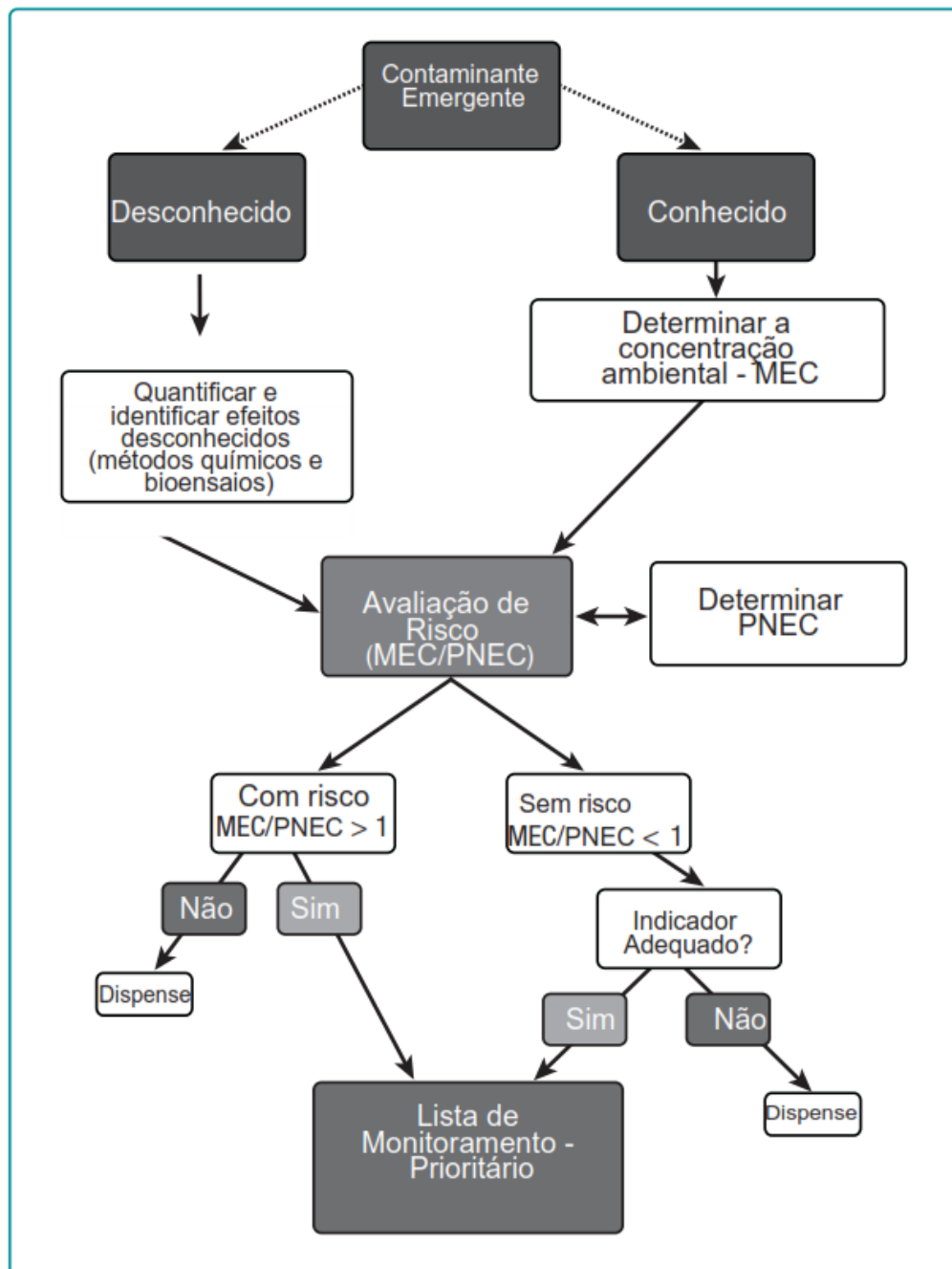


Figura 5. Diagrama de priorização de contaminantes (adaptado de Raghav et al, 2013)

A priorização e a regulação de contaminantes é uma tarefa sem fim, uma vez que há progresso científico contínuo nas mais diversas áreas envolvidas na avaliação de riscos, e este, por sua vez, levanta continuamente novos questionamentos.

1.4.2 Avaliação de Risco a Saúde Humana

Em se tratando da avaliação de risco para a saúde humana, a abordagem mais convencional remete a utilização de valores de IDA (ingestão diária aceitável), que é definida como a quantidade máxima de um produto químico que pode ser ingerido diariamente ao longo da vida, sem risco considerável para a saúde. Este valor é baseado na maior ingestão que não dá origem a efeitos adversos observáveis.

Usualmente, para se obter o IDA, divide-se valores numéricos de NOAEL ou LOAEL por fatores de incerteza que podem variar de 10 a 10000. Esses valores são definidos caso a caso e requerem julgamentos científicos. Isso se deve ao fato de que um produto químico pode provocar mais de um efeito tóxico (*end-point*) em um mesmo organismo teste, resultando em diferentes valores de NOAEL correspondentes a diferentes efeitos (Kumar et al., 2010).

Geralmente, a identificação das propriedades toxicológicas de um determinado produto farmacêutico durante a avaliação quantitativa do risco, pode incluir análises de todos os possíveis parâmetros de saúde. No entanto, devido a restrições de tempo e recursos, uma análise aprofundada raramente é realizada para cada *end-point*. Para determinados produtos farmacêuticos, os *end-points* podem ser definidos a partir de diferentes tipos de experimentos, sendo que incertezas na escolha de *end-points* implicam em estimativas diversas nos valores de IDA. Assim, a geração de diferentes IDA pode ser problemático, notadamente quando estes valores são usados na tomada de decisões de gerenciamento de risco.

Teoricamente, o *end-point* crítico usado na avaliação dose-resposta deve ser o efeito que exibe o NOAEL mais baixo. No entanto, existem diferenças significativas entre os valores de IDA do mesmo medicamento, calculadas por diferentes estudos. Por exemplo, para antibióticos como doxiciclina, tetraciclina e oxitetraciclina, Webb e colaboradores (2003) calcularam o valor de IDA de $3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, enquanto que Schwab e colaboradores (2005) reportaram $30 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$. O principal motivo destas discrepâncias se deveu ao fato de que os primeiros autores utilizaram doses terapêuticas como ponto de partida, enquanto que Schwab e colaboradores (2005) utilizaram valores derivados da resistência antimicrobiana da microflora intestinal humana. Essas observações ilustram a importância da seleção adequada do *end-point* para um determinado receptor.

Há na literatura uma quantidade limitada de informações acerca dos riscos à saúde humana associados a produtos farmacêuticos na água para consumo humano. No entanto, se surgirem novas circunstâncias, diferentes opções de *end-points* podem levar a resultados distintos de caracterização de risco e, até mesmo, a decisões variadas por diferentes grupos de gerenciamento de risco. Sob este ponto de vista, torna-se necessário investir em esforços para padronizar ou dar referência autorizada sobre a escolha geral de *end-points* de produtos farmacêuticos na água em relação aos estudos de avaliação de risco, ou mesmo fomentar a criação de valores de referência de IDA (Kumar et al., 2010).

No caso específico da água para abastecimento público um valor máximo permitido (VMP) para uma substância implica no nível máximo de um contaminante presente na água destinada a consumo humano que não provoque efeitos adversos (Umbuzeiro et al., 2010). A derivação dos valores VMP dependem do dado toxicológico e de variáveis médias relacionadas às condições de exposição, tais como o peso corpóreo, o consumo de água, a porcentagem de ingresso da substância via água, fatores de incerteza aplicados, entre outros. Neste sentido, também é necessário considerar a viabilidade técnica e econômica de se quantificar a substância, bem como de removê-la aos níveis desejados.

O valor obtido de VMP e as consequências de sua aplicação devem ser analisadas pelos gestores públicos, sendo que estes valores podem ser alterados considerando o custo benefício sob o ponto de vista estratégico de cada país ou estado (Umbuzeiro et al., 2010). O VMP deve ser definido para substâncias químicas que podem causar efeitos adversos após longos períodos de exposição (efeitos crônicos) ou aqueles que possam causar, sob determinadas condições, efeitos após uma única exposição (efeitos agudos). Os critérios de qualidade de água (VMP) de um agente químico são geralmente calculados multiplicando-se o valor de IDA pelo peso corpóreo considerado e pela fração ou porcentagem de IDA associada à água, divididos pelo consumo de água diário adotado (Umbuzeiro et al., 2010).

$$\text{VMP} = \frac{\text{IDA} \times \text{P} \times \text{F}}{\text{C}} \quad (2)$$

onde IDA é a ingestão diária aceitável, em $\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, F é o fator de alocação considerando a porcentagem do contaminante ingerido através do consumo de água, P é o peso corporal e C é o consumo diário de água. Os valores padrão para F (20%), P (60 kg) e C (2 L) são usados considerando o consumo de água para um adulto de acordo com o guia para a qualidade da água potável da OMS. (WHO, 2011)

Por exemplo, para uma determinada substância X, que apresenta uma IDA de $0,1 \text{ mg Kg}^{-1}$, o VMP para consumo humano calculado seria de $0,6 \text{ mg L}^{-1}$. Isso significa que uma pessoa pode beber água contendo $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ da substância X, por toda a vida, sem sofrer efeito adverso.

Os riscos para a saúde humana são normalmente avaliados através da razão entre as concentrações de substâncias químicas alvo na água potável com os valores de VMP calculados usando a equação 2.

CAPÍTULO 2

2 CAFEÍNA NA ÁGUA TRATADA: ESTRATÉGIA PARA PRIORIZAÇÃO DE MANANCIAIS

2.1 INTRODUÇÃO

Neste capítulo, conforme objetivos do Projeto de Pesquisa financiado pela FUNASA, amostras de água para consumo humano seriam investigadas quanto a presença de cafeína, a fim de priorizar mananciais impactados pelo aporte de resíduos de origem antrópica. Porém, devido aos vários episódios que dificultaram a dispensação de recursos por parte das fundações de fomento (FUNASA) e de execução financeira (UnB e FINATEC), não foi possível obter amostras de todo o Brasil para a priorização de mananciais. Desta forma, optou-se por desenvolver método analítico para determinação de cafeína e aplicá-lo em amostras de água para consumo humano coletadas no DF, estabelecendo uma ferramenta analítica para priorização de mananciais para monitoramento.

A cafeína é um estimulante que está presente em diversos produtos utilizados diariamente, tais como fármacos, refrigerantes, chás, bebidas à base de café, bebidas energéticas e produtos de higiene pessoal. A cafeína é encontrada no ambiente em concentrações muito baixas. Embora o consumo diário de cafeína seja elevado (uma xícara de café pode conter até 840 mg L⁻¹ (Camargo et al., 1998), a maior parte da substância é metabolizada pelo organismo humano e somente de 3% da molécula inalterada é excretada através da urina (Thorn et al., 2012). Entretanto uma quantidade considerável de cafeína é introduzida em corpos aquáticos, principalmente, através do esgoto, o que remete à sua contaminação antrópica (Gonçalves et al., 2017).

Assim como outros fármacos, a cafeína ocorre em águas naturais por meio de mecanismos de descarte e excreção que culminam com seu aparecimento na rede de esgotamento sanitário. Em águas superficiais continentais, os níveis de cafeína variam em função de aspectos como sazonalidade, proximidade de fontes de aporte, condições hidrológicas e padrão de consumo. Concentrações mais elevadas de cafeína têm sido encontradas em águas superficiais brasileiras em comparação com estudos realizados em outros países. Sodré e colaboradores (2010b) evidenciaram o papel do esgoto bruto como principal fonte de cafeína para águas superficiais brasileiras utilizadas como mananciais para produção de água para consumo humano.

Além da cafeína, outros micropoluentes emergentes têm surgido em sistemas de esgotamento sanitário, porém muitos deles apresentam padrões de uso, consumo ou produção menores em comparação ao da cafeína.

O uso da cafeína como indicadora é apropriado por ser persistente ao longo da coluna d'água, possuir razoável solubilidade (11 g L^{-1}), apresentar baixo coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{ow} = 0,01$) (Gardinali et al., 2002), e possuir pouca associação com sedimentos e volatilidade desprezível (Weinberg et al., 2001).

Por todos estes motivos, a cafeína tem sido utilizada como indicadora de atividade antrópica, sendo também possível inferir que a presença de cafeína em águas superficiais pode ser um indicativo da presença de muitos outros contaminantes de origem antrópica.

No Brasil, alguns trabalhos tem utilizado a presença de cafeína, como balizador da presença de outros contaminantes em matrizes aquáticas, e também como indicadora de atividade estrogênica (Ferreira et al., 2005; Montagner et al., 2014; Sodré et al., 2007). Embora a cafeína tenha sido detectada em águas naturais há mais de 30 anos, apenas em 1996, seu uso como um marcador químico de contaminação antrópica foi proposto de maneira mais consistente (Ogunseitan, 1996). Desde então, muitos outros estudos vem construindo evidências para o uso desta substância como indicadora de atividades antrópicas ou como marcadora de contaminação fecal, ou seja, proveniente do esgoto sanitário (Gonçalves et al., 2017; Hillebrand et al., 2012; Linden et al., 2015; C C Montagner et al., 2014; Sodré et al., 2010b)

Assim, a determinação de cafeína em águas de abastecimento público se reveste de importância ímpar, pois também pode ser usada como indicadora de qualidade, em especial no tocante à possível atividade estrogênica presente nas amostras (Montagner et al., 2014). O fato da concentração de cafeína poder ser correlacionada com o potencial estrogênico das amostras de águas superficiais promove à análise exploratória um caráter mais dinâmico, uma vez que bioensaios contemplam todos os possíveis contaminantes presentes na amostra analisada, não apenas os selecionados para serem quimicamente quantificados.

2.2 OBJETIVOS

O objetivo desta parte do trabalho foi desenvolver uma rotina analítica adequada à investigação dos níveis de cafeína em amostras de água para consumo humano como forma de priorizar mananciais de água brasileiros candidatos a monitoramento intensivo. Ao propor um diagnóstico inicial baseado somente na detecção de cafeína em amostras de água tratada, espera-se planejar de maneira mais efetiva o estabelecimento de redes de monitoramento.

Os objetivos específicos foram:

- a) Desenvolver método de extração em fase sólida da cafeína empregando cartuchos C18;
- b) Investigar condições de preservação de amostras de água para consumo humano visando seu transporte à partir de diferentes localidades;
- c) Desenvolver e aplicar método analítico baseado em LC-MS/MS(Q-TOF) para a quantificação de cafeína em água para consumo humano.

2.3 PARTE EXPERIMENTAL

2.3.1 Instrumentação, Materiais, Reagentes e Padrões Analíticos

Todos os solventes e reagentes utilizados neste trabalho foram de pureza analítica ou superior. Acetona e metanol (MeOH), grau HPLC, foram adquiridos da Tedia (USA). A água utilizada foi purificada em sistema Milli-Q da Millipore, modelo *Reference A+*. Ácido fórmico (50%) foi adquirido da Sigma-Aldrich (EUA). Padrões analíticos de cafeína (CAF) (99%), atenolol (ATN) (99%), nortriptilina (NOR) (99%), dapsona (DAP) (99%), bupropiona (BUP) (99%), venlafaxina (VEN) (99%), amitriptilina (AMT) (99%), carbamazepina (CMZ) (99%), teobromina (TBM) (99%), 17 α -etinilestradiol (99%), estrona (99%) e 17 β -estradiol (99%) foram adquiridos de Sigma-Aldrich. Na Figura 6 são apresentadas as estruturas das moléculas utilizadas neste trabalho e na Tabela 2 são mostradas algumas de suas propriedades físico-químicas.

Outras substâncias foram também investigadas como forma de verificar a aplicabilidade da ferramenta para outros fármacos de interesse, embora todos experimentos tenham sido otimizados buscando a melhor resposta para a cafeína.

Cartuchos extratores Envy-18, de 6 mL e com 500 mg de fase extratora, foram adquiridos da Supelco (EUA). Os analitos de interesse foram extraídos utilizando sistema de extração em fase sólida, desenvolvido no próprio laboratório. Um *manifold* de 12 portas (Visipred DL, Supelco) foi utilizado para a eluição dos analitos dos cartuchos. A secagem dos extratos foi realizada em evaporador paralelo Syncore® Analyst (Buchi) acoplado a bomba de vácuo com controlador.

A separação cromatográfica foi realizada em sistema de UHPLC Eksigent Ultra-LC 100 XL, constituído por dois módulos de bomba, amostrador automático e forno de coluna, empregando coluna de fase reversa modelo Eclipse Plus® C18, 2,1x50mm, 1,8 µm da Agilent (USA).

A detecção e a quantificação dos analitos de interesse foram realizadas no espectrômetro de massas LC-MS/MS(Q-TOF), modelo TripleToF5600+ (Sciex, Toronto, CA), conectado a gerador de gás nitrogênio (Peak Genius 3031) e bomba de vácuo mecânica (Sogevac SV65 BI FC), com fonte de ionização Dual-Spray, atuando no modo de ionização por ESI e acoplado ao sistema de cromatografia líquida. O espectrômetro de massas também é equipado com programa de aquisição e tratamento de dados Analyst® versão 1.6.1, Peak View® versão 2.1 e Multiquant® versão 3.0.2.

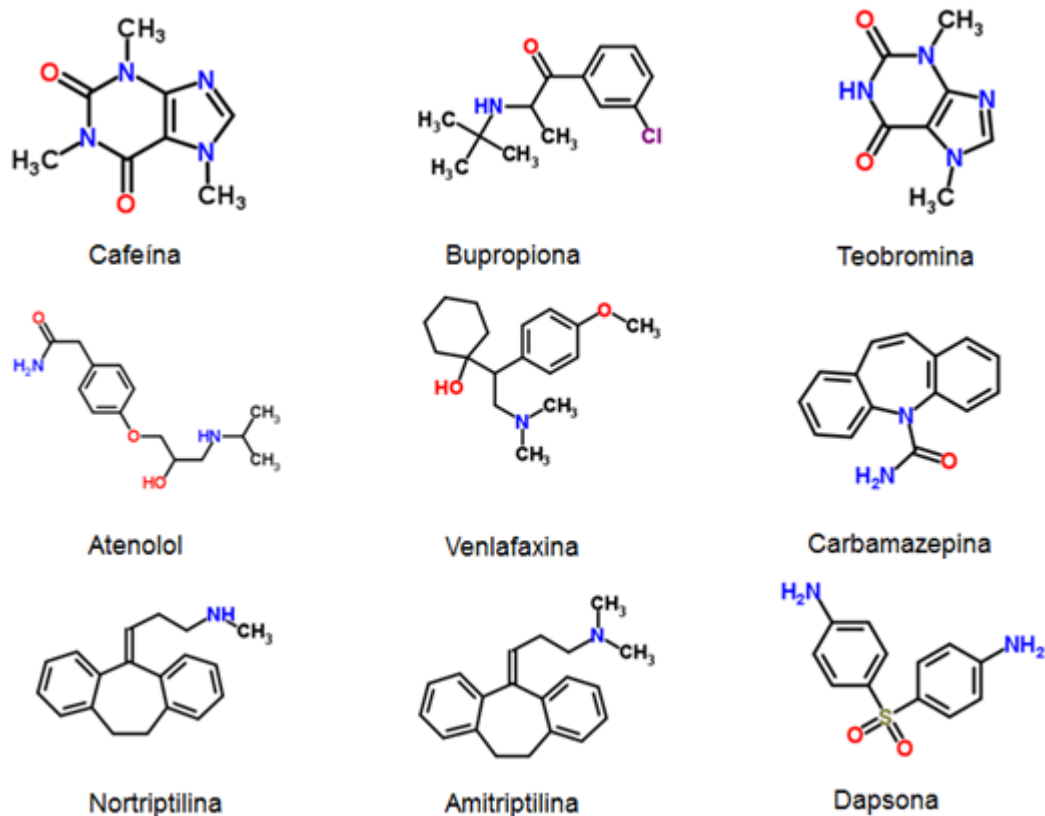


Figura 6. Estrutura molecular das substâncias avaliadas neste trabalho.

Tabela 2. Propriedades físico-químicas das substâncias avaliadas. (*Drug Bank*)

Analito	Log K _{ow}	pKa	Solubilidade em H ₂ O (g 100mL ⁻¹)
ESI (+)			
CAF	-0,07	14	1,1
ATN	0,16	9,6	0,043
NOR	1,7	10,47	8,74 x 10 ⁻⁵
DAP	0,97	2,41	0,028
BUP	3,6	7,9	0,007
VEN	0,43	9,40	0,023
AMT	4,94	9,76	0,00045
CMZ	2,45	13,9	0,0152
TEO	-0,78	9,9	0,9

2.3.2 Limpeza de Vidrarias

Considerando-se os baixos níveis de concentração dos analitos investigados, bem como a necessidade de se evitar interferências causadas pela contaminação de vidrarias, foram estabelecidos diferentes procedimentos para limpeza dos materiais empregados durante a rotina analítica.

A limpeza inicial de todas as vidrarias e dos demais materiais baseou-se na lavagem com água, esponja e detergente neutro para remover possíveis sujeiras grosseiras. A seguir o procedimento foi finalizado utilizando métodos dependentes do tipo de vidraria:

- Método por calcinação: utilizado para limpeza de vidrarias não volumétricas, onde os materiais foram lavados com etanol comercial e água destilada, secados a temperatura ambiente e tampados com papel alumínio. Em seguida, foram calcinados em forno mufla por 3 horas a 350°C.
- Método por solvente: utilizado para limpeza de vidrarias volumétricas onde as vidrarias foram primeiramente lavadas com etanol comercial e água destilada, seguida de pequenas alíquotas de acetona e do cobrimento de orifícios com papel alumínio.

2.3.3 Desenvolvimento do Método Analítico

O desenvolvimento do método analítico seguiu as seguintes etapas, em ordem cronológica:

- 1 Escolha dos íon precursor e produto para permitir a quantificação e identificação dos analitos de interesse por MS/MS(Q-TOF);
- 2 Desenvolvimento do método cromatográfico para separação de analitos e interferentes;
- 3 Otimização de parâmetros da fonte de ionização por eletronebulização (ESI);
- 4 Otimização de método de extração em fase sólida (SPE);
- 5 Validação do método analítico visando a determinação de cafeína;
- 6 Aplicação em amostras de água para consumo humano;

2.3.3.1 Escolha de íon precursor e íons produtos

Considerando que a quantificação em equipamentos MS/MS baseiam-se no monitoramento de transições específicas entre um íon precursor e um íon produto, neste trabalho buscou-se como íon precursor a molécula protonada de cada analito, ou seja $[M+H]^+$ para ser avaliada no modo positivo de ionização (ESI+), e a molécula desprotonada, ou seja $[M-H]^-$ para ser avaliada no modo negativo de ionização (ESI-). Após a identificação dos íons precursores, foram realizados experimentos voltados à fragmentação seletiva destes íons na célula de colisão (Q2) como forma de selecionar adequadamente íons produtos para cada analito. Estes novos íons foram formados por meio de colisões sob atmosfera de N_2 e potencial aplicado. Embora diversos íons produtos sejam formados a partir da fragmentação dos íons precursores, apenas alguns foram escolhidos para a identificação de cada analito. Vale ressaltar, entretanto, que o espectrômetro de massas utilizado neste trabalho mimetiza o modo de quantificação por MRM, uma vez que o terceiro quadrupolo, consiste de um analisador do tipo TOF, o que aumenta a resolução dos íons produtos, mas reduz a sensibilidade.

Para seleção dos íons, foram preparadas soluções-estoque individuais contendo 20 mg L^{-1} de cada padrão analítico em metanol. Em seguida, foram preparadas soluções individuais de trabalho contendo $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de cada fármaco, também em metanol.

Para a escolha do íon precursor foi realizada a injeção automática de $2 \mu\text{L}$ das soluções individuais de cada padrão (1 mg L^{-1}), por meio do sistema cromatográfico sem utilização de coluna, em fluxo de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$, utilizando uma mistura de água:metanol (85:15) com 0,1% ácido fórmico como fase móvel. O espectrômetro de massas foi utilizado no modo TOF MS de alta resolução. Os parâmetros da fonte, que serão discutidos na seção 2.3.3.3, foram escolhidos de acordo com os valores *default* do equipamento, isto é, fonte de ionização na temperatura de $450 \text{ }^\circ\text{C}$, GS1 (40 psi), GS2 (30 psi), *Curtain Gas* (20 psi) e *potencial de orifício* (80 V). A voltagem na interface entre o espectrômetro e a fonte de ionização foi fixada em 5500 V para modo positivo e 4500 V para modo negativo. A Tabela 3 mostra os íons precursores selecionados para cada analito em ambas as polaridades da fonte ESI.

Tabela 3. Massas exatas e íons precursores selecionados

Analito	Massa exata (g mol ⁻¹)	Massa [M+H] ⁺
ESI (+)		
Cafeína	194,08038	195,0883
Atenolol	266,16306	267,1726
Nortriptilina	263,16745	264,1744
Dapsona	248,06195	249,0697
Bupropiona	239,10769	240,1158
Venlafaxina	277,20418	278,2108
Amitriptilina	277,18305	278,1917
Carbamazepina	236,09496	237,1035
Teobromina	180,06473	181,0725

A escolha dos íons produtos e a otimização de parâmetros dependentes de cada substância foi realizada utilizando as mesmas condições cromatográficas e de fonte de ionização anteriormente citadas na escolha dos íons precursores. O espectrômetro de massas foi utilizado de modo a identificar o perfil de fragmentação de cada analito e o fragmento mais abundante. Para isso, os parâmetros de detecção e dependentes de cada analito foram otimizados para obter a máxima eficiência de transmissão de sinal no modo de operação mimetizado de MRM.

O potencial de orifício (DP, do inglês *Declustering Potential*) é a diferença de potencial em volts (V) aplicada entre o orifício (*orifice plate*) e a superfície do cone (QJET). Esse potencial direciona (ou focaliza) os íons precursores previamente formados na fonte de íons (sob pressão atmosférica) para o quadrupolo de focalização (Q0) que encontra-se sob vácuo. O potencial ideal deve minimizar a camada de solvatação dos íons, que resulta na diminuição da linha de base ou em ruído, assim como, proporcionar uma eficiência de sinal de alta transmissão sem resultar na fragmentação dos íons.

A energia de colisão (CE, do inglês *Collision Energy*) é a energia, em elétron-volts, (eV) na qual o íon precursor sofrerá fragmentação ao entrar na célula de colisão (Q2).

Na Figura 7 são apresentados os locais no equipamento onde esses parâmetros são aplicados e alguns componentes do equipamento:

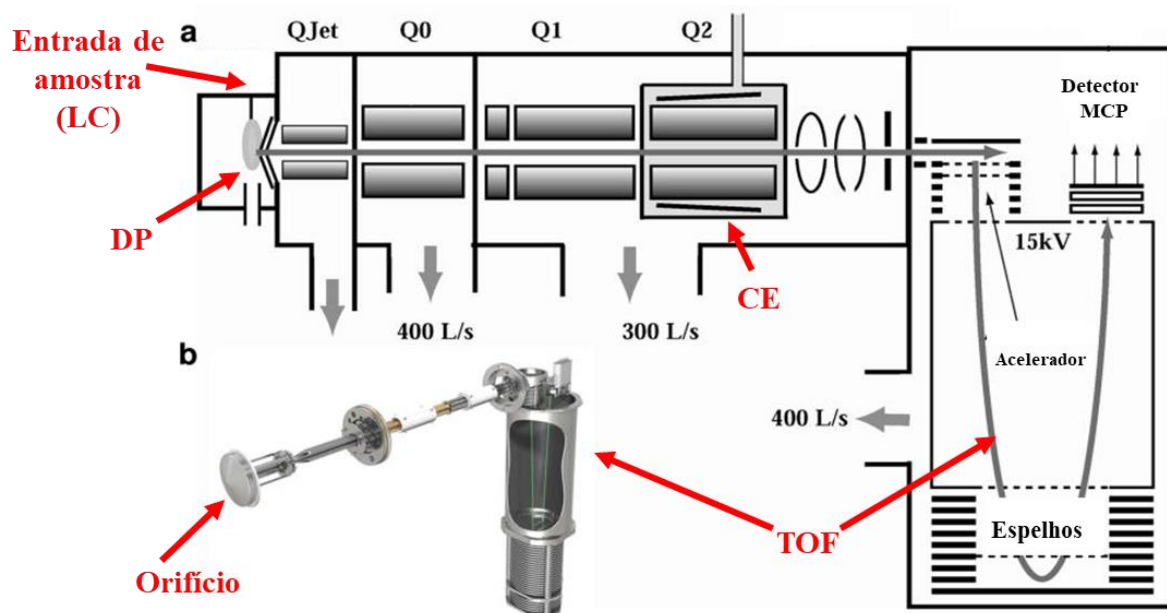


Figura 7. TripleTOF. a) Esquema do interior de um LC-MS/MS(Q-TOF), modelo TripleToF5600+ (Sciex). b) Fotografia real do sistema de quadrupolos e detecção. (Adaptado)

2.3.3.2 Método Cromatográfico

A separação completa de todos os analitos alvos não é essencial para métodos analíticos baseados em MS/MS, uma vez que as transições MRM são específicas para cada analito. Assim, métodos analíticos multirresíduos utilizam preferencialmente colunas mais curtas para separações cromatográficas como forma de diminuir o tempo de análise. Na separação cromatográfica, fases móveis com acetonitrila, MeOH ou mistura de ambos os solventes são utilizadas para diminuir o tempo de retenção e melhorar a resolução dos analitos alvos. Sacher e colaboradores (2001) recomendam também a utilização de ácidos e tampão como modificadores de fases móveis para obter retenção eficiente do analito na coluna e melhorar a ionização da substância na fonte ESI. Os modificadores mais utilizados são os ácidos fórmico e acético e tampões de acetato de amônio e formiato de amônio.

Para otimização da separação cromatográfica foram preparadas soluções contendo todos os analitos de interesse na concentração de 1000 ng L⁻¹. Em seguida foi avaliada a separação cromatográfica dos analitos, porém somente daqueles ionizados em modo positivo (ESI +) já que testes preliminares para moléculas avaliadas no modo negativo culminaram com resultados pouco satisfatórios em

termos de sensibilidade. Para a separação cromatográfica foram utilizados os seguintes parâmetros iniciais:

- Fase estacionária: Coluna Zorbax Eclipse Plus - C18 (2,1x50 mm 1,8µm).
- Fase móvel A (FM A): água + 0,1% ácido fórmico
- Fase móvel B (FM B): Metanol + 0,1% ácido fórmico
- Vazão: 0,3 mL min⁻¹
- Volume de injeção: 2,0 µL
- Tempo de corrida: 6 min
- Detector: MS/MS(Q-TOF)
- Temperatura do forno de coluna: 35 °C

Os ajustes no método cromatográfico foram feitos de forma univariada, e de forma não sistemática, onde foram testados diferentes gradientes de eluição. Desta maneira, o gradiente que se mostrou mais adequado para a separação cromatográfica dos analitos está apresentado na Tabela 4.

Tabela 4. Gradiente de eluição utilizado na separação cromatográfica

Tempo (min)	Fluxo (mL min ⁻¹)	FM A (%)	FM B (%)
0	0,30	80	20
0,5	0,30	80	20
1,0	0,30	50	50
4,0	0,30	50	50
4,1	0,30	80	20
6,0	0,30	80	20

2.3.3.3 Otimização dos Parâmetros da Fonte

Os parâmetros dependentes da fonte de ionização, foram otimizados de maneira empírica e multivariada tendo-se em vista a melhor resposta obtida para a cafeína. São eles:

- CUR (*Curtain Gas*): Controla o fluxo de gás da interface *curtain gas*, localizada entre o *curtain plate* e *orifice plate*. Este fluxo de gás impede que gotas de solvente entrem no caminho dos íons.

- GS1 (Gas 1): Este parâmetro controla o fluxo de N₂ e ajuda a formar um aerossol da amostra.
- GS2 (Gas 2): Controla o fluxo do gás auxiliar no eletronebulizador que é utilizado para evaporar as gotas pulverizadas. O GS2 otimizado em conjunto com a temperatura (TEM) permite que o solvente proveniente da coluna cromatográfica seja quase que completamente vaporizado.
- IS (*Ion Spray Voltage*): Controla a voltagem aplicada na agulha da fonte de ionização. Este parâmetro depende da polaridade e pode afetar a estabilidade do spray e a sensibilidade.

A otimização dos parâmetros acima foi feita por meio de três planejamentos fatoriais de modo que fosse possível trabalhar com uma ampla faixa de valores para cada um dos parâmetros (Tabelas 5, 6 e 7). Planejamentos fatoriais completos 2⁵ e 2⁴ foram construídos utilizando-se dois níveis, nível alto (+) e nível baixo (-), e os resultados foram calculados a partir da área referente ao pico cromatográfico da cafeína para cada experimento montado.

Os planejamentos fatoriais sequenciais foram montados de acordo com os resultados obtidos pelo planejamento fatorial anterior. Nestes casos, uma solução 1000 ng L⁻¹ de cafeína foi preparada a partir da solução estoque utilizando água ultrapura como solvente.

Tabela 5. Planejamento Fatorial 1 – Otimização dos parâmetros de fonte

Fator	—	+
1 – GS 1	10	15
2 – GS 2	10	15
3 – Cur	10	15
4 – Temperatura	100 °C	300 °C
5 - Voltagem	4500 V	5500 V

Tabela 6. Planejamento Fatorial 2 – Otimização dos parâmetros de fonte

Fator	—	+
1 – GS 1	15	40
2 – GS 2	15	25

3 – Cur	15	25
4 – Temperatura	300 °C	500 °C

Tabela 7. Planejamento Fatorial 3 – Otimização dos parâmetros de fonte

Fator	–	+
1 – GS 1	40	50
2 – GS 2	25	50
3 – Cur	25	40
4 – Temperatura	500 °C	550 °C

2.3.3.4 Método de Extração em Fase Sólida (SPE)

Como o objetivo do trabalho foi quantificar cafeína em amostras de água para consumo humano, onde as concentrações variam na faixa de ng L^{-1} , foram preparadas soluções em água ultrapura durante a otimização da extração. Os outros fármacos, além da cafeína, também foram investigados como forma de obter resultados preliminares acerca de suas recuperações na fase sólida utilizada. Vale reafirmar, entretanto, que todos os experimentos foram realizados buscando-se a melhor resposta para a cafeína. Além disso, o critério para a escolha do cartucho nesta parte do trabalho levou em consideração o seu baixo custo e os bons resultados para a recuperação de cafeína descritos na literatura (Araújo, 2014).

Amostras de 100 mL de água ultrapura enriquecidas com cafeína e com os demais fármacos foram submetidas à extração em fase sólida empregando cartuchos Envy-18 contendo 500 mg de fase sólida. O pH das amostras foi ajustado para 2,0 com HCl diluído. Os cartuchos foram condicionados com 5 mL de acetonitrila, 5 mL de metanol e 5 mL de H_2O ultrapura. A amostra foi então passada pelo cartucho sob baixa vazão ($< 3 \text{ mL min}^{-1}$) com o auxílio de um sistema construído no laboratório (Figura 8) que permite o controle manual e individual da vazão de cada cartucho. Nesta etapa, tomou-se o cuidado de manter um fluxo contínuo dos solventes utilizados no condicionamento do cartucho e da amostra de forma que os cartuchos não secassem.

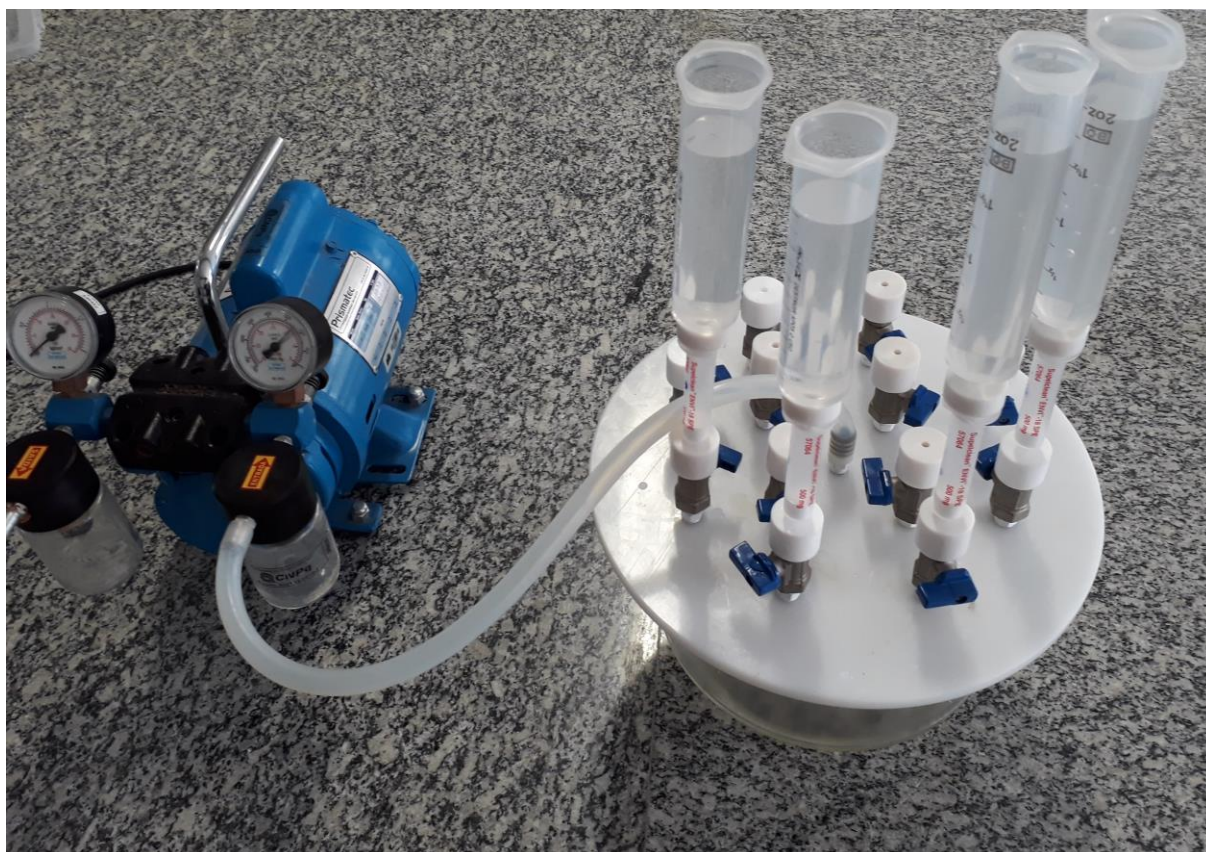


Figura 8. Fotografia do sistema de extração *labmade* aplicado neste trabalho.

Após a passagem da amostra, os cartuchos foram centrifugados a 5000 rpm por 5 minutos para eliminar qualquer líquido residual. Os cartuchos foram fixados em *manifold* de 12 portas à vácuo para permitir a eluição controlada dos analitos. Para a eluição foram empregadas duas alíquotas de 4,0 mL de metanol.

Posteriormente, o extrato resultante foi reduzido ao volume de 1,0 mL em um evaporador paralelo Syncore® Analyst. Cabe ressaltar que foi necessário o aprimoramento do gradiente de vácuo para a evaporação dos extratos até o volume desejado neste equipamento (Tabela 8), de forma que o extrato não fosse levado a completa *secura*.

Tabela 8. Gradiente de vácuo utilizado na concentração dos extratos em equipamento Syncore Analyst

Tempo (min)	Vácuo (mbar)
0,0-1,0	600
1,0-2,0	300
2,0-3,0	250

3,0-30,0	200
30,0-60,0	160
60,0-90,0	140
90,0-120,0	120
120,0-150,0	100
150,0-180,0	80
180,0-240,0	60

Para se avaliar possíveis perdas no processo de concentração de amostras por evaporação paralela, Foi preparada uma solução contendo 125 ng L⁻¹ de todos os analitos em metanol. Alíquotas de 8,0 mL dessa solução foram submetidas a dois métodos de concentração: um empregando evaporação paralela e outro utilizando a secagem do extrato com fluxo de nitrogênio em um concentrador TE-019 (Tecnal). Neste segundo procedimento, o frasco contendo o solvente foi mantido sob temperatura constante de 40 °C durante a secagem completa. Em seguida, o material resultante foi redissolvido com 1,0 mL de metanol. Ambos os extratos finais foram submetidos à análise quantitativa, em triplicata.

2.3.3.5 Preservação de amostras e otimização do pH de extração

Considerando que a priorização de mananciais envolve a etapa de recebimento de amostras de água para consumo humano de diferentes localidades, é preciso garantir que a perda de analitos de interesse durante o transporte das amostras até o laboratório seja mínima. Neste sentido foram selecionadas algumas condições que pudessem permitir a operacionalização deste procedimento. Sob esta perspectiva, selecionou-se um frasco de coleta de 150 mL de plástico âmbar (do tipo PET), de modo que houvesse menor risco de quebra durante o transporte e menor peso, já que este aspecto interfere no custo do envio dos materiais de uma cidade para outra.

Para as outras variáveis, ou seja, pH e tempo de conservação da amostra, foi realizado um planejamento fatorial 2², utilizando dois níveis, nível alto (+) e nível baixo (-) conforme informações da Tabela 9. Cabe mencionar que a única condição de preservação usada neste trabalho foi o pH, uma vez que bons resultados foram obtidos em trabalhos anteriores do grupo para a determinação de drogas de abuso em amostras de esgoto bruto, portanto, mais complexas e com potencial elevado de atividade microbiana (Sodré et al., 2018)

Tabela 9. Otimização do método de SPE

Fator	–	+
Ajuste de pH da amostra	2	10
Tempo de Conservação da Amostra (dias)	1	3

Para os ensaios de preservação, foram preparados amostras de água ultrapura contendo 10 ng L⁻¹ de todos os analitos de interesse. O ajuste de pH que foi feito com HCl diluído e solução de NaOH sob concentração de 0,1 mol L⁻¹. Após o ajuste, as amostras foram mantidas à temperatura ambiente durante até três dias como forma de mimetizar as condições de transporte. Posteriormente, foi realizada a extração e a quantificação dos analitos, em triplicata.

2.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

2.4.1 Curva analítica e linearidade

A linearidade consiste na resposta obtida em função da concentração do analito a qual deve ser estudada em um intervalo de concentração apropriado. Envolve a construção de curvas analíticas na faixa de concentração entre 50% e 150% do valor que se espera encontrar. Os gráficos de curvas analíticas são apresentados com dados estatísticos adequados, envolvendo a equação da função (normalmente uma reta) a análise de regressão e os parâmetros de correlação e determinação.

Equação da reta é descrita como:

$$y = ax + b \quad (3)$$

onde, y é a variável dependente, x a variável independente, a representa o coeficiente linear e b o coeficiente angular da reta.

Para se avaliar a faixa de trabalho do método, soluções multicomponentes foram preparadas por diluição das soluções estoque (20 mg L⁻¹) dos respectivos analitos de interesse, em concentrações de 50; 100; 250; 500; 1000; 2000; 5000 e 10000 ng L⁻¹, em mistura de água:metanol (50:50) com ácido fórmico 0,1%.

2.4.2 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de detecção (*LOD*) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada como um valor exato. Pode ser calculado pela seguinte equação:

$$LOD = 3,3 \times \frac{s}{b} \quad (4)$$

onde, *b* é o coeficiente angular da reta, e *s* é a estimativa do desvio padrão do branco (10 medidas).

O limite de quantificação (*LOQ*) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e com fidelidade determinada. Pode ser calculado pela seguinte equação:

$$LOQ = 10 \times \frac{s}{b} \quad (5)$$

onde, *b* é o coeficiente angular da reta, e *s* é a estimativa do desvio padrão do branco (10 medidas).

2.4.3 Seletividade

A seletividade do método pode ser definida como a capacidade do mesmo em determinar o analito de maneira inequívoca na presença de outras substâncias capazes de interferirem na determinação.

A técnica de LC-MS/MS é específica pelo fato do espectrômetro de massas ser calibrado para cada analito e utilizado no modo de varredura de íons precursores e produtos selecionados. Desta forma a seletividade é garantida devido à busca de transições MRM específicas e pelos diferentes tempos de retenção para cada analito.

2.4.4 Ensaios de Recuperação

A recuperação é uma medida de eficiência do processo de isolamento do analito de interesse da matriz na qual se encontra presente. Neste teste, são adicionadas soluções padrão dos analitos de interesse em concentração conhecida a uma matriz

isenta do analito. Em seguida, efetua-se o procedimento de extração e quantificação. A recuperação pode ser calculada através da seguinte equação:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{valor obtido}}{\text{valor adicionado}} \times 100 \quad (6)$$

Soluções de cafeína em água ultrapura foram preparada sob três níveis de concentração (5, 20 e 50 ng L⁻¹) partindo-se da diluição da solução estoque (20 mg L⁻¹). As soluções foram submetidas ao procedimento de extração em triplicata e posterior quantificação.

2.4.5 Precisão

A precisão é a expressão da concordância entre vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra. Pode ser calculada pelo valor do coeficiente de variação (*CV*), através da seguinte equação:

$$CV = \frac{S}{x_m} \times 100 \quad (7)$$

onde, *S* é o desvio padrão dos resultados obtidos e *x_m* a média dos resultados obtidos.

Normalmente, métodos que quantificam substâncias em macro quantidades requerem um *CV* de 1 a 2%. Uma maneira simples de melhorar a precisão é aumentar o número de replicatas. A precisão em validação de métodos é investigada sob três níveis diferentes: repetitividade; precisão intermediária; reprodutibilidade (Ribani et al., 2004).

De acordo com a ANVISA (2017) a repetitividade (precisão intraday) deve ser verificada a partir de um mínimo de nove determinações cobrindo o limite especificado do procedimento (ex.: três níveis e três replicatas cada nível), enquanto que a precisão intermediária (precisão interday) indica o efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como diferentes dias ou diferentes analistas ou diferentes equipamentos ou uma combinação destes fatores. A reprodutibilidade (precisão interlaboratorial) não foi realizada neste trabalho.

2.4.6 Exatidão

Exatidão expressa a concordância entre o valor verdadeiro e o valor aceito como verdadeiro. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos (INMETRO, 2007) desta forma, a exatidão está associada a valores de precisão. Foi determinada através de ensaio de recuperação do analito quando aplicado o método em amostras de água com concentração conhecida dos analitos de interesse.

2.5 APLICAÇÃO DO MÉTODO EM AMOSTRAS DE ÁGUA TRATADA

Após a validação do método, o mesmo foi aplicado a amostras de água para consumo humano. Para isso foi necessário estabelecer pontos de amostragem, além de protocolos de coleta e manuseio das amostras.

2.5.1 Coleta e Manuseio das amostras

Amostras de água para consumo humano foram coletadas em torneiras ligadas à rede de abastecimento público do DF em frasco de plástico âmbar (do tipo PET) de 150 mL. O protocolo de coleta e manuseio das amostras envolveu as seguintes etapas:

- Lavar as mãos e secá-las;
- Utilizar luvas de procedimento;
- Limpeza da torneira;
- Abrir a torneira, deixando a água escoar por cerca de 10 minutos ou o tempo suficiente para eliminar a água estagnada na tubulação;
- Ajustar a abertura da torneira em fluxo baixo de água e coletar o volume necessário para encher o frasco, deixando espaço para adição de 1 mL da solução de HCl;
- Adicionar 1 mL de HCl 1,0 mol L⁻¹, fechar o frasco e agitar.
- Encaminhar as amostras ao Laboratório no menor tempo possível.

Antes e durante o procedimento de coleta é necessário tomar os seguintes cuidados: não tocar na parte interna da tampa; não colocar a tampa no chão ou sobre

outra superfície; não falar, tossir ou espirrar próximo ao frasco de coleta; não consumir produtos que possuam cafeína antes do procedimento de coleta.

As recomendações acima foram idealizadas de modo a permitir que qualquer pessoa pudesse coletar amostras e enviá-las, por Sedex, ao laboratório responsável pelas análises.

2.5.2 Pontos de Amostragem de água para consumo humano no DF

A escolha dos pontos amostrais de água para consumo humano foi realizada de forma a avaliar diferentes sistemas de produção de água que abastecem o Distrito Federal. O DF possui seis sistemas de produção, mostrados na Figura 9, incluindo o sistema do Lago Paranoá, não mostrado na Figura, porém já operante em caráter emergencial.

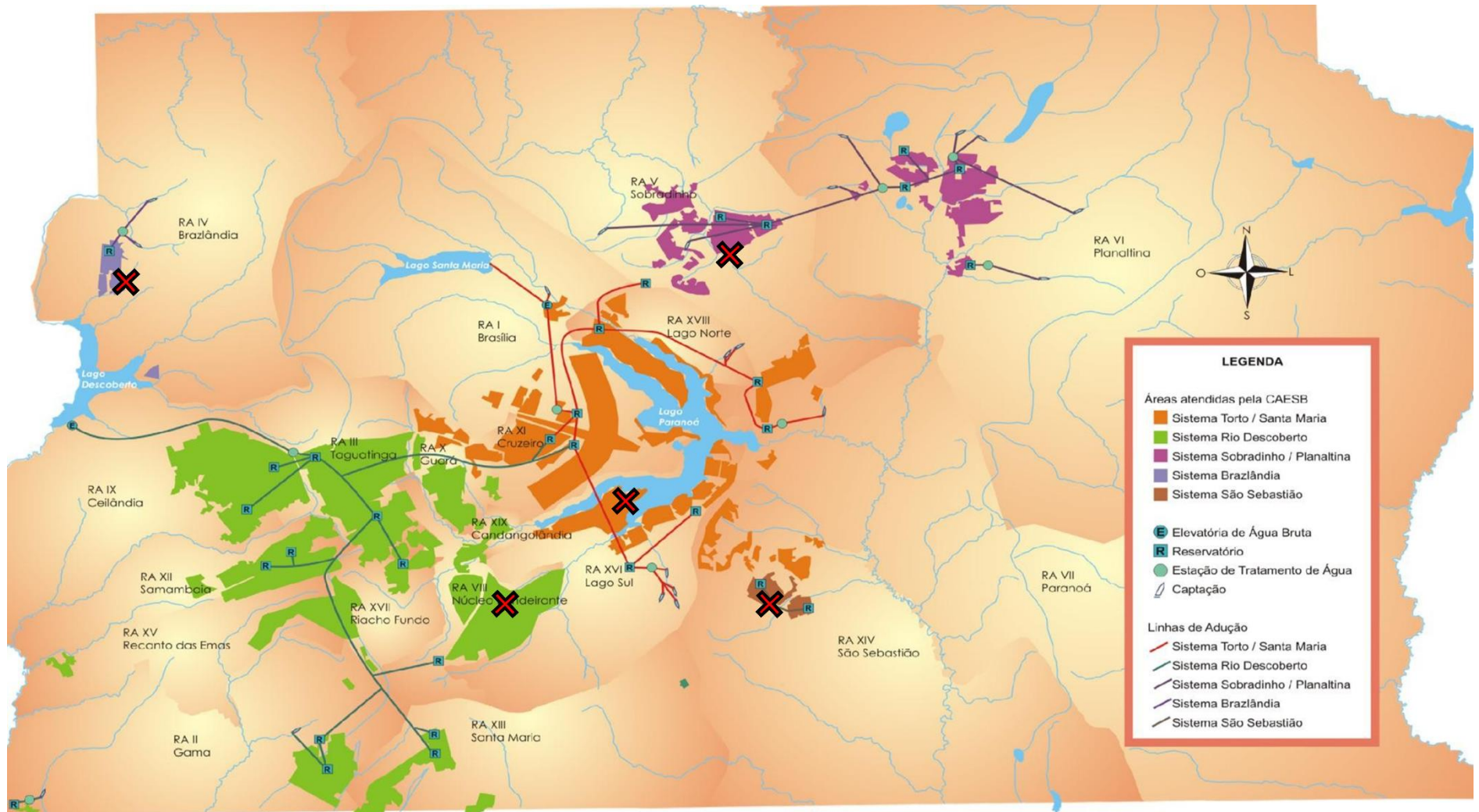


Figura 9. Sistemas de abastecimento de água no DF (adaptado de CAESB, 2011). Pontos amostrais marcados com X.

Cinco amostras de diferentes regiões administrativas (Tabela 10), representativas dos cinco sistemas de produção mostrados na Figura 9, foram obtidas.

Tabela 10. Pontos amostrais e sistemas produtivos representados.

Região do DF	Sistema
Park Way	Rio Descoberto
Brazlândia	Brazlândia
Lago Sul	Torto/Santa Maria
Sobradinho	Sobradinho-Planaltina
São Sebastião	São Sebastião

As amostras foram coletadas em regiões de livre acesso, em torneiras públicas, localizadas em prédios públicos ou em torneiras localizadas fora de condomínios residenciais. Ressalta-se que as amostras provenientes destes pontos não estiveram em contato com a caixa d'água ou com nenhum outro tipo de reservatório de água, garantindo que a amostra coletada tenha procedência direta do sistema de abastecimento. Após a coleta, as amostras foram submetidas à extração e posterior quantificação de cafeína.

2.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.6.1 Escolha dos íons precursor e produto

Os parâmetros DP e CE foram otimizados de forma univariada utilizando o software Analyst 1.6, que permite a construção de rampas com diferentes valores para ambos os parâmetros e facilita a identificação dos valores ótimos para cada analito. Na Figura 10 é apresentado o espectro de fragmentação de massa para cafeína sob diferentes valores de CE.

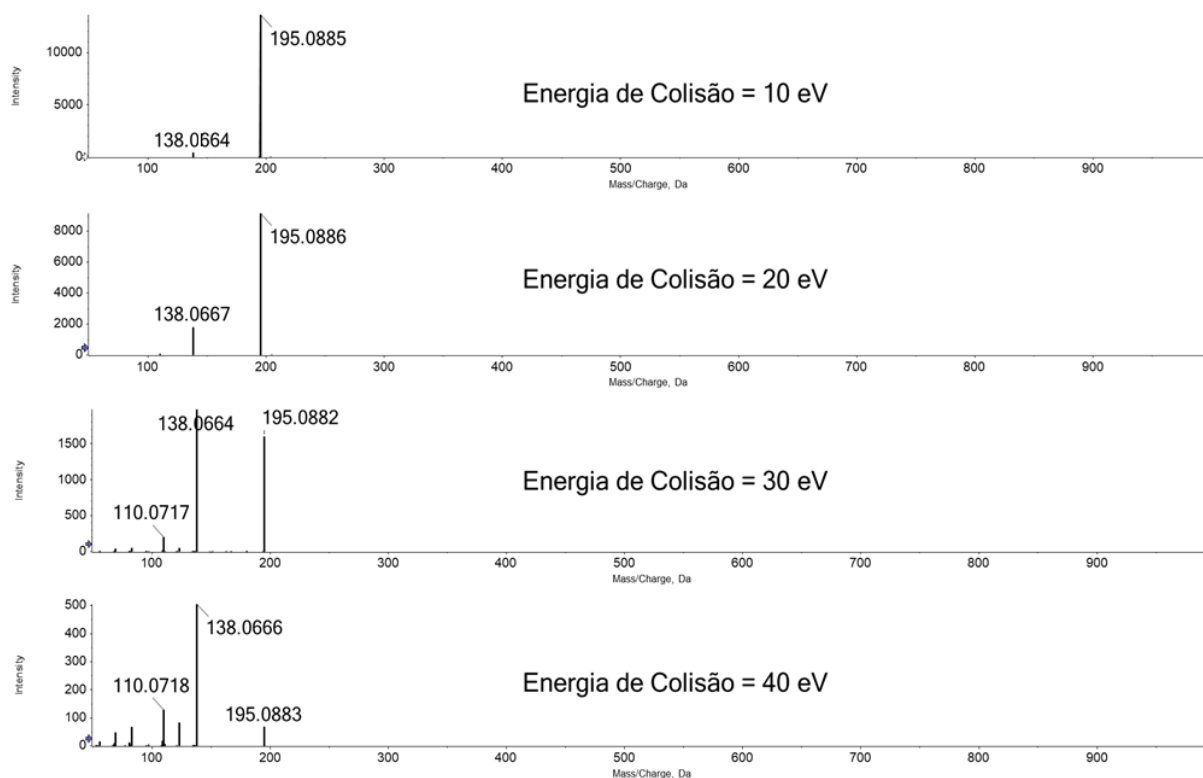


Figura 10. Espectros de massa mostrando diferentes perfis de fragmentação da cafeína sob quatro níveis de energia de colisão.

O íon produto foi escolhido de acordo com a intensidade de sinal do principal fragmento. No caso da cafeína, como pode ser observado na Figura 10, o íon produto mais abundante corresponde ao que possui relação massa/carga de 138,0666 Da, obtido com energia de colisão de 20 V, desta forma este íon produto foi escolhido para a quantificação de cafeína. O segundo íon produto mais abundante foi escolhido para confirmação do analito.

Vale ressaltar que a transição entre os íons precursor-produto (195,1 → 138,1) tem sido utilizada em diferentes trabalhos para a quantificação de cafeína empregando várias diferentes configurações MS/MS, de alta e baixa resolução (Ferreira et al., 2005; Froehner et al., 2010; Jardim et al., 2012; Sodré et al., 2007).

Na Tabela 11 são mostrados os parâmetros analito-dependentes ótimos de cada analito (DP e CE) além das respectivas reações precursor→produto utilizadas para quantificação e confirmação.

Tabela 11. Valores ótimos dos parâmetros DP e CE para cada analito e respectivos íons produtos utilizados para quantificação e identificação.

Analito	Massa [M+H] ⁺	DP (V)	CE (V)	Transição (m/z) ¹	Abundância Relativa (%) ²
AMT	278,1917	20	30	278,2→233,1335 278,2→191,0858	100 48
ATN	267,1726	20	30	267,2→145,0655 267,2→190,0871	100 14
BUP	240,1158	20	17	240,1→184,0528 240,1→166,0422	100 14
CAF	195,0883	20	20	195,1→138,0666 195,1→110,0718	100 5
CMZ	237,1035	20	25	237,1→194,0973 237,1→192,0817	100 40
DAP	249,0697	10	20	249,1→156,0117 249,1→108,0452	100 29
NOR	264,1744	20	25	264,2→233,1335 264,2→191,0858	100 32
TEO	181,0725	10	25	181,1→138,0664 181,1→110,0730	100 5
VEN	278,2108	20	20	278,2→260,2015 278,2→215,1431	100 45

¹ A primeira transição corresponde ao íon produto utilizado para quantificação, enquanto que a segunda transição corresponde ao íon produto utilizado para confirmação.

² Obtida a partir do modo “*Enhanced Ion*” para a primeira transição.

Para os analitos avaliados no modo ESI(+), íons produto similares são reportados por Ferrer e colaboradores (2013) e Radjenovic e colaboradores (2007) para quantificação e identificação dos fármacos ATN, BUP, CAF, CMZ e VEN. Herrin e colaboradores (2005), utilizaram os mesmo íons produtos para AMT, BUP, CAF, CMZ e NOR enquanto Bonde e colaboradores (2013) reportaram os mesmo íons produtos para DAP e Mueller e colaboradores (2005), os mesmos íons produtos para AMT, ATN, CAF, CMZ, NOR, TEO e VEM.

2.6.2 Método Cromatográfico

Definido os parâmetros de aquisição no espectrômetro de massas, foi possível efetuar a separação cromatográfica. Na Figura 11, são apresentados cromatogramas para cada transição de quantificação avaliada. Ressalta-se que o equipamento, por possuir alta resolução e por permitir a aquisição em modo MRM, oferece respostas

distintas mesmo para substâncias que apresentam íons produtos com razão massa/carga semelhantes. Neste caso, são diferenciados devido à especificidade da transição precursor→produto. O mesmo raciocínio pode ser aplicado para íons precursores com razão massa/carga semelhantes, uma vez que a transição precursor/produto é específica para cada analito, desta maneira a especificidade e a seletividade do método são garantidas.

O tempo de duração total do método cromatográfico foi de 6 minutos, incluindo o período necessário para a eluição dos nove fármacos, para o acondicionamento da coluna cromatográfica e para levar a fase móvel às condições iniciais para cada corrida cromatográfica. A separação foi considerada satisfatória, porém seu sucesso foi notadamente influenciado pelo modo de aquisição dos dados no sistema de espectrometria de massas, conforme observado no caso dos fármacos NOR e CAR, que apresentaram tempo de retenção praticamente iguais, ou seja, de 2,81 e 2,89 min, respectivamente.

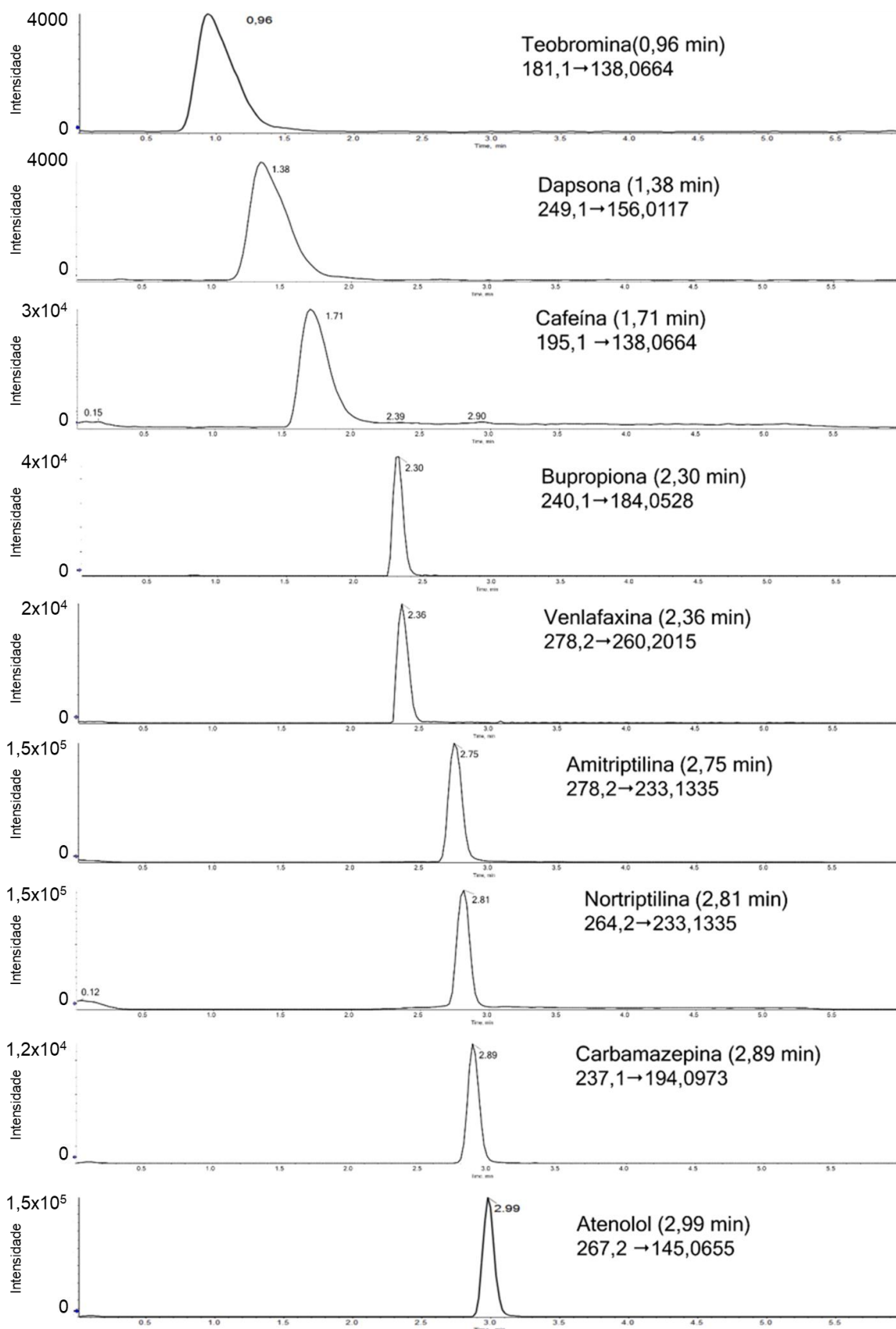


Figura 11. Cromatograma dos analitos avaliados e seus respectivos tempos de retenção (min) e transições para quantificação massa/carga. Concentração dos analitos 10 µg L⁻¹.

Na Figura 11, observa-se que os analitos com menores tempos de retenção apresentaram maior alargamento dos picos, provavelmente devido ao gradiente de eluição que no início da análise apresentava proporção água:metanol de 85:15 (v/v). Porém, se uma porção maior de fase orgânica fosse empregada no início do gradiente de eluição, a separação dos analitos poderia ser comprometida, tal qual observado em testes preliminares (não mostrados). Além disso, outros interferentes da matriz também poderiam prejudicar a exatidão do método. Desta maneira, optou-se pelo gradiente que promoveu melhor eficiência de separação em detrimento àquele que apresentou maior da qualidade de picos.

Mesmo que a transição MRM seja específica para cada analito, uma separação cromatográfica adequada é desejável para facilitar a identificação e a quantificação dos analitos-alvo. Deve-se considerar que metabólitos e/ou produtos de degradação de uma determinada substância podem compartilhar os mesmos íons precursores ou produtos, dificultando a identificação correta.

2.6.3 Otimização dos Parâmetros da Fonte de Ionização

Os resultados do planejamento fatorial foram obtidos com base nas áreas do pico cromatográfico atribuído à cafeína. A partir destes valores foi possível calcular os efeitos de cada parâmetro avaliado. Na Tabela 12 é apresentado um resumo dos efeitos principais calculados em cada planejamento.

Tabela 12. Efeitos principais calculados de acordo com às áreas relativas encontradas para cafeína.

Planejamento Fatorial 1		Planejamento Fatorial 2		Planejamento Fatorial 3	
Média (área)	12681,15	Média (área)	23682,83	Média (área)	30727,28
Efeitos Principais		Efeitos Principais		Efeitos Principais	
GS1	955,4	GS1	2569,52	GS1	2515,12
GS2	435,7708	GS2	2510,93	GS2	1957,29
CUR	602,8042	CUR	1923,23	CUR	5121,21
TEM	6783,679	TEM	1117,45	TEM	352,08
Voltagem (IS)	36,35				

Os efeitos principais são calculados a partir da diferença média observada na resposta (área do pico cromatográfico atribuído à cafeína) quando se muda o nível do fator de controle investigado. Valores positivos dos efeitos indicam um aumento na resposta obtida quando o fator de controle está ajustado no nível alto (+). Enquanto que valores negativos indicam que a resposta obtida será maior quando o fator de controle estiver ajustado no nível baixo (-). A partir desta análise é definida a melhor condição do parâmetro avaliado.

Os resultados do primeiro planejamento fatorial permitem inferir que a mudança dos níveis de IS, ou seja, da voltagem aplicada na agulha da fonte de ionização, teve pequena influência no sinal obtido para a cafeína, de forma que a utilização do valor de voltagem de 5500 V (nível alto) foi mantido nos demais planejamentos fatoriais. Todos os outros fatores de controle investigados apresentaram aumento na área do pico de cafeína.

No planejamento fatorial 2 foi determinado que os valores de GS1, GS2, CUR e TEM seriam os valores atribuídos ao nível alto (+), uma vez que os resultados mostram um aumento significativo na área do pico de cafeína, evidenciado pelos resultados dos efeitos principais.

Por fim, os resultados obtidos no planejamento fatorial 3, mostram que os valores ótimos para os fatores de controle GS1, GS2, CUR e TEM, são referentes ao nível alto deste planejamento.

Os valores apresentados na Tabela 13 foram utilizados em todos os testes posteriores.

Tabela 13. Valores otimizados para os parâmetros de fonte de ionização para a cafeína

Parâmetro	CUR (psi)	GS1 (psi)	GS2 (psi)	IS (V)	TEM (°C)
Valor	40	50	50	5500	550

2.6.4 Avaliação dos processos de concentração

Para a avaliação da recuperação empregando-se diferentes métodos de concentração da amostra, foram preparadas curvas analíticas para cada analito. Na Tabela 14 são apresentados os parâmetros da reta, a faixa de concentração utilizada, os valores de R^2 , e as recuperações para cafeína e para as demais substâncias investigadas empregando-se os diferentes métodos de concentração.

Tabela 14. Recuperação de cafeína em solventes submetidos a diferentes métodos de concentração de amostra (n = 3, 95% de confiança)

Analito	Faixa de Trabalho (ng L ⁻¹)	Equação da Reta	R ²	Recuperação	Recuperação
				Método 1* (%)	Método 2** (%)
Amitriptilina	50-2000	y = 39179x + 1402,6	0,9992	99,6 ± 2,8	105,0 ± 6,0
Atenolol	50-5000	y = 12027x - 877,88	0,9993	101,8 ± 3,4	103,7 ± 7,6
Bupropiona	50-2000	y = 142517x + 6191,7	0,9974	105,2 ± 5,8	102,8 ± 2,8
Cafeína	50-10000	y = 31642x + 2347,1	0,9997	104,0 ± 1,5	101,8 ± 4,2
Carbamazepina	50-2000	y = 143399x + 8316,3	0,9992	104,2 ± 4,9	102,0 ± 5,8
Dapsona	50-5000	y = 58916x - 1751,4	0,9983	100,7 ± 0,3	103,6 ± 3,1
Nortriptilina	50-5000	y = 35401x + 3432,8	0,9983	104,7 ± 5,3	98,3 ± 15,6
Teobromina	250-10000	y = 4408,06 + 463,84	0,9972	94,0 ± 1,7	97,8 ± 8,0
Venlafaxina	50-2000	y = 61594x - 349,85	0,9998	104,7 ± 4,4	101,8 ± 7,5

* Método de concentração utilizando evaporador paralelo Syncore Analyst (Buchi)

** Método de concentração utilizando fluxo de N₂ até a secura do extrato em equipamento Tecnal (T19).

Os resultados da Tabela 14 mostram que não há perdas de analitos empregando-se ambos os processos de concentração da amostra. Porém, resultados mais precisos foram, para todos os analitos, obtidos empregando-se o sistema de evaporação paralela, sendo este o método adotado no restante do trabalho.

2.6.5 Preservação de amostras e pH de extração

Para a avaliação da preservação e do pH de extração das amostras, foram preparadas curvas analíticas multicomponentes a partir das soluções-estoque individuais dos fármacos. Na Tabela 15 são apresentados os valores de recuperação para os analitos empregando-se diferentes tempos de preservação e níveis de pH.

Tabela 15. Resultados obtidos para ensaios de recuperação em amostras de água ajustadas a pH 2,0 e 10,0 e em diferentes dias

Analito	pH 2,0		pH 10,0	
	Recuperação Dia 1 (%)	Recuperação Dia 3 (%)	Recuperação Dia 1 (%)	Recuperação Dia 3 (%)
AMT	ND	ND	91,6 ± 2,7	87,7 ± 8,1
ATN	72 ± 3	75,4 ± 4,5	98,6 ± 12,0	78,2 ± 3,8
BUP	47,0 ± 6,0	43,7 ± 3,6	59,4 ± 3,5	40,0 ± 16,8
CAF	95,8 ± 2,8	96,0 ± 0,8	92,1 ± 4,5	44,8 ± 41,3
CMZ	25,9 ± 9,0	29,8 ± 8,5	41,7 ± 4,6	30,0 ± 11,2
DAP	56,9 ± 7,7	56,4 ± 11,3	55,3 ± 5,4	56,9 ± 8,6
NOR	20,3 ± 17,4	19,2 ± 9,6	81,7 ± 9,6	79,9 ± 7,5
TEO	82,5 ± 1,5	83,4 ± 5,3	58,6 ± 2,0	27,5 ± 3,9
VEN	78,6 ± 1,5	76,1 ± 2,6	103,3 ± 4,1	90,2 ± 2,6

ND = Não Detectado

Para análises empregando cartuchos contendo C18, o ajuste do pH é, muitas vezes, requisito necessário para se obter boas recuperações (Ferrer et al., 2013). Por outro lado, fases sólidas balanceadas contendo grupos lipofílicos e hidrofílicos, tais como Oasis HLB (Waters) e Strata-X (Phenomenex), são os mais utilizados para a extração de fármacos em análises de água, uma vez que permitem a extração de substâncias ácidas, neutras e básicas em pH neutro (Cardoso et al., 2011). Apesar de serem mais utilizados, o custo de cartuchos balanceados é maior que cartuchos C18, o que pode inviabilizar análises de rotina.

Neste trabalho, cartuchos C18 foram escolhidos tendo-se em vista que o objetivo foi garantir um bom método para a determinação de somente um analito, a cafeína. Além disso, considerando o recebimento de várias amostras de água para consumo humano, o custo total das análises será bastante reduzido ao se escolher fases sólidas constituídas de C18.

A retenção de analitos orgânicos a partir de amostras aquosas em cartuchos de SPE de fase reversa é principalmente devida a interações hidrofóbicas. A hidrofobicidade de cada substância investigada pode ser estimada pelo seu coeficiente de partição octanol/água ($\log K_{ow}$). As substâncias ionizáveis só podem ser retidas em cartuchos C18 na sua forma neutra, o que implica em um ajuste do pH da amostra, de forma que o pK_a das substâncias de interesse possuem forte influência

na recuperação obtida (Pavlović et al., 2010). A utilização de cartuchos SPE C₁₈, em geral, é adequada para substâncias com log K_{ow} superior a 2,5 (Pichon, 1998).

Entretanto, os resultados obtidos apresentados na Tabela 15, indicam algumas discrepâncias em relação ao esperado quanto às recuperações obtidas para alguns compostos. A CAF, cujo valores de log K_{ow} e pK_a são -0,07 e 14,0 (Tabela 2), respectivamente, seriam esperadas recuperações baixas uma vez que a cafeína tanto em pH 2 ou 10 estaria em sua forma ionizada, e recuperações altas não seriam esperadas. Isto pode ser explicado por diferentes mecanismos de interação do analito com a fase estacionária, que vão além de interações do tipo Van der Waals.

Algumas outras substâncias, como a AMT, que apresenta valores de log K_{ow} e pK_a de 4,94 e 9,76, respectivamente, ou seja, características mais hidrofóbicas, apresentou boas recuperações em pH 10, devido as interações hidrofóbicas com a fase estacionária, enquanto que em pH 2, onde está em sua maior parte ionizada, não houve recuperação.

Para sílicas quimicamente ligadas utilizadas em extração em fase reversa, o mecanismo primário de retenção envolve interações não-polares. No entanto, devido ao esqueleto da partícula de sílica, algumas interações secundárias polares com silanóis (Si-OH) residuais podem ocorrer. O grupo silanol na superfície da sílica também pode ser ácido, e pode existir como um grupo de Si-O⁻ acima de pH 4. Como resultado, o esqueleto de sílica também pode ter interações secundárias de troca catiônica, atraindo analitos de interesse com características básicas (Telepchak et al., 2004).

Na Tabela 15 é possível observar que alguns fármacos apresentaram boas recuperações em pH mais elevado, enquanto outros em pH mais baixo. Intervalos aceitáveis de recuperação em análises multirresíduos geralmente ficam entre 70 e 120%, com precisão de até ± 20%. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, valores entre 50 e 120%, com precisão de até ± 15%, são aceitáveis (Ribani et al., 2004). Os resultados obtidos mostram que, para a CAF, o pH 2,0 foi melhor tanto para a preservação quanto para a extração, pois foram observadas recuperações satisfatórias (acima de 90%) nos diferentes dias investigados. Ao contrário, em pH 10, houve boa recuperação de CAF (92,1 ± 4,5 %) apenas no primeiro dia de preservação, já que após três dias houve redução significativa da recuperação e da precisão (44,8 ± 41,3 %). Comportamento similar foi observado para

os outros fármacos, exceto para AMT, NOT e DAP, que apresentaram recuperações semelhantes em ambos os dias com pH elevado.

A redução na recuperação de alguns analitos em pH 10 pode estar associada a mecanismos de hidrólise alcalina, uma vez que este tipo de hidrólise ocorre principalmente em substâncias que possuem grupos amida, imida e éster (Baertschi et al., 2011), casos da CAF, ATN, TEO e CMZ, que possuem grupo amida.

Os resultados de recuperação da AMT e NOR apresentaram-se similares aos reportados por Freitas e colaboradores (2009) que também utilizaram cartuchos C₁₈ sob pH elevado da amostra. Os fármacos ATN, VEN, TEO e CAF apresentaram valores de recuperação acima de 70%, para extração e conservação com pH 2,0, enquanto que o restante dos fármacos apresentou recuperações abaixo de 60% neste mesmo pH.

Os resultados obtidos sugerem que o cartucho C₁₈ pode ser utilizado análise de amostras em pH 2,0 quanto aos fármacos ATN, VEN, TEO e CAF, mesmo após três dias à temperatura ambiente. Por outro lado, apesar de serem observadas recuperações satisfatórias em pH 10,0 para DAP, NOR e AMT, este método de preservação deve ser preterido, pois não foi adequado para a cafeína. Em resumo, determinou-se que as amostras ao serem coletadas devem ter seu pH ajustado para próximo de 2,0 e enviadas em até três dias para análise no Laboratório Central responsável pela extração e quantificação dos analitos.

2.6.6 Validação do Método Analítico

Tendo-se em vista o objetivo principal do trabalho, a validação do método foi realizada somente para a cafeína. Consistiu na obtenção de informações sobre curvas analíticas, precisão e exatidão (ensaios de recuperação), limites de detecção e quantificação.

2.6.6.1 Linearidade e Limites de Detecção e Quantificação

Para se avaliar a linearidade foi construída uma curva analítica na faixa de 50 a 10000 ng L⁻¹ empregando-se oito pontos. Os dados foram ajustados pelo modelo de regressão linear simples enquanto que a análise de variância do modelo (Tabela 16) permitiu a obtenção de parâmetros úteis ao cálculo dos valores de limite de detecção

e quantificação do. Nas Tabelas 16 e 17 são apresentados os valores obtidos para avaliação da linearidade da curva analítica.

Tabela 16. Análise de variância de modelo linear - ANOVA.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática
Regressão	6818825096,43	1	6818825096,43
Resíduos	7053442,79	22	320611,04
Falta de Ajuste	2932230,70	6	488705,12
Erro Puro	4121212,09	16	257575,76
Total	6825878539,22	23	296777327,79
R ²	0,999		
R ² máximo	0,999		
F(regressão)	21268,217		
F (falta de ajuste)	1,897		
F (tabelado)	3,26		

Tabela 17. Linearidade, Limite de Detecção e Quantificação Instrumental

Analito	Faixa de Trabalho (ng L ⁻¹)	Equação da Reta	R ²	LOD (ng L ⁻¹)	LOQ (ng L ⁻¹)
Cafeína	50 - 10000	y = 28542,5x + 3390,1	0,999	11,8	32,7

O modelo de regressão linear simples se mostrou adequado, pois apresentou coeficiente de determinação acima de 0,999 para a faixa avaliada. Vale ressaltar que o valor está de acordo com os estabelecidos pelas normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (0,99) e do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (0,90) (Anvisa, 2017; Inmetro, 2011). A significância do modelo de regressão linear calculada a partir do teste F, mostra que a regressão linear simples é adequada, com um nível de 95% de confiança.

2.6.6.2 Parâmetros de Mérito Analítico do Método Completo

A precisão e exatidão do método foram avaliadas simultaneamente por meio de ensaios de recuperação analítica da cafeína. Os níveis de concentração utilizados nos ensaios de recuperação estão dentro da faixa em que se espera encontrar cafeína em amostras de água para consumo humano no Brasil (Canela et al., 2014).

A repetitividade e a precisão intermediária foram avaliadas através dos coeficientes de variação dos resultados obtidos para amostras preparadas em dias diferentes sob as mesmas condições de amostra, analista, instrumentação e laboratório. Nas Tabelas 18, 19 e 20 são apresentados os valores de recuperação e os coeficientes de variação para os três níveis avaliados em diferentes dias.

Tabela 18. Precisão (Repetitividade) e Exatidão (Recuperação): coeficientes de variação para os três níveis de concentração de cafeína, dia 1.

Nível de Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação Média por Nível (%)	Coeficiente de Variação (precisão instrumental n=3) (%)	Média por Níveis de Concentração (%)	Coeficiente de Variação (%)
0,005	92,1	2,9	92	4
0,005	94,0	1,1		
0,005	90,3	2,0		
0,020	93,0	0,7	94	2
0,020	93,9	1,4		
0,020	94,7	1,2		
0,050	89,4	0,3	89,2	0,7
0,050	91,4	0,3		
0,050	86,7	0,4		
Média Total			91,7	4,2

Tabela 19. Precisão (Repetitividade) e Exatidão (Recuperação): coeficientes de variação para os três níveis de concentração de cafeína, dia 2

Nível de Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação Média por Nível (%)	Coeficiente de Variação (precisão instrumental n=3) (%)	Média por Níveis de Concentração (%)	Coeficiente de Variação (%)
0,005	92,7	2,1	91,6	3,0
0,005	88,9	1,8		
0,005	93,2	1,2		
0,020	91,6	1,6	91,0	2,1
0,020	87,8	1,1		
0,020	93,7	0,8		
0,050	93,7	2,1	91,4	3,9
0,050	90,6	1,4		
0,050	89,1	3,0		
Média Total			91,3	5,4

Tabela 20. Precisão Intermediária para Cafeína

Precisão (Repetitividade)	Recuperação Média (%)	Coefficiente de Variação (%)
Dia 1	91,7	4,6
Dia 2	91,3	5,9
Média	91,5	6,8

Os resultados obtidos para os ensaios de recuperação mostram valores de recuperação entre 86 e 95% com um coeficiente de variação geral de 6,8%, evidenciando boas precisão e exatidão para o método completo. É possível notar que os percentuais de recuperação foram próximos entre os dias análise, sendo que valores de *CV* menores que 7% indicam pequenas dispersões dos resultados, evidenciando uma significativa precisão intermediária. Diante destes resultados, é possível afirmar que o método analítico pode ser empregado com segurança. Os resultados obtidos encontram-se próximos aos reportados em diferentes trabalhos (Araújo, 2014; Mumin et al., 2006), que obtiveram percentuais de recuperação entre 87% e 97%, empregando cartuchos SPE C₁₈ para extração de cafeína sem ajuste de pH.

Com os valores de recuperação para cafeína definidos, foi possível calcular o Limite de Detecção e Limite de Quantificação do método completo. Estes valores estão apresentados na Tabela 21.

Tabela 21. Limite de Detecção e Quantificação do Método Completo

Analito	LOD (ng L ⁻¹)	LOQ (ng L ⁻¹)
Cafeína	0,12	0,33

Os valores obtidos para os limites de detecção do método completo são cerca de 100 vezes inferiores aos limites de detecção e quantificação do instrumento, pois a amostra é reduzida de um volume de 100 mL para 1 mL. Os valores obtidos se mostram adequados para a utilização do método em matrizes reais, uma vez que se esperam concentrações 50 vezes mais elevadas. Esses valores de LOD e LOQ também são compatíveis com as concentrações de CAF encontradas em águas para consumo humano no Brasil (Machado et al., 2016; Sodré et al., 2017).

2.6.7 Análise de amostras de água para consumo humano do DF

Após a validação do método analítico foram investigadas amostras de água tratada coletadas no DF. A Figura 12 traz as concentrações de cafeína determinadas nas amostras. Foram coletadas no mesmo dia três amostras em cada ponto amostral, sendo que os valores são mostrados acompanhados de seus respectivos intervalos de confiança a 95%.

Os resultados obtidos apresentaram-se valores próximos aos já reportados por (Machado et al., 2016; Sodré et al., 2017) em águas para consumo humano no DF. Nestes trabalhos as concentrações de cafeína variaram na faixa de 2,0 a 38,0 ng L⁻¹. Desta forma é possível afirmar que o método desenvolvido se mostrou adequado para a quantificação de cafeína em amostras de água para consumo humano, podendo ser utilizado em atendimento às demandas do projeto de pesquisa financiado pela FUNASA.

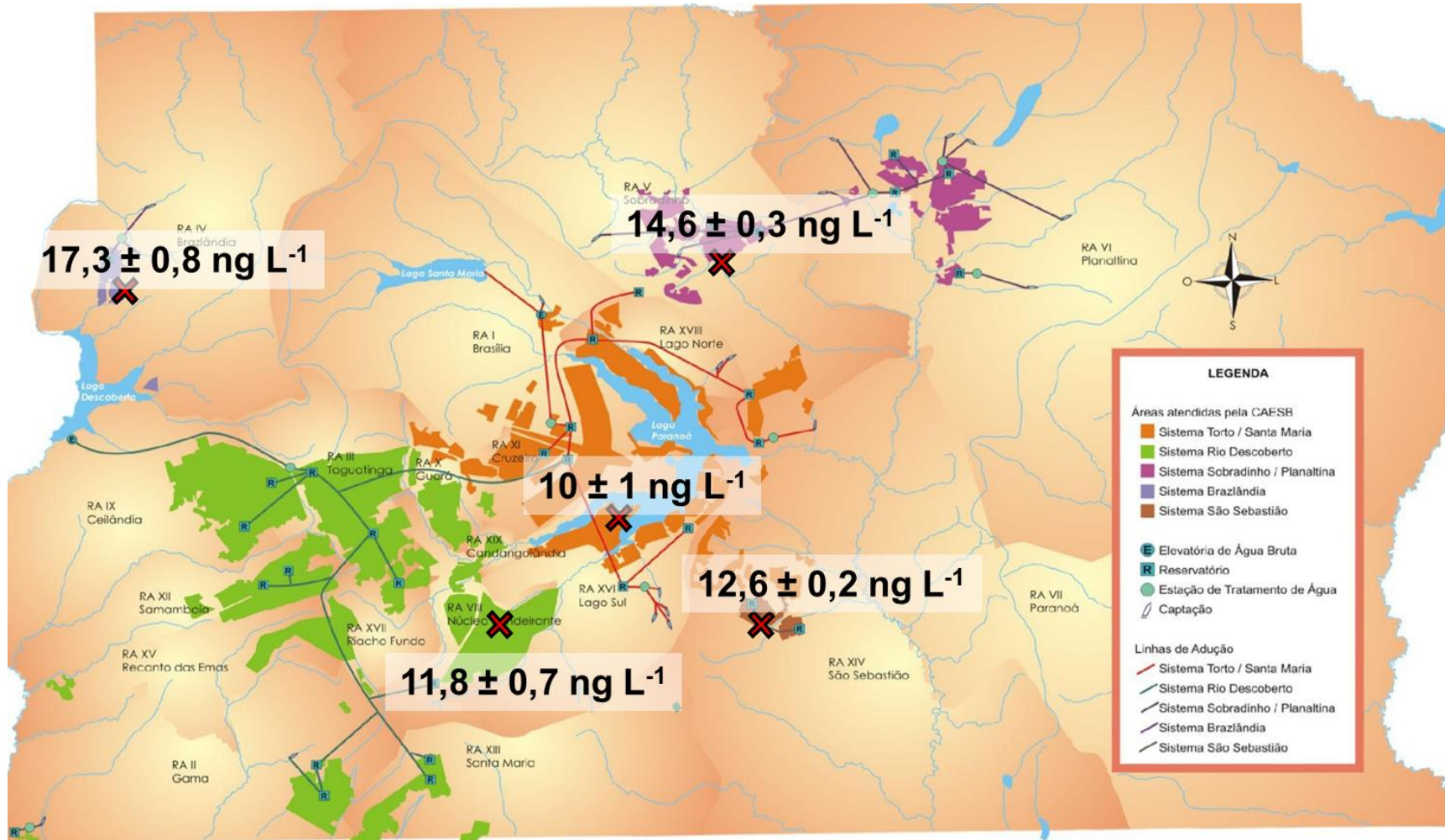


Figura 12. Sistemas de abastecimento de água no DF (adaptado de CAESB, 2011). Pontos amostrais marcados com X e respectivas concentrações determinadas para Cafeína (n=3).

2.7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Neste capítulo foi apresentado o desenvolvimento de método analítico para determinação de cafeína em amostras de água para consumo humano com vistas ao estabelecimento de ferramenta empírica para priorização de mananciais. Deste modo, ao receber amostras de diferentes cidades, preservadas em pH 2, à temperatura ambiente e em até três dias, é possível medir os níveis de cafeína com precisão e exatidão satisfatórias, ordenar amostras em termos das concentrações obtidas e, finalmente, priorizar locais (sistemas de captação/mananciais) a serem investigados de maneira mais detalhada.

A determinação da cafeína nas amostras foi realizada com espectrômetro de massas MS/MS (Q-TOF) após otimização de parâmetros instrumentais, desenvolvimento de métodos de cromatográficos e de extração em fase sólida. A validação do método analítico apresentou resultados satisfatórios, uma vez que observou-se exatidão elevada, com percentuais de recuperação entre 86% e 95%, e valores de CV abaixo de 7%, indicando elevada precisão dos dados gerados. Os limites de detecção e quantificação do método, de 0,12 e 0,33 ng L⁻¹ respectivamente, foram adequados, pois encontram-se abaixo das concentrações de cafeína esperadas na água para consumo humano.

A determinação de cafeína em amostras de água para consumo humano coletadas no DF ofereceu resultados compatíveis aos apresentados por outros autores, de modo que o método desenvolvido se mostrou adequado para ser utilizado em investigações subsequentes.

A principal perspectiva para a continuidade do trabalho envolve a obtenção e análise de amostras de água para consumo humano oriundas de diferentes regiões do Brasil. Conforme os resultados apresentados para preservação da amostra e extração dos analitos, é possível estabelecer uma rotina prática que envolve a preparação de kits individuais contendo dois frascos PET vazios de cor âmbar de 150 mL e bocal de 28mm, com tampas, dois frascos do tipo eppendorf contendo 1,0 mL de solução de HCl para ajuste de pH e formulário contendo o procedimento de coleta e campos a serem preenchidos para identificação das amostras (Figura 13).



Figura 13. Kit para coleta de amostras. a) caixa de isopor 3 litros; b) frasco eppendorf; c) frasco PET âmbar 150 mL com tampa.

Estes kits permitirão que as instituições colaboradoras possam realizar a coleta de amostras de água para consumo humano. Os kits deverão ser enviados via correio em caixas de isopor de 3 litros e dimensões 22,7x13,7x18,6 cm. Após a coleta, as amostras devem ser enviadas imediatamente para o laboratório AQQUA da UnB, onde a determinação e quantificação de cafeína deve ser realizada. O intervalo entre a coleta e o processo de extração em fase sólida não deve exceder o prazo de três dias, conforme fluxograma apresentado na Figura 14.

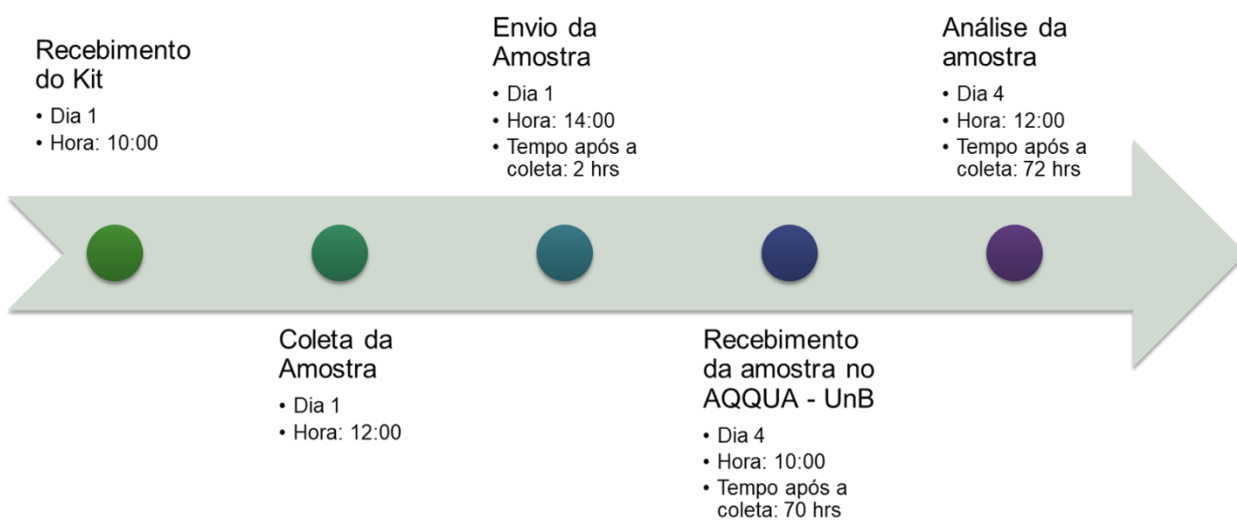


Figura 14. Fluxograma para recebimento, coleta, envio, e análise de amostras de água para consumo humano, considerando serviço SEDEX dos Correios.

CAPÍTULO 3

3 MICROPOLUENTES EMERGENTES NAS ÁGUAS PARA CONSUMO HUMANO DO DF

3.1 INTRODUÇÃO

Neste capítulo, conforme objetivos do Projeto de Pesquisa financiado pelo FUNASA, amostras de água para consumo humano seriam investigadas quanto a presença de fármacos. Os locais de coleta das amostras seriam priorizados em função dos resultados obtidos no capítulo anterior, voltado à seleção de mananciais impactados pelo aporte de resíduos de origem antrópica. Porém, devido aos vários episódios que dificultaram a dispensação de recursos por parte das fundações de fomento (FUNASA) e de execução financeira (UnB e FINATEC), não foi possível obter amostras para priorização de mananciais. Com efeito, também não foi possível selecionar as regiões a serem incluídas na segunda etapa do projeto, na qual amostras de água para consumo humano seriam investigadas empregando-se métodos multirresíduos. Desta forma, optou-se por desenvolver os métodos multirresíduos, aplicá-los em amostras de água para consumo humano coletadas no DF e disponibilizá-los para futuros estudos.

3.1.1 *Justificativa*

No Brasil, segundo levantamento feito por Montagner e colaboradores (2017), a avaliação de micropoluentes emergentes em águas para consumo humano foi relatada em apenas dezesseis trabalhos até 2017. Dentre estes, dez são provenientes do estado de São Paulo, 2 do Rio Grande do Sul, 1 do Paraná, 1 do Rio de Janeiro e 1 do Maranhão. Somente um estudo, conduzido por Machado e colaboradores (2016), se propôs a realizar uma avaliação nacional que culminou com a investigação de 100 amostras provenientes de 21 capitais estaduais e do Distrito Federal. Neste trabalho, os autores puderam detectar no DF somente duas substâncias: a cafeína, encontrada na faixa de 10 ng L⁻¹, e a atrazina, com concentrações abaixo de 5 ng L⁻¹.

Embora já existam informações preliminares sobre os níveis de micropoluentes emergentes em águas de abastecimento do Brasil, informações limitadas estão disponíveis com respeito a presença de fármacos de diferentes classes terapêuticas. Desta maneira se faz necessário uma avaliação mais profunda acerca da presença

destas substâncias nas águas para consumo humano do Brasil e, notadamente do DF, uma vez que os resultados obtidos na capital brasileira podem oferecer cenários distintos e únicos em relação as outras regiões do Brasil, já que os índices de coleta e tratamento de esgotos no DF são bastante elevados mas, concomitantemente, a região enfrenta uma situação crítica em termos de demanda e disponibilidade hídrica a ponto ter iniciado a captação de águas provenientes do Lago Paranoá, em setembro de 2017, para atender a demanda por água tratada.

Como muitos produtos farmacêuticos e seus metabólitos encontram seu caminho para o ambiente através do descarte de esgoto bruto e tratado, de origem doméstica e hospitalar, a maioria das informações disponíveis sobre ocorrência e destino de fármacos no ambiente estão relacionadas à presença de ETE e de águas superficiais receptoras. Diante deste cenário, pouco se sabe sobre sua presença em água para consumo humano. Isso também pode ser atribuído não apenas aos desempenhos limitados das tecnologias analíticas voltadas a detecção de uma gama diversificada substâncias químicas sob nível traço, mas também aos altos custos das técnicas analíticas capazes de realizar tais análises. A ausência de critérios e padrões de qualidade específicos para a grande maioria dos micropoluentes emergentes também é outro motivo para a escassez de informação.

Naturalmente, a ocorrência de produtos farmacêuticos na água para consumo humano, seus metabolitos e produtos de transformação dependerá da taxa de produção, da dosagem e da frequência de administração e uso, do metabolismo e da persistência ambiental, bem como da eficiência de remoção em ETE e ETA. Muitas substâncias frequentemente detectadas em amostras de águas superficiais e subterrâneas não são encontradas em amostras de água para consumo humano, indicando que, eventualmente, as ETA conseguem atingir um bom nível de tratamento reduzindo a concentração de algumas substâncias para níveis inferiores aos limites de detecção dos métodos utilizados. Também, há de se considerar, em um pior cenário, que ocorre a transformação das substâncias originais em substâncias secundárias que não são incluídas nas metodologias utilizadas.

Portanto, a determinação de produtos de transformação e metabólitos também é muito importante para entender o destino dos produtos farmacêuticos durante o tratamento, bem como os possíveis problemas de saúde humana associados à exposição crônica a essas substâncias através do consumo da água tratada.

3.1.2 *Produtos farmacêuticos e de higiene pessoal investigados neste trabalho*

A partir dos anos 2000 muitos trabalhos foram publicados acerca da presença de micropoluentes emergentes em águas, especialmente residuais e superficiais. Relatos sobre a presença na água para consumo humano ainda são menos frequentes o que dificulta uma seleção adequada dos princípios ativos, tendo-se como parâmetro aqueles mais frequentemente encontrados em outros estudos ao redor do mundo. Desta maneira, como forma de selecionar adequadamente o grupo de substâncias a serem investigadas, foram buscadas informações acerca de sua produção e uso no Brasil. Entretanto, após inúmeros contatos infrutíferos com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a estratégia para a seleção das substâncias a serem investigadas sofreu nova mudança.

Os micropoluentes emergentes selecionados neste trabalho foram selecionados em função de suas prevalências em estudos realizados ao redor do mundo, tanto na água para consumo humano, quanto nas demais amostras de águas encontradas em meios urbanos (superficiais e residuais). Outro aspecto importante para a escolha das substâncias foi a disponibilidade e o custo dos padrões analíticos no Brasil. Este aspecto foi notadamente importante, tendo-se em vista as dificuldades de disponibilização e dispensação dos recursos financeiros inerentes ao projeto de pesquisa. Na Tabela 22 são apresentadas as classes e substâncias avaliadas neste trabalho. Cabe mencionar também foram incluídos no estudo, além de fármacos, os produtos de higiene pessoal triclosan e DEET, além dos micropoluentes BPA e atrazina, frequentemente estudados em inúmeros trabalhos.

Tabela 22. Substâncias investigadas neste trabalho e suas classes

Substâncias	CAS	Substâncias	CAS
Analgésicos		Reguladores Lipídicos	
Acetaminofeno	103-90-2	Ácido clofíbrico (metabólito clofibrato)	882-09-7
Antidepressivo		Bezafibrato	41859-67-0
Amitriptilina	50-48-6	Gemfibrozil	25812-30-0
Bupropiona	31677-93-7	Hormônios	
Nortriptilina	72-69-5	Estrona	53-16-7
Venlafaxina	93413-69-5	Estriol	50-27-1
Antibióticos		β -estradiol	50-28-2
Amoxicilina	61336-70-7	17 α -etinilestradiol	57-63-6
Cefalexina	15686-71-2	Norgestrel	6533-00-2
Ciprofloxacina	85721-33-1	Antiinflamatórios não esteroidais	
Eritromicina	114-07-8	Ácido mefenâmico	61-68-7
Dapsona	80-08-0	Diclofenaco	15307-86-5
Sulfametoxazol	723-46-6	Ibuprofeno	15687-27-1
Herbicida		Naproxeno	22204-53-1
Atrazina	1912-24-9	Psicoestimulantes	
Anti-epiléptico		Cafeína	58-08-2
Carbamazepina	298-46-4	Paraxantina (metabólito da cafeína)	611-59-6
Plastificante		Teobromina (metabólito da cafeína)	83-67-0
Bisfenol A	80-05-7	1-metilxantina (metabólito da cafeína)	6136-37-4
Betabloqueadores		3-metilxantina (metabólito da cafeína)	1076-22-8
Atenolol	29122-68-7	7-metilxantina (metabólito da cafeína)	552-62-5
Diurético		Nicotina	54-11-5
Hidroclorotiazida	58-93-5	Cotinina (metabólito da nicotina)	486-656-6
		Trans-3-OH-cotinina (metabólito da nicotina)	34834-67-8
		Produtos de Higiene Pessoal	
		DEET (repelente de insetos)	134-62-3
		Triclosan (bactericida)	3380-34-5

3.1.3 Objetivos

Tendo em vista que as investigações sobre a presença de contaminantes emergentes podem fornecer informações adicionais sobre o uso seguro da água para consumo humano, neste capítulo o objetivo foi avaliar a presença e quantificar e micropoluentes emergentes na água para consumo humano no Distrito Federal. Neste sentido, os seguintes objetivos específicos foram selecionados.

- a) Desenvolvimento e validação de método analítico multicomponente para quantificação de fármacos na água para consumo humano.
- b) Aplicação das metodologias em amostras coletadas no Distrito Federal
- c) Investigação de riscos ambientais e para saúde humana em vista dos resultados obtidos.

3.2 PARTE EXPERIMENTAL

3.2.1 Instrumentação, Materiais, Reagentes e Padrões Analíticos

Todos os solventes e reagentes utilizados neste trabalho foram de pureza analítica ou superior. Acetona, acetonitrila, isopropanol e metanol, todos com grau HPLC, foram adquiridos da Tedia (USA). Padrões analíticos de acetaminofeno (ACT), nicotina (NIC), 7-metilxantina (7-MX), 3-metilxantina (3-MX), 1-metilxantina (1-MX), cotinina (COT), teobromina (TEO), paraxantina (PXT), DEET, trans-3 hidroxí-cotinina (OH-COT), cafeína (CAF), ibuprofeno (IBU), atrazina (ATZ), naproxeno (NPX), carbamazepina (CMZ), bupropiona (BUP), ácido mefenâmico (MEF), dapsona (DAP), gemfibrozil (GFB), sulfametoxazol (SMX), nortriptilina (NOR), atenolol (ATN), amitriptilina (AMT), venlafaxina (VEN), diclofenaco sódico (DFN), hidroclorotiazida (HCT), norgestrel (NGT), ciprofloxacina (CPX), cefalexina (CFX), bezafibrato (BZF), amoxicilina (AMX), eritromicina (ETM), ácido clofíbrico (CFB), bisfenol A (BPA), estrona (E1), 17 β -estradiol (E2), triclosan (TCS), 17 α -etinilestradiol (EE2) e estriol (E3) foram adquiridos de Sigma–Aldrich com purezas superiores a 98%. A água utilizada foi purificada pela estação Milli-Q da Millipore, modelo *Reference A+*. O ácido fórmico (50%) e o hidróxido de amônio (25%) foram adquirido da Sigma-Aldrich (EUA), na

Figura 15 são apresentadas as estruturas das moléculas selecionadas neste trabalho e na Tabela 23 são apresentadas algumas de suas propriedades físico-químicas.

Cartuchos extratores OASIS HLB, com 6 mL e 500 mg de fase extratora, foram adquiridos da Waters (EUA). As substâncias de interesse foram extraídas utilizando sistema de extração em fase sólida desenvolvido em laboratório, um *manifold* de 12 portas (Visipred DL, Supelco) e um evaporador paralelo Syncore® Analyst (Buchi) acoplado a bomba de vácuo de controlador.

A separação cromatográfica foi realizada em sistema de UHPLC Eksigent Ultra-LC 100 XL, constituído por dois módulos de bomba, amostrador automático e forno de coluna, empregando coluna de fase reversa modelo Eclipse Plus® C18, 2,1x50 mm, 1,8 µm da Agilent (USA) para substâncias ionizadas em modo positivo e coluna de fase reversa Eclipse Plus Externnd C18, 4.6x50mm, 2.1 µm da Agilent (USA) para substâncias ionizadas no modo negativo.

A detecção e a quantificação dos analitos de interesse foram realizadas no espectrômetro de massas TripleToF5600+ (Sciex, Toronto, CA), conectado a gerador de gás nitrogênio (Peak Genius 3031) e bomba de vácuo mecânica (Sogevac SV65 BI FC), com fonte de ionização Dual-Spray, atuando no modo de ionização por eletronebulização (ESI) (positivo e negativo) e acoplado ao sistema de cromatografia líquida. O espectrômetro de massas também é equipado com os programas de aquisição e tratamento de dados Analyst® versão 1.7.1, Peak View® versão 2.1 e Multiquant® versão 3.0.2.

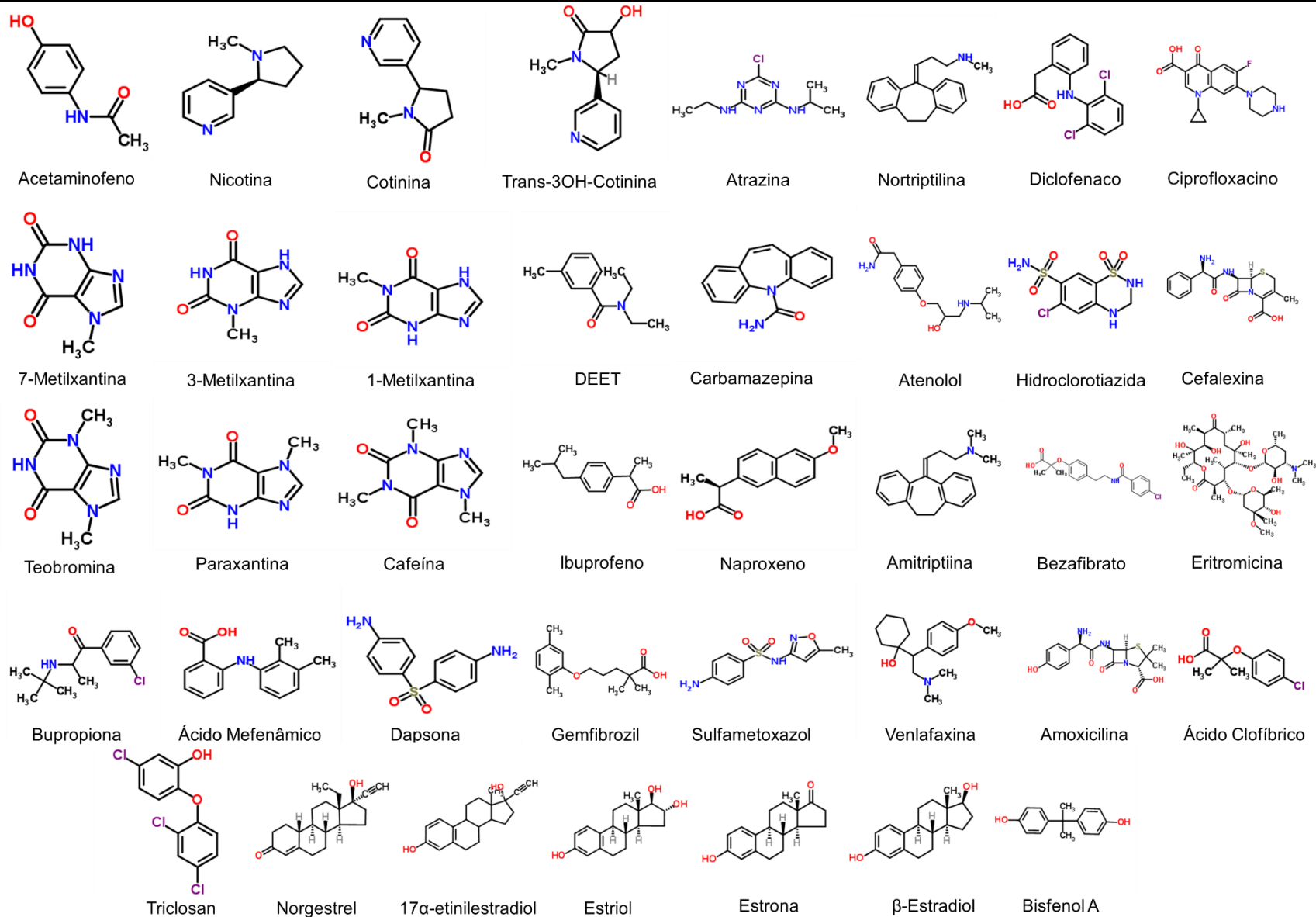


Figura 15. Estrutura molecular das substâncias avaliadas neste trabalho.

Tabela 23. Propriedades físico-químicas das substâncias investigadas neste trabalho. (*Drug Bank; Pubchem*)

Analito	Log K_{ow}	pKa	Solubilidade em H₂O (g 100mL⁻¹)
1-MX	-0,46	7,9	1,17
3-MX	-0,46	7,9	1,27
7-MX	-0,59	9,31	0,7
ACT	0,51	9,46	0,4
AMT	4,94	9,76	0,00045
AMX	0,75	3,23	0,01
ATN	0,16	9,6	0,043
ATZ	2,61	1,60	0,00347
BPA	3,32	9,6	0,03
BUP	3,6	7,9	0,007
BZF	3,97	3,83	0,00016
CAF	-0,07	14	1,1
CFB	3,99	3,18	0,0029
CFX	0,55	3,45	0,0297
CMZ	2,45	13,9	0,0152
COT	0,39	4,79	11,7
CPX	-0,57	5,76	0,135
DAP	0,97	2,41	0,028
DEET	2,02	-	0,0912
DFN	4,98	4,0	0,0004
E1	4,03	10,33	0,0004
E2	3,57	10,33	0,00213
E3	2,54	10,33	0,012
EE2	3,67	10,2	0,00113
ETM	2,37	12,44	0,046
GFB	3,61	4,42	0,00278
HCT	-0,16	9,09	0,24
IBU	3,5	4,85	0,0069
MEF	4,58	3,89	0,0014
NGT	3,25	17,91	0,00058
NIC	0,87	8,86	0,93
NOR	1,7	10,47	8,74 x 10 ⁻⁵
NPX	3,29	4,19	0,0052
OH-COT	-0,32	13,1	4,77
PXT	-0,63	10,76	0,91
SMX	0,79	6,16	0,0459
TCS	5,53	7,68	0,0006
TEO	-0,78	9,9	0,9
VEN	0,43	9,4	0,023

3.2.2 Limpeza de Vidrarias

A limpeza de todas as vidrarias e demais materiais foi realizada conforme descrito no capítulo 2, na seção 2.3.2.

3.2.3 Desenvolvimento Método Analítico

O desenvolvimento do método analítico seguiu as seguintes etapas, em ordem cronológica:

- 1 Escolha do íon precursor e dos íons produtos para quantificação e identificação dos analitos de interesse por espectrometria de massas;
- 2 Desenvolvimento do método cromatográfico;
- 3 Otimização dos parâmetros da fonte de ionização por eletronebulização;
- 4 Otimização do método de extração em fase sólida (SPE);
- 5 Validação parcial do método analítico;
- 6 Aplicação em amostras de água para consumo humano;

3.2.3.1 Escolha dos íons precursor e produto

A identificação dos íons precursores e produtos foi realizada conforme descrito no capítulo 2. Convém mencionar novamente que o espectrômetro de massas utilizado neste trabalho mimetiza o modo de aquisição MRM o que aumenta a resolução dos íons precursores e produtos. A Tabela 24 mostra os íons precursores selecionados para as substâncias determinadas em ambos os modos de ionização.

Para a identificação dos íons precursores e íons produtos foram preparadas soluções estoques individuais na concentração de 20 mg L⁻¹ dos padrões analíticos disponíveis. A partir das soluções estoque foram preparadas soluções de trabalho concentração 100 µg L⁻¹ de cada substância investigada.

No modo de ionização positivo a escolha dos íons produtos e a otimização dos parâmetros dependentes dos analitos foram realizadas utilizando injeção automática de 2 µL das soluções individuais de cada padrão (100 µg L⁻¹), por meio do cromatógrafo, sem utilização de coluna, em fluxo de 0,3 mL min⁻¹, utilizando uma mistura de água:metanol 85:15 (v/v) como fase móvel contendo 0,1% de ácido fórmico.

Tabela 24. Massas exatas e íons precursores avaliados

Analito	Massa exata (g mol ⁻¹)	Massa /Carga
ESI (+)		
1-MX	166,04908	167,0573
3-MX	166,04908	167,0573
7-MX	166,04908	167,0573
AMT	277,18305	278,1917
AMX	365,10455	398,1384
ATN	266,16306	267,1725
ATZ	215,09378	216,1027
BUP	239,10769	240,1156
BZF	361,10809	362,1155
CAF	194,08038	195,0886
CFX	347,09396	348,1032
CMZ	236,09496	237,1034
COT	176,09496	177,1022
CPX	331,13322	332,1418
DAP	248,06195	249,0698
DEET	191,13101	192,1394
DFN	295,01668	296,0243
ETM	733,46124	734,4699
MEF	241,11028	242,1182
NGT	312,20893	313,2185
NIC	162,11570	163,1235
NOR	263,16740	264,1751
OH-COT	192,08988	193,0978
PXT	180,06473	181,0734
SMX	253,05211	254,0609
TEO	180,06473	181,0747
VEN	277,20418	278,2107
ESI (-)		
ACT	151,06332	150,0656
BPA	228,11504	227,1106
CFB	214,03967	213,0591
E1	270,16199	269,1567
E2	272,17764	271,1577
E3	288,17254	287,1703
EE2	296,17764	295,1756

Analito	Massa exata (g mol ⁻¹)	Massa /Carga
GFB	250,15689	249,1519
HCT	296,96447	295,9533
IBU	206,13068	205,1272
NPX	230,09429	229,0917
TCS	287,95117	286,9402

Massa/carga [M+H]⁺ para ESI(+) e [M-H]⁻ para ESI(-)

No modo de ionização negativo a escolha dos íons produtos para cada íon precursor e a otimização dos parâmetros de detecção dependentes dos analitos foram realizadas utilizando a injeção automática de 8 µL das soluções individuais de cada padrão (100 µg L⁻¹), por meio do cromatógrafo sem utilização de coluna, no fluxo de 0,3 mL min⁻¹, utilizando como fase móvel uma mistura de água:acetonitrila (85:15), com 0,1% de hidróxido de amônio como modificador, no espectrômetro de massas.

Os parâmetros, *declustering potential* (DP) e *collision energy* (CE), referentes a detecção e dependente de cada analito avaliado foram otimizados para obter a máxima eficiência de transmissão de sinal no modo de operação mimetizado de MRM. Esta otimização foi feita conforme descrito no capítulo 2.

3.2.3.2 Método Cromatográfico

O método cromatográfico baseou-se nos parâmetros obtidos nos experimentos realizados no capítulo 2 deste trabalho. A partir desses parâmetros, foram realizados ajustes de modo a atender as demandas desta parte do trabalho.

A maioria das análises feitas por LC–MS/MS com ESI é realizada em fase reversa com fases estacionárias não polares de sílica ligadas a grupos C18 ou C8. Como fase móvel tem se utilizado a combinação de água e um solvente orgânico visando uma boa separação cromatográfica e sensibilidade da ESI. Os solventes orgânicos mais utilizados são metanol e acetonitrila. Embora uma clara conclusão sobre qual fornece melhor desempenho na análise não pode ser feita, o metanol tem sido preferido como modificador na maioria dos métodos por LC-MS/MS. O metanol oferece uma melhor eficiência na ionização do que a acetonitrila e dá melhor forma de pico para os substâncias básicas, que incluem a maioria dos compostos farmacologicamente ativos (Kostiainen and Kauppila, 2009).

Em geral, uma melhor eficiência na ESI é alcançada quando o analito já está ionizado em uma fase líquida usando fase móvel ácida para analitos básicos, como aminas, e condições básicas para analitos ácidos, como ácidos carboxílicos e fenóis (Kostiainen and Kauppila, 2009). Neste sentido, tem-se utilizado comumente ácido fórmico como modificador ácido e hidróxido de amônio como modificador básico.

Para realizar a separação cromatográfica foram preparadas soluções contendo todos os analitos de interesse na concentração de 10 µg L⁻¹, e então foi avaliada a separação cromatográfica dos analitos. Os ajustes no método cromatográfico foram feitos de forma univariada, onde foram testadas diferentes combinações de solventes e gradientes de eluição.

Para ambos os modos de ionização, metanol e acetonitrila foram testados como fase móvel orgânica. Testes preliminares (não mostrados) revelaram que o metanol com 0,1% de ácido fórmico foi mais adequado para os analitos determinados no modo positivo, enquanto que para o modo negativo o solvente mais adequado foi a acetonitrila com 0,1% de hidróxido de amônio.

Para a separação cromatográfica dos analitos ionizados em modo positivo foram utilizados os seguintes parâmetros:

- Fase estacionária: Coluna Zorbax Eclipse Plus - C18 (2,1x50 mm 1,8µm).
- Fase móvel A (FM A): água + 0,1% ácido fórmico
- Fase móvel B (FM B): Metanol + 0,1% ácido fórmico
- Vazão: 0,7 mL min⁻¹
- Volume de injeção: 2,0 µL
- Tempo de corrida: 13 min
- Detector: MS/MS(Q-TOF)
- Temperatura do forno de coluna: 35°C

O gradiente que se mostrou mais adequado para a separação cromatográfica está detalhado na Tabela 25.

Tabela 25. Gradiente de eluição utilizado na separação cromatográfica utilizada para analitos no modo de ionização positivo

Tempo (min)	Fluxo (mL min ⁻¹)	FM A (%)	FM B (%)
0.00	0,70	99	1
2.00	0,70	99	1
9,00	0,70	30	70
9,05	0,70	5	95
10.00	0,70	5	95
10.05	0,70	99	1
13.00	0,70	99	1

No modo negativo, optou-se utilizar uma coluna diferente pelo fato do modificador adicionado a fase móvel (NH₄OH) aumentar significativamente o pH para valores além do limite recomendados por muitos fabricantes de colunas. Desta maneira, optou-se por utilizar uma coluna cromatográfica com alta eficiência e com faixa de trabalho expandida, ou seja, entre pH entre 2 e 11.

Para a separação cromatográfica dos analitos ionizados em modo negativo foram utilizados os seguintes parâmetros:

- Fase estacionária: Coluna Zorbax Extend C18 (4.6x50 mm 1,8µm).
- Fase móvel A (FM A): água + 0,1% amônia
- Fase móvel B (FM B): Metanol + 0,1% amônia
- Vazão: 0,3 mL min⁻¹
- Volume de injeção: 8,0 µL
- Tempo de corrida: 15 min
- Detector: MS/MS(Q-TOF)
- Temperatura do forno de coluna: 35°C

O gradiente mais adequado para a separação cromatográfica dos analitos alvo em modo negativo está apresentado na Tabela 26.

Tabela 26. Gradiente de eluição utilizado na separação cromatográfica utilizada para analitos no modo de ionização negativo

Tempo (min)	Fluxo (mL min ⁻¹)	FM A (%)	FM B (%)
0.00	0,30	99	1
1.5	0,30	99	1
9,00	0,30	30	70
9,05	0,30	5	95
10.00	0,30	5	95
10.05	0,30	99	1
15.00	0,30	99	1

3.2.3.3 Otimização dos Parâmetros de Fonte

Os parâmetros dependentes da fonte de ionização, *Curtain Gas*, *Gas 1*, *Gas 2*, *Temperature* e *Ion Spray Voltage*, foram otimizados no capítulo 2. Portanto, nesta parte do trabalho, optou-se por realizar pequenos ajustes nos valores obtidos anteriormente de modo a permitir respostas adequadas para o número maior de analitos.

3.2.3.4 Otimização do Método de Extração em Fase Sólida (SPE);

Nesta segunda parte do trabalho optou-se por utilizar uma fase sólida balanceada contendo grupos hidrofílicos e lipofílicos, devido as características distintas das substâncias investigadas. A escolha do cartucho Oasis HLB com 6 mL e 500 mg de fase sólida (Waters) se deveu ao fato deste ser o mais frequentemente utilizado para determinação de micropoluentes emergentes (Ferrer and Thurman, 2013). Para todas as substâncias investigadas, a extração em fase sólida foi otimizada utilizando um planejamento fatorial com quatro fatores considerados essenciais em extrações por SPE: solvente de condicionamento, pH da amostra, solvente de eluição e lavagem do cartucho após percolação da amostra.

Devido ao elevado custo dos cartuchos utilizados nesta parte do trabalho, optou-se por realizar um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} com ponto central, totalizando 11 experimentos. Neste tipo de experimento são realizados 8 experimentos distintos e 3 experimentos iguais (Ponto Central), sendo os resultados obtidos analisados estatisticamente. No planejamento fatorial fracionado utiliza-se um subconjunto de um experimento fatorial completo, de forma que alguns dos efeitos principais e interações de 2 fatores são confundidos e não podem ser separados dos efeitos de outras interações de ordem superior. Normalmente, assume-se que os efeitos de ordem superior são insignificantes a fim de obter informações sobre os efeitos principais com menos ensaios (Teófilo et. al., 2006).

Para se avaliar o efeito solvente de condicionamento (Fator C1), foram utilizadas três combinações de volumes de solventes:

- 6 mL de acetonitrila e 6 mL de metanol (Nível Baixo, -1);

- 12 mL de metanol (Nível Alto, +1);
- 3 mL de acetonitrila e 9 mL de metanol (Ponto Central, 0);

Para se avaliar a influência do pH da amostra (Fator C2) foram considerados três valores de pH:

- pH 2 (Nível Baixo, -1).
- pH 10 (Nível Alto, +1).
- pH 6 (Ponto Central, 0).

Para se avaliar a influência do solvente do eluição (Fator C3) foram utilizadas combinações de volumes de três solventes:

- 3 mL metanol, 3 mL de acetonitrila e 3 mL de acetona (Nível Baixo, -1);
- 9 mL de metanol (Nível Alto, +1);
- 6 mL de metanol, 1,5 mL de acetonitrila e 1,5 mL de acetona (Ponto Central, 0).

Para avaliar a influência do processo de lavagem do cartucho após a percolação da amostra (Fator C4) foram utilizadas três combinações:

- Sem clean-up do cartucho (Nível Baixo, -1);
- 5% de metanol em H₂O ultrapura (Nível Alto, +1);
- 2,5% de metanol em H₂O ultrapura (Ponto Central, 0).

Na Tabela 27 é apresentada a matriz de construção dos experimentos e na Tabela 28 são apresentadas as condições utilizadas para cada fator nos 11 experimentos construídos a partir da matriz inicial.

Tabela 27. Matriz utilizada para construção do planejamento fatorial para otimização da processo de extração

Experimento	Fator C₁	Fator C₂	Fator C₃	Fator C₄
1	-1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1	1
3	-1	1	-1	1
4	1	1	-1	-1
5	-1	-1	1	1
6	1	-1	1	-1
7	-1	1	1	-1
8	1	1	1	1
pc1	0	0	0	0
pc2	0	0	0	0
pc3	0	0	0	0

Tabela 28. Planejamento fatorial para otimização do processo de extração

	Solvente de condicionamento	pH amostra	Solvente de eluição	Clean-up do cartucho
1	6mL ACN + 6 mL MeOH	2	3 mL MeOH + 3 mL ACN + 3mL Acetona	sem clean up
2	12 mL MeOH	2	3 mL MeOH + 3 mL ACN + 3mL Acetona	5% MeOH em Agua (3mL)
3	6mL ACN + 6 mL MeOH	10	3 mL MeOH + 3 mL ACN + 3mL Acetona	5% MeOH em Agua (3mL)
4	12 mL MeOH	10	3 mL MeOH + 3 mL ACN + 3mL Acetona	sem clean up
5	6mL ACN + 6 mL MeOH	2	9 mL MeOH	5% MeOH em Agua (3mL)
6	12 mL MeOH	2	9 mL MeOH	sem clean up
7	6mL ACN + 6 mL MeOH	10	9 mL MeOH	sem clean up
8	12 mL MeOH	10	9 mL MeOH	5% MeOH em Agua (3mL)
9	3mL ACN + 9mL MeOH	6	6mL MeOH + 1.5mL ACN + 1.5mL Acetona	2.5% MeOH em agual (3mL)
10	3mL ACN + 9mL MeOH	6	6mL MeOH + 1.5mL ACN + 1.5mL Acetona	2.5% MeOH em agual (3mL)
11	3mL ACN + 9mL MeOH	6	6mL MeOH + 1.5mL ACN + 1.5mL Acetona	2.5% MeOH em agual (3mL)

Para cada experimento foram coletados 2 L de amostra de água para consumo humano que foram posteriormente separados em duas alíquotas de 1 L. Em uma das alíquotas foi adicionado volume adequado de uma solução estoque contendo todos os analitos de interesse para obter uma solução enriquecida com concentração de 20 ng L⁻¹ de cada analito. A outra alíquota foi submetida ao processo de extração sem a adição dos padrões.

Desta forma, as recuperações para cada experimento foram calculadas subtraindo-se os valores obtidos das concentrações de cada analito nas duas soluções e dividindo pela concentração nominal adicionada a uma delas, conforme a equação a seguir:

$$\text{Recuperação (\%)}: \frac{[]_{\text{analito amostra enriquecida}} - []_{\text{analito amostra}}}{[]_{\text{adicionada do analito}}} \times 100\% \quad (8)$$

O ajuste do pH (2, 6 e 10) das amostras foi feito utilizando soluções de HCl diluído a 0,1 mol L⁻¹ e uma solução de NaOH concentração 0,1 mol L⁻¹. Logo após ao ajuste de pH as amostras eram submetidas ao processo de extração.

Os analitos de interesse foram extraídos em sistema de extração em fase sólida, desenvolvido por Sodré e colaboradores (2010a), apresentado na Figura 16. A vazão da passagem da amostra foi controlado manualmente com o auxílio de uma bomba peristáltica de forma que a extração ocorresse de forma lenta (10 mL min⁻¹).



Figura 16. Fotografia do sistema de extração *labmade* aplicado neste trabalho.

Antes da passagem da amostra pelos cartuchos, estes foram condicionados conforme as condições de cada experimento apresentadas na Tabela 28. Em seguida, a amostra foi então percolada. Nesta etapa tomou-se o cuidado de manter um fluxo contínuo dos solventes e da amostra de forma que o cartucho não secasse. Após a passagem da amostra, os cartuchos foram centrifugados a 5000 rpm por 5 minutos para eliminar qualquer líquido residual.

Um *manifold* de 12 portas (Visiprep DL, Supelco), foi utilizado para a eluição dos analitos dos cartuchos. A eluição foi feita conforme as condições apresentadas na Tabela 28. Posteriormente, o extrato resultante foi reduzido ao volume de 1,0 mL ou

inferior utilizando o evaporador paralelo Syncore® Analyst acoplado a bomba de vácuo com controle automático e circulador de água com controle de temperatura (5°C). O tubo utilizado possui um volume residual pré-definido, de 1 mL, o extrato resultante após a evaporação é coletado em um apêndice refrigerado por água no fundo do tubo de amostra. Em caso nos quais o volume final foi inferior a 1 mL, o extrato resultante foi avolumado para 1,0 mL no próprio tubo com água ultrapura. Para a redução de volume utilizando o equipamento Syncore® Analyst foi utilizado o mesmo gradiente de vácuo apresentado no capítulo 2 na Tabela 8.

3.2.3.5 Quantificação dos Analitos por Adição de Padrão

Como forma de suprimir o efeito de matriz, a determinação dos analitos foi realizada por adição de padrão. Neste método, quantidades conhecidas do analito são adicionadas a alíquotas distintas da amostra ou do extrato final. Deste modo, após a redução do volume dos extratos para 1,0 mL, o mesmo foi separado em cinco alíquotas de 200 µL com auxílio de uma seringa *gastight*. Em seguida, nestas alíquotas foram adicionados volumes conhecidos de uma solução estoque contendo todos os analitos de interesse a fim de obter extratos enriquecidos com concentrações de 0; 1,0; 10; 20 e 50 µg L⁻¹. Posteriormente a concentração da amostra foi calculada utilizando o método de adição de padrão (AP) conforme a equação 9:

$$\frac{\text{Concentração do analito na solução inicial}}{\text{Concentração do analito com AP}} = \frac{\text{senal da amostra}}{\text{senal da amostra com AP}} \quad (9)$$

Considerando que uma adição padrão em que uma amostra com concentração inicial desconhecida de analito $[X]_i$ dá uma intensidade de sinal I_x . Então, uma concentração conhecida do padrão, S, é adicionada a uma alíquota da amostra e um sinal I_{x+s} é observado para esta segunda solução. A adição de padrão a amostra cuja concentração é desconhecida altera a concentração do analito original devido à diluição, assim a concentração diluída de analito é representada por $[X]_f$, onde "f" significa "final" após a diluição. A concentração de padrão adicionada na solução final é então $[S]_f$, (Harris and Lucy, 2015)

A partir desse princípio chegamos na equação:

$$\frac{[X]_i}{[S]_f + [X]_f} = \frac{I_x}{I_{x+s}} \quad (10)$$

Sabendo-se que a concentração de $[X]_f$, nada mais é do que o fator de diluição devido ao volume adicionado da solução do padrão e que $[S]_f$ corresponde ao volume adicionado da solução padrão com concentração, temos então as seguintes equações:

$$[X]_f = [X]_i \frac{V_o}{V} \quad (11)$$

$$[S]_f = [S]_i \frac{V_s}{V} \quad (12)$$

onde V_o é o volume inicial da amostra, V_s é o volume adicionado do padrão com concentração inicial $[S]_i$ e V é o volume final da solução após a adição de padrão. Rearrajando os termos e substituindo na equação (10), obtêm-se a equação 13 (Harris and Lucy, 2015):

$$\underbrace{I_{S+X} \left(\frac{V}{V_o} \right)}_{\text{Eixo Y}} = I_X + \frac{I_X}{[X]_i} \underbrace{[S]_i \left(\frac{V_s}{V_o} \right)}_{\text{Eixo X}} \quad (13)$$

O gráfico típico construído a partir da equação 13 é apresentado na Figura 17.

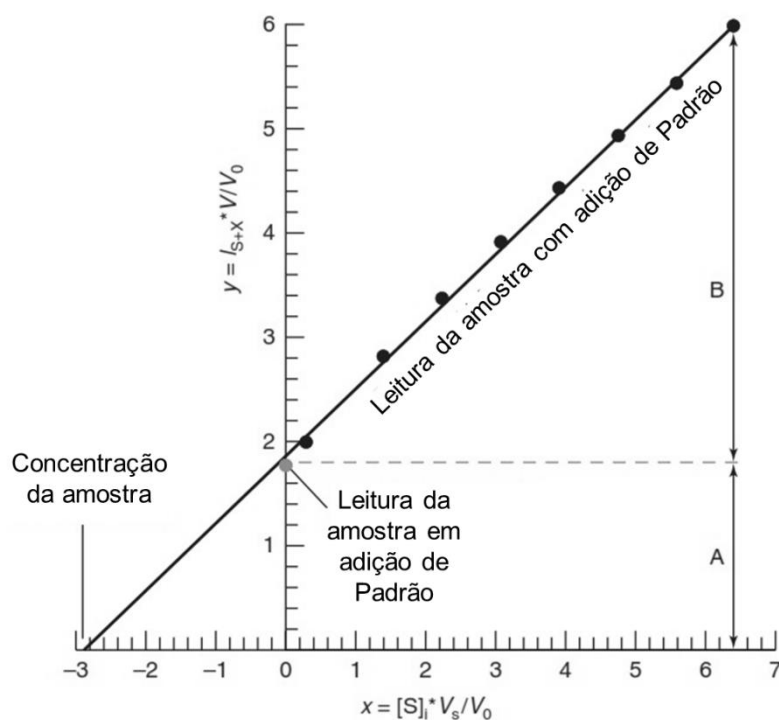


Figura 17. Expressão gráfica de uma curva analítica por adição de padrão. (Adaptado de Harris and Lucy, 2015)

Com a equação 13 e utilizando o gráfico apresentado na Figura 17 é possível calcular a concentração inicial do analito na amostra. Essa concentração corresponde ao intercepto no eixo x, que é calculado como sendo o módulo da seguinte equação:

$$[X]_i = \frac{-b}{m} \quad (14)$$

onde b , é o coeficiente linear da curva e m é o coeficiente angular da reta obtida. A incerteza (u_x) da medida pode ser calculada através da seguinte equação:

$$u_x = \frac{s_y}{|m|} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{y}^2}{m^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad (15)$$

onde m é o coeficiente angular, s_y é o desvio padrão de y , n é o número de medidas, x_i é o valor individual para cada ponto da curva, \bar{x} é o valor médio de x e \bar{y} é o valor médio dos valores de y .

Para cada extrato e cada analito investigado são construídos gráficos idênticos ao apresentado na Figura 17. A partir dos parâmetros da regressão foram então calculadas a concentração e a incerteza utilizando as equações 14 e 15.

3.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

A validação do método analítico envolveu os mesmos procedimentos descritos no capítulo 2 deste trabalho.

3.3.1 Curva analítica e linearidade

As soluções multicomponentes foram preparadas por diluição das soluções estoque dos respectivos analitos de interesse, em concentrações de 0, 1, 10, 20 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$, diretamente no extrato da amostra. Como a quantificação das amostras foi realizada utilizando o método de adição de padrão, para cada amostra se obteve uma equação da reta.

3.3.2 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O limite de detecção (LOD) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada como um valor exato. E pode ser calculado pela seguinte equação (Ribani et al., 2004):

$$LOD = 3,3 \times \frac{s}{b} \quad (16)$$

onde, b é o coeficiente angular da reta, e s o desvio padrão residual da linha de regressão.

O limite de quantificação (LOQ) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e com fidelidade determinada. E pode ser calculado pela seguinte equação (Ribani et al., 2004):

$$LOQ = 10 \times \frac{s}{b} \quad (17)$$

onde, b é o coeficiente angular da reta, e s é o desvio padrão residual da linha de regressão.

No método por adição de padrão, para cada amostra é construída uma curva de calibração. Os valores de LOD e LOQ são calculados a partir destas curvas, e portanto, para cada amostra se obteve um valor de LOD e LOQ diferentes.

3.3.3 Seletividade

A seletividade do método foi realizada conforme descrito no capítulo 2.

3.3.4 Ensaios de Recuperação

Os ensaios de recuperação foram realizados após a otimização do método de extração. A otimização foi realizada por meio do planejamento fatorial apresentado na seção 3.2.3.4 deste capítulo.

Uma solução estoque contendo todos os analitos de interesse na concentração de 1000 ng L⁻¹ foi preparada, partindo-se da diluição da solução estoque (20 mg L⁻¹). Em seguida, foi coletada uma amostra de água para consumo humano em torneira ligada à rede de abastecimento público localizada no 1º Batalhão de Trânsito da Polícia Militar, próximo à Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB) e ao Estádio Mané Garrincha. Porções de 1 L desta amostra, em triplicata, foram enriquecidas com 10 ng L⁻¹ das substâncias investigadas a partir da solução estoque. As amostras foram submetidas à extração em fase sólida, previamente otimizada, e analisadas. O cálculo da recuperação foi realizado conforme a equação 8.

3.3.5 Precisão e Exatidão

A precisão e exatidão foram avaliadas conforme descrito no capítulo 2 deste trabalho. Com a exceção de que somente um nível de concentração, 10 ng L⁻¹, foi avaliado.

3.4 DETERMINAÇÃO DE MICROPOLUENTES EMERGENTES NA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO DO DF

3.4.1 Procedimento de Coleta e Manuseio das amostras

O procedimento de coleta das amostras envolveu os seguintes materiais: garrafa de vidro âmbar com tampa rosqueável de 4 L e luvas de procedimento nitrílicas. Foi realizado conforme apresentado no capítulo 2, seção 2.5.1.

3.4.2 Pontos de Amostragem

Inicialmente, foram selecionadas diferentes estações de tratamento de água da CAESB de modo que fosse possível obter amostras de água para consumo humano recém produzidas nas respectivas ETA. Porém, após fornecer os materiais e os protocolos necessários a amostragem, não houve por parte da CAESB celeridade em providenciar a coleta e a liberação das amostras. Desta maneira, optou-se por realizar amostragens independentes de forma a não comprometer o cronograma proposto. Apenas poucas amostras foram, de fato, obtidas por intermédio da CAESB enquanto que a maioria foi coletada em pontos ligados à rede de abastecimento público.

Com exceção das amostras obtidas na ETA Lago Norte, que se encontra operacional desde meados de 2017 em caráter emergencial captando águas do Lago Paranoá, os demais pontos de coleta foram definidos pela sua proximidade com outras ETA ou reservatórios de armazenamento e distribuição de água gerenciadas pela CAESB. Assim, foram selecionados seis pontos amostrais que consistiram de torneiras públicas localizadas em diferentes regiões administrativas que representam diferentes sistema de produção de água, além de o ponto amostral localizado na ETA

emergencial do Lago Norte. Foram realizadas duas campanhas de coleta, a primeira em setembro de 2017 e a segunda em janeiro de 2018.

Na Figura 18 são apresentadas as regiões de coleta das amostras no DF, enquanto que na Tabela 29 são apresentadas algumas características dos pontos amostrais.

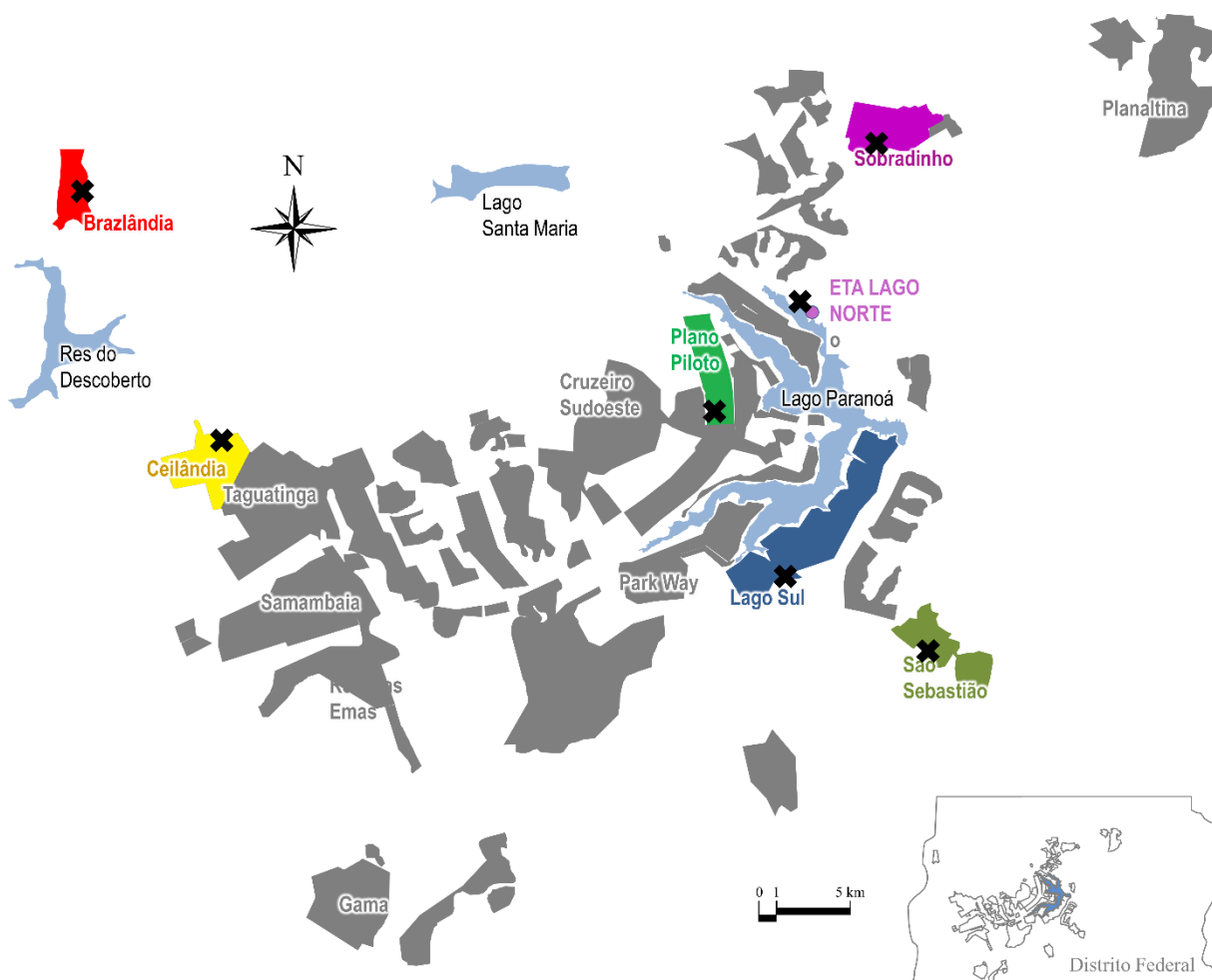


Figura 18. Regiões onde foram coletadas amostras de água para consumo humano. Pontos amostrais marcados com X.

Tabela 29. Pontos amostrais e sistemas produtivos representados.

Região do DF	Local de Coleta	ETA mais Próxima	Manancial utilizado
Brasília (Asa Norte)	1º Batalhão de Trânsito da Polícia Militar	ETA BSB	Torto/Santa Maria
Brazlândia	Posto de Saúde Nº 1	ETA Brazlândia	Capão da Onça e Barroco
Jardim Botânico	Escola Classe Jardim Botânico	ETA Lago Sul	Cabeça de Veado
Sobradinho	13º Batalhão Polícia Militar	ETA Sobradinho	Contagem e Paranoazinho
São Sebastião	21º Batalhão Polícia Militar	UTS-São Sebastião	Poços
Ceilândia	Terminal Rodoviário M Norte	ETA Descoberto	Rio Descoberto
ETA Lago Norte	ETA Lago Norte	ETA Lago Norte	Lago Paranoá

Com exceção das amostras da ETA-Lago Norte, os pontos amostrais foram estabelecidos em regiões de livre acesso, em torneiras públicas, localizadas em prédios públicos. Ressalta-se que as amostras provenientes destes pontos não estiveram em contato com caixas d'água ou com nenhum outro tipo de reservatório de água, garantindo que a amostra tivesse procedência direta com a rede de abastecimento. Após a coleta, as amostras foram submetidas à extração e análise empregando-se os métodos analíticos previamente desenvolvidos e validados.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 Escolha do íon precursor e íons produtos para quantificação e identificação dos analitos alvo

Os parâmetros DP e CE foram otimizados de forma univariada utilizando o software Analyst 1.7, que permite a construção de rampas com diferentes valores para ambos os parâmetros e facilita a identificação dos valores ótimos para cada analito. Na Tabela 30 são mostrados os parâmetros analito-dependentes ótimos de cada analito (DP e CE) além das respectivas reações precursor→produto utilizadas para quantificação e confirmação.

Tabela 30. Valores ótimos dos parâmetros DP e CE para cada analito e respectivos íons produtos utilizados para quantificação e identificação

Analito	Massa [M+H] ⁺	DP (V)	CE (V)	Transição (m/z)*	Abundância Relativa (%)
ESI (+)					
1-MX	167,0573	80	24	167,1→110,0387 167,1→82,0416	100 5
3-MX	167,0573	90	24	167,1→124,0515 167,1→96,0569	100 5
7-MX	167,0573	90	24	167,1→124,0515 167,1→96,0569	100 5
AMT	278,1917	20	30	278,2→233,1330 278,2→191,0858	100 48
AMX	398,1384	80	12	398,1→349,0863 398,1→160,0432	100 35
ATN	267,1725	20	30	267,2→145,0655 267,2→190,0871	100 14
ATZ	216,1027	20	30	216,1→174,0552 216,1→132,0332	100 5
BUP	240,1156	20	17	240,1→184,0528 240,1→166,0422	100 14
BZF	362,1155	100	20	362,1→316,1104 362,1→276,0787	100 42
CAF	195,0886	20	25	195,1→138,0664 195,1→110,0718	100 5
CFX	348,1032	90	21	348,1→158,0276 348,1→174,0550	100 57
CMZ	237,1034	20	25	237,1→194,0973 237,1→192,0817	100 40
COT	177,1022	80	35	177,1→80,0508 177,1→98,0608	100 8
CPX	332,1418	80	27	332,1→314,1307 332,1→288,1511	100 41
DAP	249,0698	10	20	249,1→156,0117 249,1→108,0452	100 29
DEET	192,1394	20	30	192,1→119,0498 192,1→91,0555	100 3
DFN	296,0243	80	25	296,0→215,0550 296,0→214,0418	100 33
ETM	734,4701	40	27	734,1→576,3757 734,1→558,3645	100 18
MEF	242,1182	80	20	242,1→224,1071 242,1→209,0838	100 14
NGT	313,2185	120	23	313,2→245,1912 313,2→295,2072	100 24
NIC	163,1235	80	25	163,1→130,0658	100 63

Analito	Massa [M+H] ⁺	DP (V)	CE (V)	Transição (m/z)*	Abundância Relativa (%)
				163,1→132,0814	
NOR	264,1751	20	25	264,2→233,1330 264,2→191,0858	100 32
OH-COT	193,0978	80	25	193,1→80,0515 193,1→106,0659	100 13
PXT	181,0734	15	27	181,1→124,0511 181,1→84,9610	100 2
SMX	254,0609	96	21	254,1→156,0122 254,1→188,0826	100 6
TEO	181,0747	10	25	181,1→138,0664 181,1→110,0730	100 5
VEN	278,2107	20	20	278,2→260,2015 278,2→215,1431	100 45
Analito	Massa [M-H] ⁻	DP (V)	CE (V)	Transição (m/z) ¹	Abundância Relativa (%) ²
ESI (-)					
ACT	150,0674	-110	-10	150,1→107,0499 150,1→108,0573	100 13
BPA	227,1078	-120	-30	227,1→211,0763 227,1→133,0661	100 6
CFB	213,0591	-70	-18	213,1→127,0280 213,1→85,0622	100 3
E1	269,1539	-140	-50	269,2→145,0660 269,2→143,0860	100 20
E2	271,1577	-150	-60	271,2→183,0830 271,2→145,0498	100 71
E3	287,1657	-110	-45	287,2→171,0897 287,2→145,0744	100 70
EE2	295,1701	-175	-55	295,2→145,0660 295,2→143,0500	100 43
GFB	249,1497	-80	-20	249,2→121,0781 249,2→127,0883	100 2
HCT	295,9532	-150	-25	295,9→268,9455 295,9→204,9895	100 45
IBU	205,1272	-40	-10	205,1→159,1258 205,1→161,1412	100 25
NPX	229,0917	-40	-40	229,1→169,0746 229,1→122,9794	100 7
TCS	286,9436	-120	-10	286,9→286,9436 286,9→241,2167	100 3

¹ A primeira transição corresponde ao íon produto utilizado para quantificação, enquanto que a segunda transição corresponde ao íon produto utilizado para confirmação.

² Calculada no modo "Enhanced Ion" para a primeira transição.

3.5.2 Método Cromatográfico

Definido os parâmetros de aquisição no espectrômetro de massas, foi possível efetuar a separação cromatográfica. Nas Figuras 19 e 20, são apresentados os cromatogramas para cada transição de quantificação avaliada. Ressalta-se que o equipamento, por possuir alta resolução e por permitir a aquisição em modo MRM, oferece respostas distintas mesmo para substâncias que apresentam íons produtos com razão massa/carga semelhantes. Neste caso, são diferenciados devido à especificidade da transição precursor→produto. O mesmo raciocínio pode ser aplicado para íons precursores com razão massa/carga semelhantes, uma vez que a transição precursor/produto é específica para cada analito, desta maneira a especificidade e a seletividade do método são garantidas.

O tempo de duração total do método cromatográfico foi de 13 minutos, para as substâncias determinadas em modo de ionização positivo e 16 minutos para as substâncias determinadas em modo negativo. Estes tempos incluem o período necessário para a eluição de todos os analitos, para o condicionamento da coluna cromatográfica e para levar a fase móvel às condições iniciais para cada corrida cromatográfica.

Para ambos os métodos cromatográficos a separação foi considerada satisfatória, porém seu sucesso foi notadamente influenciado pelo modo de aquisição dos dados no sistema de espectrometria de massas, conforme observado no caso de diversos analitos que apresentaram tempo de retenção praticamente iguais, conforme observado nas Figuras 19 e 20.

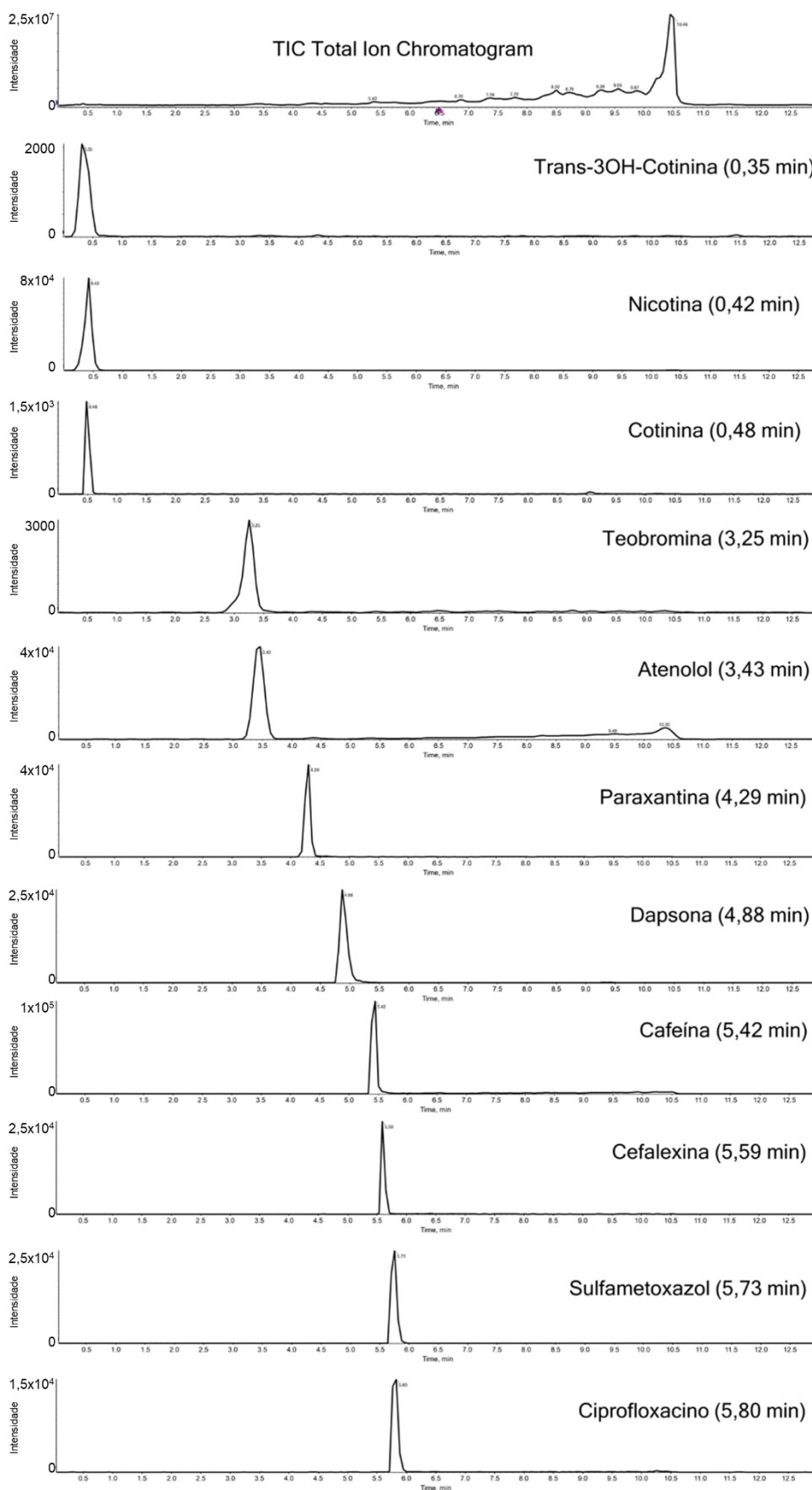


Figura 19. Cromatogramas individuais de analitos investigados no modo positivo.

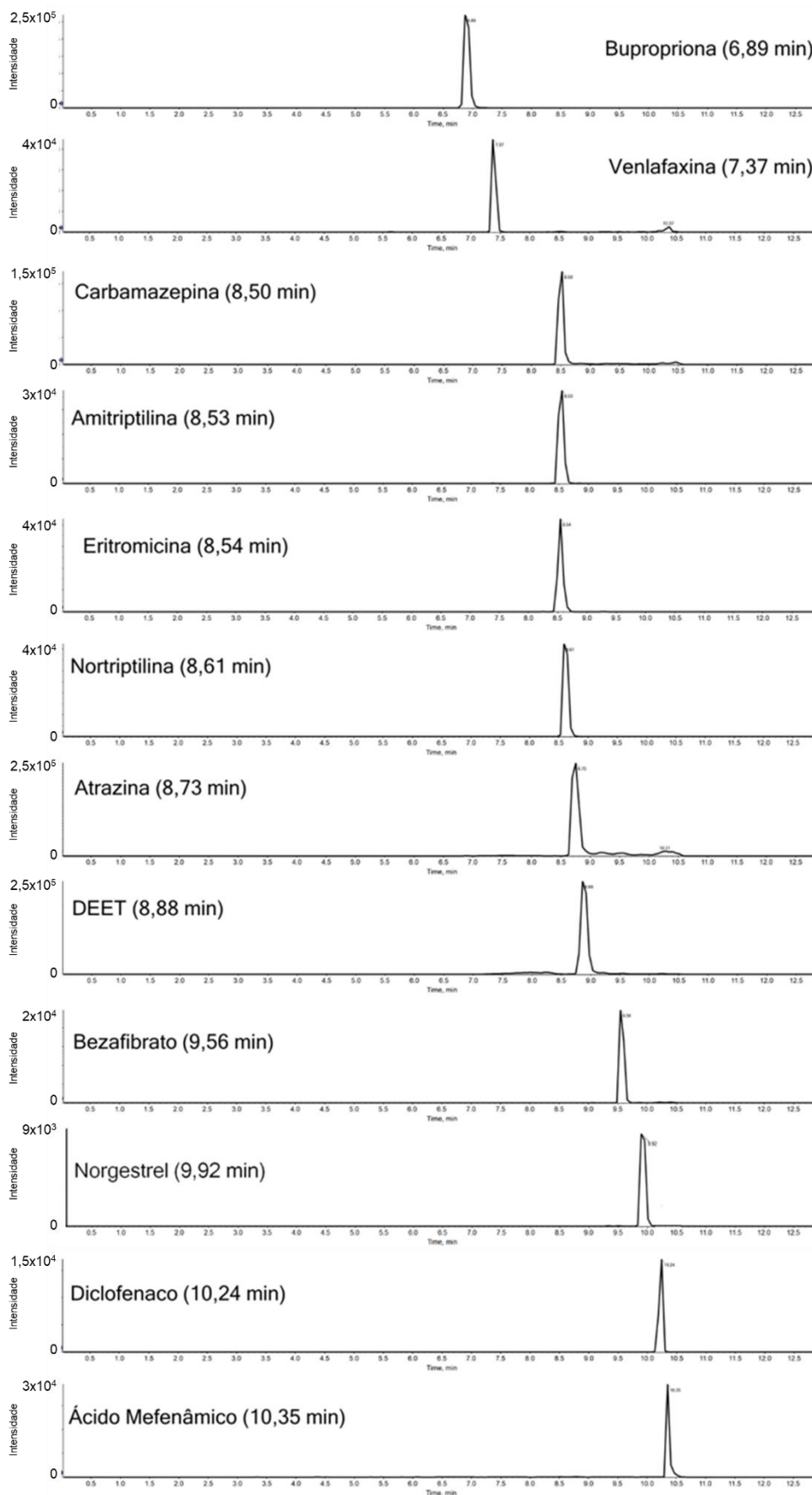


Figura 19. Cromatogramas individuais de analitos investigados no modo positivo (cont.)

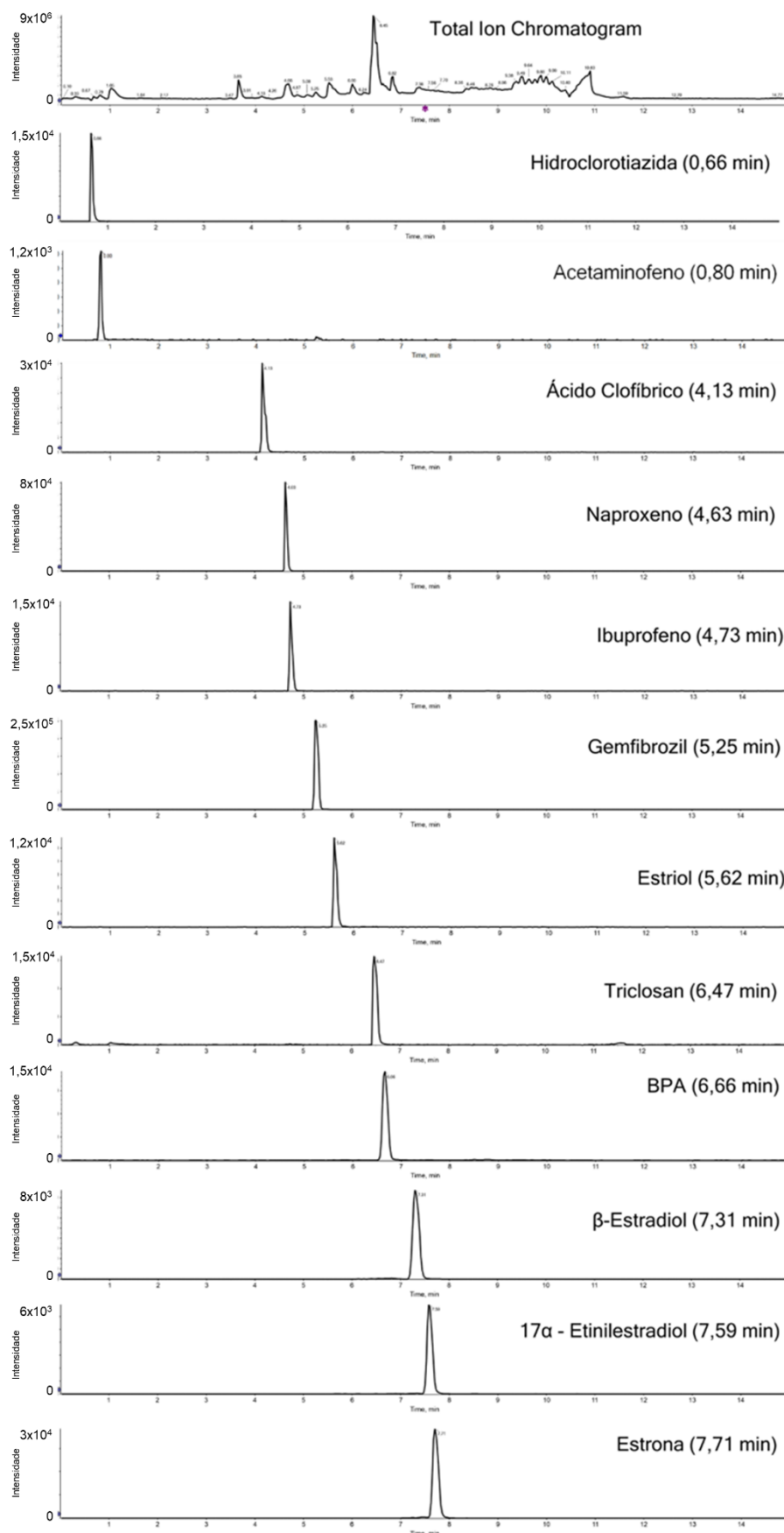


Figura 20. Cromatogramas individuais de analitos investigados no modo negativo

3.5.3 Otimização dos Parâmetros de Fonte de Ionização

Os resultados obtidos no planejamento fatorial realizado no Capítulo 2 para otimização dos parâmetros de fonte de ionização, serviram como base para a definição dos parâmetros utilizados nessa fase do trabalho, desta maneira alguns ajustes foram feitos de forma a obter os melhores resultados em relação ao sinal dos analitos.

Os valores ótimos obtidos para *Curtain Gas*, *Gas 1*, *Gas 2*, *Temperature* e *Ion Spray Voltage* em cada modo de ionização são apresentados nas Tabelas 31 e 32.

Tabela 31. Valores otimizados para os parâmetros de fonte de ionização no modo positivo

Parâmetro	CUR (psi)	GS1 (psi)	GS2 (psi)	IS (V)	TEM (°C)
Valor	50	60	60	5500	650

Tabela 32. Valores otimizados para os parâmetros de fonte de ionização no modo negativo

Parâmetro	CUR (psi)	GS1 (psi)	GS2 (psi)	IS (V)	TEM (°C)
Valor	50	60	60	4500	650

3.5.4 Otimização do método de extração em fase sólida

O cartucho Oasis HLB apresenta a capacidade de reter compostos lipofílicos e hidrofílicos simultaneamente. É constituído de um polímero lipofílico, de divinilbenzeno, e um polímero hidrofílico, de n-vinilpirrolidina. O monômero lipofílico promove um mecanismo tipo fase reversa para a retenção dos analitos por meio de interações hidrofóbicas, enquanto que o polímero hidrofílico trás propriedades umectantes a fase extratora proporcionando a retenção de compostos polares por interações fortes como as ligações de hidrogênio.

Os resultados obtidos para as recuperações de todos os analitos estão mostrados no Anexo I. Como forma de explicar os resultados obtidos, optou-se por apresentar e discutir nesta seção apenas um resultado típico obtido, neste caso, para o fármaco naproxeno (NPX). Convém mencionar que a mesma sistemática empregada para selecionar as condições ideais para a extração do NPX, foi também empregada para a seleção das condições mais adequadas para os demais analitos.

Os fatores investigados em planejamento fatorial 2^{4-1} foram discutidos na seção 3.2.3.4 e são novamente colocados nesta seção para facilitar a compreensão dos resultados:

- C1 – Solvente de condicionamento do cartucho
- C2 – pH da amostra
- C3 – Solvente de eluição
- C4 – limpeza do cartucho

Na Figura 21 são apresentadas as recuperações obtidas para o NPX conforme planejamento fatorial proposto. Na Figura em questão, o gráfico com as recuperações está acompanhado de um gráfico de probabilidade normal construído a partir dos dados das recuperações. Os gráficos de probabilidade normal mostram os efeitos provocados por cada um dos fatores avaliados e suas combinações binárias, de forma que quanto mais distante do ponto central do gráfico (0,0), maior o efeito causado pelo fator ou pela combinação de fatores.

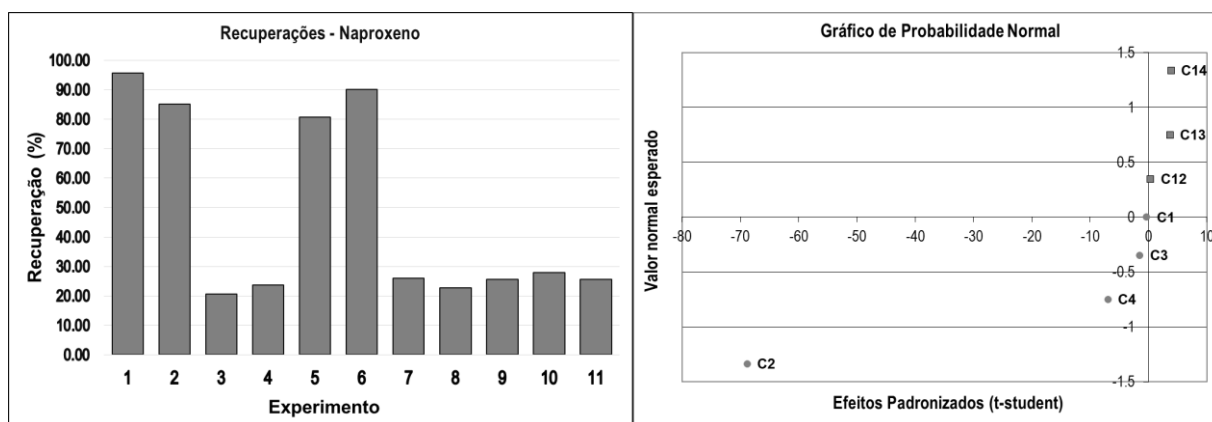


Figura 21. Recuperações obtidas para NPX em cada experimento do planejamento fatorial e o gráfico de probabilidade normal mostrando os efeitos principais e secundários de cada fator avaliado.

Na Figura 21, observa-se no gráfico de probabilidade normal que o efeito do fator C2 (pH da amostra), ou seja, foi significativo e, portanto, influenciou significativamente a eficiência da extração. Os experimentos 1, 2, 5 e 6 foram conduzidos sob pH da amostra ajustado para 2,0 e apresentaram recuperações consideradas satisfatórias, entre 80 e 95%. Já nos experimentos 3, 4, 7 e 8, conduzidos com pH da amostra

ajustado para 10,0, as recuperações foram inferiores a 30%. Os experimentos 9, 10 e 11 foram conduzidos em pH da amostra ajustado para 6,0 e também apresentaram recuperações inferiores a 30%, ou seja, insatisfatórias. No caso do NPX fica evidente que o pH adequado para garantir uma boa recuperação deve ser de 2,0. Os outros fatores não foram significativos para a recuperação. Este resultado foi similar ao observado por Vanderford e colaboradores (2003) que relataram recuperações de 91% para o NPX em amostras de água ajustada para pH 2,0 empregando também cartuchos Oasis HLB (Waters).

Conforme mencionado anteriormente, este mesmo tipo de análise foi realizado para todos os outros 34 analitos de forma que pudessem ser definidos os fatores que mais influenciavam o processo de extração. De um modo geral, observou-se que os efeitos C1 (solvente de condicionamento) e C3 (solventes de eluição) não influenciaram significativamente o processo de extração para 90% dos analitos. A resposta, em termos de recuperação, para os demais 10% dos analitos foi mais elevada para os, níveis mais altos de C1 e C3, ou seja, 12 mL de metanol para condicionamento dos cartuchos e 9 mL de metanol para eluição dos analitos.

Os efeitos produzidos pelo fator C4 (limpeza do cartucho), foram relevantes para 45% dos analitos, porém sempre indicando perdas na recuperação destes analitos quando o processo de limpeza era realizado. As perdas de analito após a lavagem chegaram a 20%, como no caso da CMZ.

O fator que influenciou mais significativamente os resultados foi o C2 (pH da amostra antes da extração). Para 95% dos analitos houve diferenças significativas nas recuperações em função do pH da amostra. Essas variações foram bastante significativas, como no caso do GFB cuja recuperação em pH 10 foi próxima a 100%, enquanto que em pH 2,0 ficaram próximas de 1%.

Considerando todos os resultados obtidos para cada analito e por se tratar de um método multicomponente, optou-se por dividir os analitos em três grupos, em função das diferentes faixas de pH investigadas. Assim, para cada amostra devem ser coletados ao menos 3 L de modo que três porções de 1 L possam ser submetidas aos procedimentos de extração, nos três níveis de pH investigados. Esta decisão aumentou drasticamente o custo da análise, pois para cada amostra torna-se necessário a utilização de três cartuchos de extração, um para cada valor de pH da amostra.

Em função dos resultados obtidos, optou-se pelo uso um único solvente (metanol) nos processos de condicionamento e eluição, com vistas a facilitar o procedimento manual nestas etapas. Considerando-se que a lavagem apresentou efeitos negativos nas recuperações do analitos, optou-se por não efetuar este procedimento. Assim, ao final, as condições fixadas para a extração das amostras em seus diferentes níveis de pH foram:

- Condicionamento: 12 mL de metanol
- Eluição: 9 mL de metanol
- Sem limpeza do cartucho.

Na Tabela 33 são apresentados três grupos de analitos que podem ser extraídos de acordo com o pH. Cabe mencionar que alguns analitos apresentaram recuperações superiores a 70%, portanto aceitável, em diferentes valores de pH. Nestes casos, eles são apresentados com uma marcação de asterisco (*), indicando que, alternativamente, podem ser determinados sob outros níveis de pH da amostra.

As substâncias definidas para serem extraídas em pH 2,0, em geral apresentam valores de $\log K_{ow}$, inferiores a 2,5 (Tabela 23), apresentando baixa hidrofobicidade, além disso apresentam valores de pK_a superiores a 5. Essas substâncias em pH 2,0 apresentam-se em sua maior parte ionizadas, favorecendo a interação com a parte hidrofílica da fase estacionária. As substâncias definidas para serem extraídas em pH 10,0 em geral apresentam valores de $\log K_{ow}$ maiores que 2,5 e pK_a maiores em torno de 10, indicando relevada hidrofobicidade, e portanto interagindo com a parte lipofílica da fase estacionária. Evidentemente os mecanismos de interação entre as substâncias investigadas e a fase estacionária são diversas, e não foi possível estabelecer uma relação direta entre valores de pK_a e $\log K_{ow}$ com os pH ótimos para a extração de cada substância.

Tabela 33. Valores de pH de amostra empregados para garantir elevada recuperação empregando-se extração SPE (Oasis HLB)

pH	pH 2.0	pH 6.0	pH 10.0
<u>ESI (+)</u>	ATZ	MEF	AMT
	BUP	CFX	ATN
	CAF	NOR	BZF
	CMZ	SMX	DAP
	CPX	TEO	NGT
	COT	COT*	DEET*
	DEET	DEET*	CAF*
	DFN	OH-COT*	DFN*
	ETM	CAF*	
	NIC	ATZ*	
	PXT	CMZ*	
	OH-COT	ATN*	
	VEN	AMT*	
			NGT*
		CPX*	
		ETM*	
		VEN*	
	pH 2.0	pH 6.0	pH 10.0
<u>ESI (-)</u>	ACT	HCT	EE2
	CFB	IBU	E3
	NPX	TCS	E1
	BPA	CFB*	E2
		BPA*	GFB

3.5.5 Validação do Método Analítico

Tendo-se em vista o objetivo desta parte do trabalho, a validação do método foi realizada para os 35 analitos investigados. Consistiu na obtenção de informações sobre curvas analíticas, precisão e exatidão (ensaios de recuperação), limites de detecção e quantificação.

3.5.5.1 Linearidade e Limites de Detecção e Quantificação do instrumento

No método por adição de padrão, uma curva de calibração é construída para cada extrato da amostra. Por este método não é possível obter somente uma curva analítica e um único valor para R^2 , LOD e LOQ.

Desta forma, a linearidade foi avaliada em função do coeficiente de determinação (R^2) de cada curva de calibração construída para cada extrato da amostra. As concentrações finais dos analitos após adição no extrato de cada amostra eram de 0, 1, 10, 20 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Não há LOD e LOQ únicos obtidos por adição de padrão para um determinado analito, mesmo em uma única matriz, eles dependem da concentração do analito na amostra. Desta maneira os limites de detecção e quantificação serão apresentados conforme a faixa obtida para cada analito.

De acordo com valores apresentados na Tabela 34, o modelo de regressão linear simples se mostrou adequado, pois apresentou coeficiente de determinação acima de 0,999. Vale ressaltar que este valor está de acordo com os estabelecido pelas normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (0,99) e do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (0,90) (Anvisa, 2017; Inmetro, 2011).

Tabela 34. Linearidade, Limite de Detecção e Quantificação Instrumental

Analito	R²	LOD (µg L⁻¹)	LOQ (µg L⁻¹)
ACT	0,99	1,61 - 2,20	4,89 - 6,67
AMT	0,99	0,16 - 0,70	0,48 - 2,12
ATN	0,99	0,76 - 1,31	2,31 - 3,98
ATZ	0,99	0,66 - 1,28	2,01 - 3,87
BPA	0,99	0,48 - 0,90	1,44 - 2,73
BUP	0,99	0,10 - 0,20	0,30 - 0,60
BZF	0,99	0,84 - 1,81	2,54 - 5,49
CAF	0,99	0,73 - 1,05	2,20 - 3,20
CFB	0,99	0,25 - 0,35	0,76 - 1,06
CFX	0,99	1,09 - 1,88	3,30 - 5,69
CMZ	0,99	0,90 - 1,75	2,73 - 5,31
COT	0,99	1,04 - 2,01	3,14 - 6,08
CPX	0,99	1,03 - 1,75	3,11 - 5,31
DAP	0,99	0,34 - 0,44	1,02 - 1,34
DEET	0,99	0,78 - 2,31	2,31 - 5,93
DFN	0,99	1,33 - 2,35	4,02 - 7,11
E1	0,99	0,33 - 0,52	0,98 - 1,58
E2	0,99	0,51 - 0,92	1,55 - 2,80
E3	0,99	0,63 - 1,00	1,89 - 3,03
EE2	0,99	1,16 - 1,48	3,52 - 4,49
ETM	0,99	0,75 - 1,34	2,27 - 4,05
GFB	0,99	0,06 - 0,13	0,19 - 0,40
HCT	0,99	0,71 - 1,39	2,16 - 4,21
IBU	0,99	1,30 - 2,68	3,94 - 8,11
MEF	0,99	0,16 - 0,29	0,49 - 0,88
NGT	0,99	2,43 - 4,72	7,35 - 14,32
NIC	0,99	0,29 - 0,49	0,87 - 1,47
NOR	0,99	0,20 - 0,37	0,61 - 1,11
NPX	0,99	0,18 - 0,26	0,53 - 0,79
OH-COT	0,99	1,64 - 2,88	4,96 - 8,72
PXT	0,99	0,66 - 0,96	2,01 - 2,92
SMX	0,99	0,35 - 0,70	1,06 - 2,11
TCS	0,99	0,64 - 1,14	1,93 - 3,46
TEO	0,99	2,46 - 3,10	7,46 - 9,40
VEN	0,99	0,19 - 0,36	0,57 - 1,08

3.5.5.2 Parâmetros de mérito analítico do método completo

A precisão e exatidão do método foram avaliadas simultaneamente por meio de ensaios de recuperação analítica dos 35 analitos avaliados. Optou-se por realizar a validação utilizando um único nível de concentração (10 ng L^{-1}).

O nível de concentração utilizado nos ensaios de recuperação está dentro da faixa em que se espera encontrar as substâncias alvo em amostras de água para consumo humano.

Uma amostra de 2 L de água para consumo humano coletada em torneira ligada à rede de abastecimento público localizada no 1º Batalhão de Trânsito da Polícia Militar, próximo à Companhia de Saneamento Ambiental do Distrito Federal (CAESB) e ao Estádio Mané Garrincha, foi separada em duas porções de 1 L. A primeira porção foi enriquecida com 10 ng L^{-1} das substâncias investigadas e foram submetidas ao processo de extração. A segunda porção foi submetida a extração, porém sem enriquecimento. Os valores obtidos para a concentração dos analitos na amostra enriquecida foram subtraídos dos valores obtidos na amostra sem enriquecimento. A partir deste resultado foi calculado o valor da recuperação no processo de extração para cada analito. As amostras foram analisadas em triplicata, e os resultados são apresentados na Tabela 35.

Os resultados obtidos para os ensaios de recuperação mostram valores de recuperação entre 64,8 e 101,2% com um coeficiente de variação máximo em 10%, mostrando uma boa precisão e exatidão. A substância com menor recuperação foi o ACT (64,8%), enquanto que a VEN a substância com maior recuperação (101,2%).

Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$. (Ribani et al., 2004). Diante destes resultados, é possível dizer que o método analítico pode ser empregado com segurança.

Com os valores de recuperação definidos, foi possível calcular o Limite de Detecção e Limite de Quantificação do método completo. Estes valores estão apresentados na Tabela 36.

Tabela 35. Precisão (Repetitividade) e Exatidão (Recuperação): coeficientes de variação

Analito	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	Média de Recuperação (%)	CV (%)
ACT	64,3	69,8	60,2	64,8	4,8
AMT	74,6	71,9	78,7	75,1	3,4
ATN	95,2	93	86,7	91,6	4,4
ATZ	92,1	98,4	86,3	92,3	6,1
BPA	110,3	96,3	90,3	99,0	10
BUP	98,4	90,5	82,3	90,4	8,1
BZF	102,1	90,8	95	96,0	5,7
CAF	99,4	92,2	88,4	93,0	5,6
CFB	91,4	83,6	94,3	89,8	5,5
CFX	87,9	79,6	84,5	84,0	4,2
CMZ	81,4	84,5	93,6	86,5	6,3
COT	105,4	92,5	103,5	100,5	7,0
CPX	88,1	85,4	78,9	84,1	4,7
DAP	88	90,4	97,2	91,9	4,8
DEET	99,3	92,5	86,5	92,8	6,4
DFN	81,4	84,5	76,2	80,7	4,2
E1	71,3	77,4	67,2	72,0	5,1
E2	81,2	74,3	90,3	81,9	8,0
E3	82,4	80,9	73,7	79,0	4,7
EE2	65,5	70,4	75,2	70,4	4,9
ETM	86,5	96,2	80,1	87,6	8,1
GFB	100,7	91,3	108,3	100,1	8,5
HCT	72,5	78,5	65,7	72,2	6,4
IBU	101,5	91,4	105,4	99,4	7,2
MEF	82,1	75,5	86,2	81,3	5,4
NGT	70,1	77,4	81,4	76,3	5,7
NIC	90,3	84,1	91,5	88,6	4,0
NOR	60,5	76,7	65,5	67,6	8,3
NPX	91,3	89,4	95	91,9	2,8
OH-COT	76,5	84,1	73,5	78,0	5,5
PXT	90,5	95,4	86,4	91,0	4,5
SMX	81,9	78,7	90,3	83,6	6,0
TCS	84,3	90,1	92,6	89,0	4,3
TEO	74,4	87,6	77,7	79,9	6,9
VEN	105,4	95,3	102,9	101,2	5,3

Tabela 36. Limite de Detecção e Quantificação do Método Completo

Analito	LOD (ng L⁻¹)	LOQ (ng L⁻¹)
ACT	1,61 - 2,20	4,89 - 6,67
AMT	0,16 - 0,70	0,48 - 2,12
ATN	0,76 - 1,31	2,31 - 3,98
ATZ	0,66 - 1,28	2,01 - 3,87
BPA	0,48 - 0,90	1,44 - 2,73
BUP	0,10 - 0,20	0,30 - 0,60
BZF	0,84 - 1,81	2,54 - 5,49
CAF	0,73 - 1,05	2,20 - 3,20
CFB	0,25 - 0,35	0,76 - 1,06
CFX	1,09 - 1,88	3,30 - 5,69
CMZ	0,90 - 1,75	2,73 - 5,31
COT	1,04 - 2,01	3,14 - 6,08
CPX	1,03 - 1,75	3,11 - 5,31
DAP	0,34 - 0,44	1,02 - 1,34
DEET	0,78 - 2,31	2,31 - 5,93
DFN	1,33 - 2,35	4,02 - 7,11
E1	0,33 - 0,52	0,98 - 1,58
E2	0,51 - 0,92	1,55 - 2,80
E3	0,63 - 1,00	1,89 - 3,03
EE2	1,16 - 1,48	3,52 - 4,49
ETM	0,75 - 1,34	2,27 - 4,05
GFB	0,06 - 0,13	0,19 - 0,40
HCT	0,71 - 1,39	2,16 - 4,21
IBU	1,30 - 2,68	3,94 - 8,11
MEF	0,16 - 0,29	0,49 - 0,88
NGT	2,43 - 4,72	7,35 - 14,32
NIC	0,29 - 0,49	0,87 - 1,47
NOR	0,20 - 0,37	0,61 - 1,11
NPX	0,18 - 0,26	0,53 - 0,79
OH-COT	1,64 - 2,88	4,96 - 8,72
PXT	0,66 - 0,96	2,01 - 2,92
SMX	0,35 - 0,70	1,06 - 2,11
TCS	0,64 - 1,14	1,93 - 3,46
TEO	2,46 - 3,10	7,46 - 9,40
VEN	0,19 - 0,36	0,57 - 1,08

Os valores obtidos para os limites de detecção do método completo são cerca de 1000 vezes inferiores aos limites de detecção e quantificação do instrumento, pois a amostra é reduzida de um volume de 1000 mL para 1 mL. Os limites se mostraram adequados para análise de amostras de água para consumo humano, uma vez que para vários analitos são esperadas concentrações na faixa de ng L^{-1} . Ou seja, os valores de LOD e LOQ são compatíveis com as concentrações dos analitos comumente encontrados nestas amostras segundo a literatura (Ferrer and Thurman, 2013).

3.5.6 Análise de amostras de água para consumo humano

Após a validação do método analítico para quantificação de 35 analitos, o mesmo foi aplicado para análise de amostras para consumo humano coletadas no DF. Foram realizadas duas campanhas amostrais. A primeira campanha foi realizada no mês de setembro de 2017, no fim do período de estiagem, enquanto que a segunda ocorreu no mês de janeiro de 2018, durante o período chuvoso. Na Figura 22 é apresentada a distribuição mensal das chuvas no DF em 2017/2018 e a indicação dos meses de coleta das amostras.

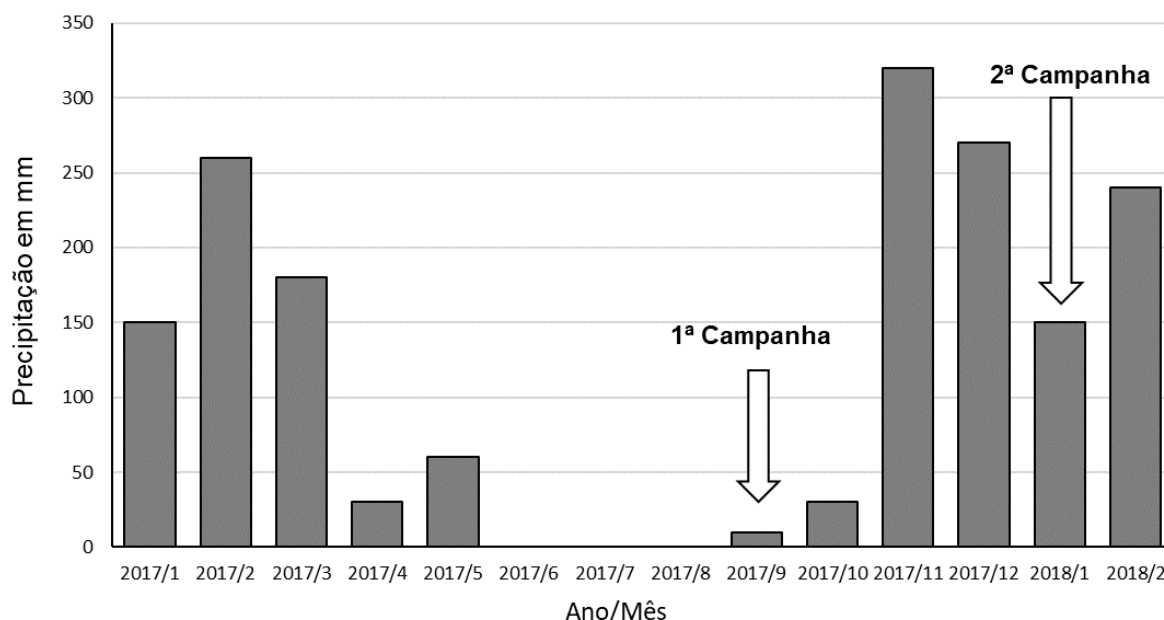


Figura 22. Chuva acumulada (mensal) no Distrito Federal entre janeiro de 2017 e fevereiro de 2018 e a indicação dos meses de coleta das amostras.

Considerando que, para cada amostra coletada nos sete pontos amostrais foram utilizados três cartuchos (para a extração em diferentes pH), um total de 42 cartuchos foram consumidos nas duas amostras. Ao optar pela quantificação por adição de padrão, onde cada um dos 42 extratos foi dividido em cinco alíquotas para fins de construção das curvas analíticas, um total de 210 sub-extratos foram analisados individualmente nas duas polaridades da fonte de ionização por eletronebulização (positiva e negativa), totalizando 420 corridas cromatográficas sem contar as injeções cromatográfica das soluções controle (brancos) e de calibração. Ao final das análises, foram gerados mais de 7000 cromatogramas em cerca de 120 horas de operação do sistema LC-MS/MS(Q-TOF). A Figura 23 mostra uma curva analítica de adição de padrão típica (neste caso para o DEET) obtida durante a análise das amostras.

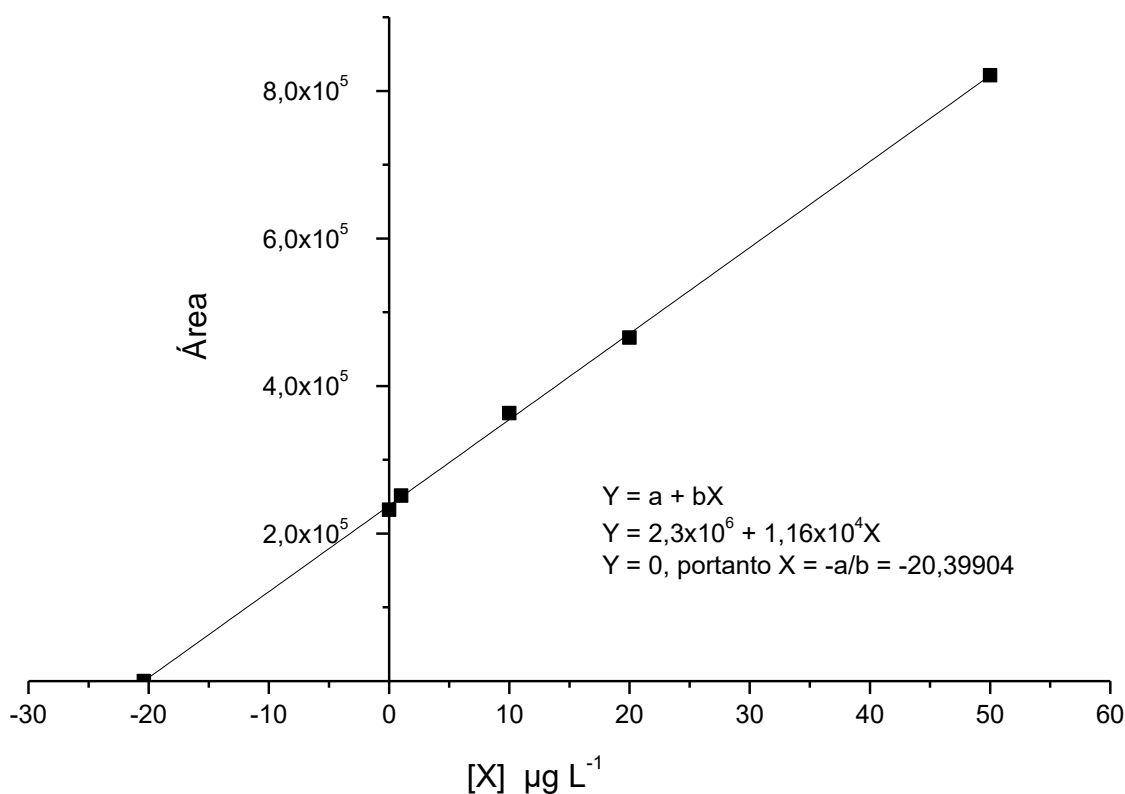


Figura 23. Curva analítica com adição de padrão para quantificação de DEET. Amostra da ETA Lago Norte.

Neste trabalho as recuperações mostradas na Tabela 35 foram utilizadas para corrigir as concentrações determinadas nas amostras, mostradas nas Tabelas 37 e 38.

Tabela 37. Resultados obtidos na primeira campanha de coleta (setembro de 2017). Dados em (ng L⁻¹)

Analito	Ceilândia	Asa Norte	Brazlândia	ETA Lago Norte	Sobradinho	Jardim Botânico	São Sebastião
ACT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
AMT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ATN	3,32 ± 0,06	2,47 ± 0,23	N.D.	3,07 ± 0,08	N.D.	N.D.	N.D.
ATZ	4,43 ± 0,05	<LOQ	<LOQ	4,1 ± 0,1	N.D.	N.D.	<LOQ
BPA	2,7 ± 0,1	3,76 ± 0,07	3,38 ± 0,06	6,19 ± 0,12	2,48 ± 0,06	2,2 ± 0,1	2,35 ± 0,19
BUP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BZF	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CAF	5,40 ± 0,04	4,62 ± 0,07	5,09 ± 0,09	5,64 ± 0,12	<LOQ	7,5 ± 0,2	2,95 ± 0,07
CFB	N.D.	N.D.	N.D.	3,81 ± 0,20	N.D.	N.D.	4,23 ± 0,07
CFX	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CMZ	5,85 ± 0,12	<LOQ	5,18 ± 0,14	5,06 ± 0,10	N.D.	N.D.	2,25 ± 0,05
COT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CPX	<LOQ	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DAP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DEET	8,08 ± 0,06	2,58 ± 0,03	2,75 ± 0,02	21,98 ± 0,14	<LOQ	4,4 ± 0,1	3,27 ± 0,04
DFN	N.D.	N.D.	N.D.	6,03 ± 0,07	N.D.	N.D.	N.D.
E1	<LOQ	<LOQ	1,20 ± 0,09	5,35 ± 0,14	N.D.	N.D.	N.D.
E2	N.D.	N.D.	N.D.	3,71 ± 0,08	N.D.	N.D.	N.D.
E3	N.D.	N.D.	<LOQ	5,63 ± 0,15	N.D.	N.D.	N.D.

Analito	Ceilândia	Asa Norte	Brazlândia	ETA Lago Norte	Sobradinho	Jardim Botânico	São Sebastião
EE2	N.D.	N.D.	N.D.	4,47 ± 0,07	N.D.	N.D.	N.D.
ETM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GFB	N.D.	N.D.	N.D.	4,47 ± 0,11	N.D.	N.D.	N.D.
HCT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
IBU	4,61 ± 0,05	N.D.	N.D.	4,8 ± 0,1	N.D.	N.D.	N.D.
MEF	8,03 ± 0,08	1,64 ± 0,06	5,93 ± 0,11	5,34 ± 0,11	4,68 ± 0,15	N.D.	N.D.
NGT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NIC	7,33 ± 0,15	2,59 ± 0,05	N.D.	3,06 ± 0,12	N.D.	N.D.	1,38 ± 0,38
NOR	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NPX	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
OH-COT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PXT	2,48 ± 0,06	3,68 ± 0,05	2,1 ± 0,1	5,0 ± 0,2	N.D.	3,26 ± 0,12	<LOQ
SMX	2,48 ± 0,11	2,75 ± 0,12	N.D.	4,0 ± 0,1	N.D.	N.D.	N.D.
TCS	2,09 ± 0,07	N.D.	N.D.	2,63 ± 0,09	N.D.	<LOQ	<LOQ
TEO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
VEN	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.- Não Detectado; LOQ, Limite de Quantificação.

Tabela 38. Resultados obtidos na segunda campanha de coleta (Janeiro de 2018). Dados em (ng L⁻¹)

Analito	Ceilândia	Asa Norte	Brazlândia	ETA Lago Norte	Sobradinho	Jardim Botânico	São Sebastião
ACT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
AMT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ATN	2,1 ± 0,1	<LOQ	N.D.	4,06 ± 0,12	N.D.	N.D.	N.D.
ATZ	6,21 ± 0,23	3,45 ± 0,06	4,13 ± 0,11	7,72 ± 0,30	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BPA	2,15 ± 0,09	3,1 ± 0,1	<LOQ	5,45 ± 0,17	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BUP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
BZF	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CAF	6,6 ± 0,1	5,31 ± 0,04	2,76 ± 0,08	7,82 ± 0,12	<LOQ	2,2 ± 0,1	2,62 ± 0,11
CFB	2,34 ± 0,11,	N.D.	N.D.	2,4 ± 0,1	N.D.	N.D.	N.D.
CFX	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CMZ	4,5 ± 0,5	<LOQ	<LOQ	6,41 ± 0,14	N.D.	N.D.	<LOQ
COT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CPX	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DAP	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DEET	6,4 ± 0,1	3,2 ± 0,1	1,23 ± 0,07	18,49 ± 0,17	<LOQ	2,17 ± 0,03	<LOQ
DFN	N.D.	N.D.	N.D.	4,21 ± 0,12	N.D.	N.D.	N.D.
E1	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
E2	N.D.	N.D.	N.D.	N,D	N.D.	N.D.	N.D.
E3	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Analito	Ceilândia	Asa Norte	Brazlândia	ETA Lago Norte	Sobradinho	Jardim Botânico	São Sebastião
EE2	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ETM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
GFB	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
HCT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
IBU	<LOQ	N.D.	N.D.	4,02 ± 0,12	N.D.	N.D.	N.D.
MEF	4,2 ± 0,1	<LOQ	2,12 ± 0,09	8,26 ± 0,15	N.D.	N.D.	N.D.
NGT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NIC	5,93 ± 0,12	1,1 ± 0,1	N.D.	4,0 ± 0,1	N.D.	N.D.	<LOQ
NOR	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
NPX	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
OH-COT	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
PXT	2,1 ± 0,1	<LOQ	N.D.	3,2 ± 0,2	N.D.	<LOQ	N,D
SMX	3,2 ± 0,2	<LOQ	N.D.	5,02 ± 0,14	N.D.	N.D.	N.D.
TCS	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
TEO	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
VEN	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.- Não Detectado; LOQ, Limite de Quantificação.

Em todas as amostras investigadas neste trabalho foi detectado, ao menos um micropoluente emergente. Na amostra proveniente de sobradinho, obtida na segunda campanha amostral, foram detectados 4 analitos, porém nenhum com concentração acima do limite de quantificação. Dos 35 analitos avaliados, 20 foram detectados em pelo menos uma amostra, evidenciando que 57% dos micropoluentes emergentes foram detectados neste trabalho. A Figura 24 mostra a frequência de detecção dos micropoluentes emergentes investigados neste trabalho.

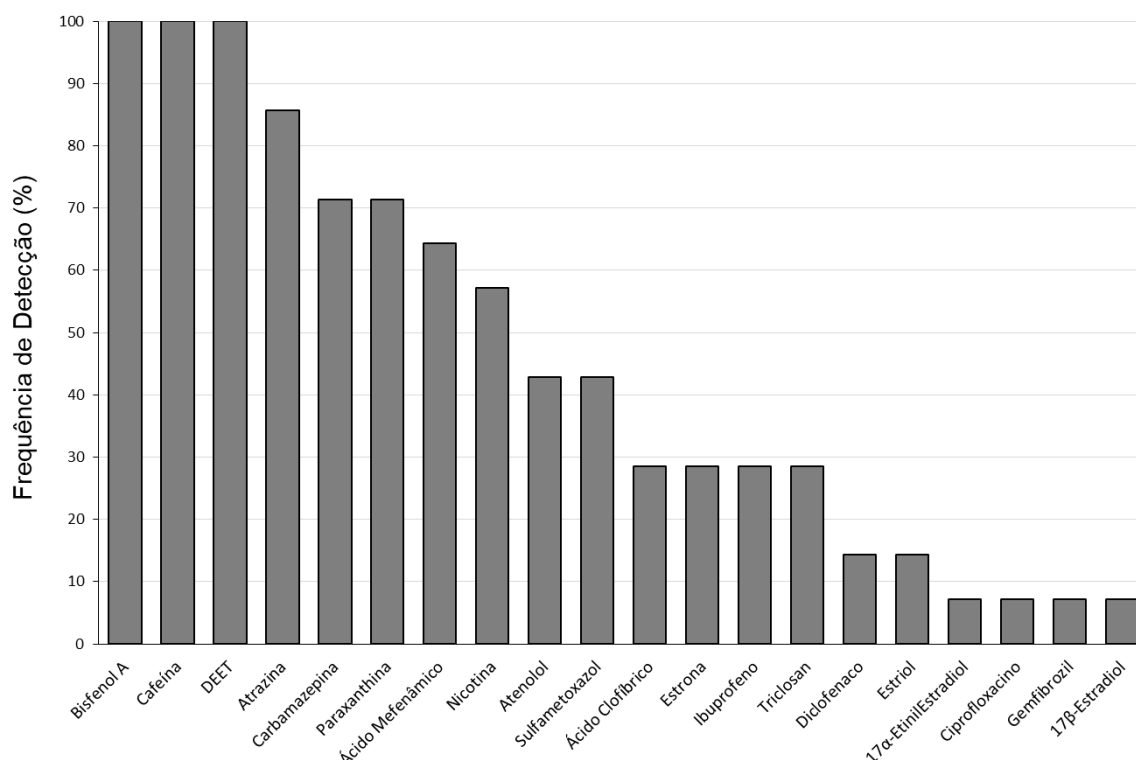


Figura 24. Frequência de detecção dos micropoluentes emergentes investigados neste trabalho (n=14).

Nota-se pela Figura 24 que a CAF, BPA e o DEET foram detectados em todas as 14 amostras. A ATZ foi detectada em 86%, seguida da CMZ e PXT (71%), do MEF (64%), da NIC (57%), do ATN e do SMX (43%). Fármacos vendidos sem receita médica e que apresentam níveis elevados de concentração em águas superficiais brasileiras (Sodré, 2018), tais como IBU e DFN, apresentaram baixas frequências de detecção, ou seja, de 29 e 14%, respectivamente. ACT e NPX, também amplamente consumidos e vendidos sem receita médica, não foram detectados em nenhuma amostra.

O CFB e o TCS foram detectados em quatro amostras (29%), enquanto que a CPX e o GFB em apenas uma amostra. Dentre os hormônios investigados, a E1 foi o micropoluente mais frequente, em 36% das amostras, seguido do E3 e do E2, ambos encontrados em 14% das amostras e do EE2 (7%).

Assim como o ACT e o NPX, outras 13 substâncias não foram detectadas nas amostras, a saber, AMT, BZF, BUP, CFX, COT, DAP, ETM, HCT, NGT, NOR, TEO, OH-COT e VEN.

Dentre os micropoluentes que apresentaram valores numéricos positivos, ou seja, acima de LOQ, foi possível observar concentrações variando entre 1,20 e 21,98 ng L⁻¹, sendo a menor concentração encontrada para E1 e o nível mais elevado reportado para o DEET.

Dentre as substâncias investigados, a CAF apresentou concentrações na faixa entre 2,2 a 7,82 ng L⁻¹. Por ser amplamente usada no dia-dia, não apenas em fármacos, mas também em bebidas e outros bens de consumo, é uma boa indicadora de atividade antrópica já que apresentou resultados consistentes nas amostras, variando em uma faixa bastante restrita de concentração, mesmo sendo quantificada em todas as amostras investigadas. Os resultados encontrados são similares aos reportados em estudos anteriores com águas para consumo humano do DF (Machado et al., 2016; Sodré et al., 2017). Nestes trabalhos as concentrações de CAF variaram na faixa entre 3,0 e 38,0 ng L⁻¹, com concentração média de 13,25 ng L⁻¹ e concentração mediana de 11 ng L⁻¹. Conforme esperado, as concentrações de CAF nas amostras são inferiores à média brasileira de 146 ng L⁻¹ considerando os resultados compilados por Canela e colaboradores (2014) em amostras de 22 captais brasileiras.

As concentrações de CAF mostradas no Capítulo 2 desta Tese, obtidas em amostras coletadas no ano de 2016, apresentaram um valor médio de 13 ± 2 ng L⁻¹, ou seja, próximo aos valores obtidos em 2017 e 2018 e dentro da faixa de concentração reportada nos demais trabalhos disponíveis na literatura.

As concentrações de CAF obtidas neste trabalho também são compatíveis com às observadas em outros trabalhos reportados na literatura. Stackelberg e colaboradores (2007) encontraram concentrações na faixa de 15 ng L⁻¹, no estado de Nova Jersey nos EUA, enquanto que Leung e colaboradores (2013), reportaram um valor médio de 24,4 ng L⁻¹ para a CAF em amostras de água para consumo humano

coletadas em 13 cidades na China. Valores tão baixos quanto os reportados neste trabalho foram reportados por Gaffney e colaboradores (2015) em Lisboa, Portugal (4,02 ng L⁻¹) e Riva e colaboradores (2018) em Milão (3,60 ng L⁻¹), na Itália.

A PXT, principal metabólito da CAF, foi encontrada sob concentrações que variaram entre 2,1 e 5,0 ng L⁻¹. No corpo humano cerca de 10% da CAF é excretada sem sofrer metabolização sendo que os dentre os 90% metabolizados, 84% consiste de PXT, 12% de TEO e 4% de teofilina (Thorn et al., 2012). Estas substâncias também podem sofrer novas desmetilações resultando nos metabólitos e formar 1-MX, 3-MX e 7-MX, além de ácidos metilúricos. Sendo a PXT o metabólito mais abundante da CAF, é esperado que se observe a presença dessa substância em ambientes aquáticos e, por consequência, na água para consumo humano. No melhor de nosso conhecimento, os dados mostrados nesta Tese são os primeiros envolvendo a presença de PXT em águas para consumo humano. Embora Riva e colaboradores (2018) tenham investigado sua presença na água para consumo humano na cidade de Milão na Itália, não foram reportados valores positivos. Castiglioni e colaboradores (2018) reportaram valores de concentrações de PXT em águas superficiais na faixa de 105 a 367 ng L⁻¹.

A CMZ é uma substância quimicamente estável, que costuma resistir aos processos de tratamento utilizados tanto em ETE quanto em ETA, servindo também como um indicadora de atividade antrópica (Clara et al., 2004). As concentrações encontradas nas amostras variaram de 2,25 a 6,41 ng L⁻¹ e são compatíveis com os resultados reportados por Stackelberg e colaboradores (2007) que reportaram concentrações médias de 29 ng L⁻¹ no estado de Nova Jersey nos EUA. Benotti e colaboradores (2009b), reportaram concentrações médias de 6 ng L⁻¹ também nos EUA, Gaffney e colaboradores (2015) reportaram concentrações médias de 1,90 ng L⁻¹ em Lisboa, Portugal, Simazaki e colaboradores (2015) reportaram concentrações médias de 16 ng L⁻¹ no Japão, e Riva e colaboradores (2018) reportaram concentrações médias de 7,61 ng L⁻¹ na cidade de Milão na Itália.

No grupo dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINE), foram detectados três substâncias dentre os AINE mais utilizados no mundo: MEF, IBU e DFN (Vergili, 2013).

O MEF é um fármaco usado para tratar dores, porém também prescrito como uma droga antipirética. Neste trabalho, as concentrações variaram de 1,64 a 8,26 ng

L⁻¹. Novamente, no melhor de nosso conhecimento, os dados aqui mostrados são os primeiros envolvendo esta substância em águas para consumo humano. Entretanto, há trabalhos na literatura que mostram a presença de MEF em águas superficiais sob concentrações na faixa de ng L⁻¹ (Peng et al., 2017).

As concentrações de IBU variaram de 4,02 a 4,8 ng L⁻¹ enquanto que DFN foi detectado nas duas amostras coletadas na ETA Lago Norte nas concentrações de 4,21 e 6,03 ng L⁻¹. Os resultados obtidos neste trabalho foram similares ao reportado por Simazaki e colaboradores (2015) que encontraram concentrações médias de 6 e 16 ng L⁻¹ de IBU e DFN, respectivamente, em amostras de água para consumo humano no Japão. Gaffney e colaboradores (2015) reportaram concentrações de 21 ng L⁻¹ para IBU e 11 ng L⁻¹ para DFN em água para consumo humano de Lisboa, Portugal.

O ATN foi encontrado na faixa de 2,1 a 4,06 ng L⁻¹. Os resultados obtidos neste trabalho são similares com resultados reportados por Benotti e colaboradores (2009b), que reportaram concentrações médias de 1,2 ng L⁻¹ em amostras de água para consumo humano nos EUA. Huerta-fontela e colaboradores (2010) reportaram concentrações médias de 10 ng L⁻¹ na Espanha, Vulliet e colaboradores (2011), reportaram valores que variaram de 0,5 a 2,0 ng L⁻¹ na França, Gaffney e colaboradores (2015) reportaram valores médios de 0,21 ng L⁻¹ em Lisboa, Portugal e Tröger e colaboradores (2018), reportaram concentrações médias de 0,20 ng L⁻¹ em água para consumo humano da Suécia.

Dentre os cinco antibióticos investigados apenas SMX foi encontrado em níveis de concentração acima de LOQ, na faixa de 1,02 a 5,02 ng L⁻¹. É um dos fármacos mais investigados na água para consumo humano ao redor do mundo. Leung e colaboradores (2013), reportaram valores médios de 10 ng L⁻¹ em amostras de água para consumo humano de 13 cidades na China. Vulliet e colaboradores (2011) reportaram valores médios de 0,8 ng L⁻¹ na França. E Gaffney e colaboradores (2015) reportaram valores máximos de 1,6 ng L⁻¹ em águas para consumo humano de Lisboa, Portugal.

Quatro hormônios foram quantificados neste trabalho, todos durante a primeira campanha amostral e a maioria proveniente da amostra coletada na ETA emergencial do Lago Norte, que iniciou em outubro de 2017 a captação de águas do Lago Paranoá.

O EE2 foi quantificado somente na ETA Lago Norte, na concentração de 4,47 ng L⁻¹. O E3 foi detectado em duas amostras, ETA Lago Norte e Brazlândia, sendo quantificado somente na primeira, onde a concentração determinada foi de 5,63 ng L⁻¹. O E2 foi quantificado na amostra da ETA Lago Norte na concentração de 3,71 ng L⁻¹. A E1 foi detectada em quatro amostras (Ceilândia, Asa Norte, Brazlândia e ETA Lago Norte), mas quantificada somente em duas, a amostra de Brazlândia que apresentou concentração de 1,2 ng L⁻¹ e a amostra da ETA Lago Norte que apresentou concentração de 5,35 ng L⁻¹.

As concentrações observadas na primeira campanha para este conjunto de hormônios variaram de 1,2 a 5,63 ng L⁻¹. Concentrações máximas de 0,01 ng L⁻¹ para o E2 e 1,7 ng L⁻¹ para E1 em água para consumo humano foram reportadas por Fan e colaboradores (2013) em trabalho realizado nas 31 maiores cidades da China. Neste mesmo trabalho o E2 foi detectado em 31 amostras e a E1 detectada em 53 amostras de um total de 62 (Fan et al., 2013).

Dentre os reguladores lipídicos, foram detectados e quantificados o CFB e o GFB. O CFB foi encontrado em concentrações que variaram de 2,34 a 4,23 ng L⁻¹. Riva e colaboradores (2018), reportam concentrações médias de 1,05 ng L⁻¹ de CFB em água para consumo humano na cidade de Milão na Itália. Heberer e colaboradores (1997) reportaram concentração de 270 ng L⁻¹ para CFB em água para consumo humano em Berlin, na Alemanha.

O GFB foi detectado na amostra da ETA Lago Norte na primeira campanha de coleta, apresentando concentração de 4,47 ng L⁻¹. Gaffney e colaboradores (2015) reportaram valores de 18 ng L⁻¹ para esta substância em amostras de água para consumo humano de Lisboa, Portugal.

Em relação aos contaminantes emergentes de outras classes, quatro analitos foram detectados e quantificados nas amostras avaliadas, sendo eles, o DEET, o BPA, a ATZ e o TCS. O DEET, muito utilizado em repelentes de inseto, apresentou as maiores concentrações nas amostras analisadas, variando de 1,22 a 21,98 ng L⁻¹. Isso pode ser explicado aos surtos de dengue e febre amarela provocados pelo mosquito *Aedes aegypti*. Devido a isso, uma hipótese possível é que tenha ocorrido um maior consumo deste tipo de produto, aumentando as concentrações no esgoto, em corpos aquáticos e, possivelmente, na água para consumo humano, visto que Sodr e e colaboradores (2017) não reportaram a presença deste micropoluente em

amostras analisadas no ano de 2012. Lee e colaboradores (2004) reportaram concentrações de 61 ng L⁻¹ em água para consumo humano no estado de Minnessota nos EUA. Stackelberg e colaboradores (2007) reportaram frequência de detecção de 100% em 12 amostras analisadas no estado de Nova Jersey nos EUA, com concentração máxima obtida de 9,7 ng L⁻¹. Benotti e colaboradores (2009b), também nos EUA, reportaram a presença de DEET em água para consumo humano na concentração média de 63 ng L⁻¹.

Embora as campanhas para redução do uso de BPA tenham ganhado força nos últimos anos, o que levou a proibição pela Anvisa do uso dessa substância em mamadeiras no Brasil, muitos produtos ainda a contém, o que pode explicar a alta frequência de detecção (100%) dessa substância nas águas para consumo humano do DF. As concentrações determinadas variaram de 1,32 a 6,19 ng L⁻¹, sendo que a concentração mais alta foi encontrada na amostra da ETA Lago Norte.

Stackelberg e colaboradores (2007) reportaram concentrações médias de 26 ng L⁻¹ em água para consumo humano no estado de Nova Jersey nos EUA. Benotti e colaboradores (2009b) reportaram concentrações médias de 25 ng L⁻¹ também nos EUA. Riva e colaboradores (2018) reportaram concentrações médias de 23,10 ng L⁻¹ na cidade de Milão na Itália, sendo que em uma das amostras a concentração de BPA encontrada foi de 683 ng L⁻¹.

A ATZ é utilizada como herbicida seletivo pré e pós-emergência para o controle de ervas daninhas em aspargos, milho, sorgo, cana-de-açúcar e abacaxi. Também é utilizado na silvicultura e no controle de ervas não seletivas em áreas não cultivadas. Sabe-se que no DF há grande produção agrícola nas regiões administrativas. Na parte central, muito arborizada, há também a utilização desse herbicida, o que pode explicar a alta frequência (84%) dessa substância. As concentrações encontradas de ATZ variaram de 3,45 a 7,72 ng L⁻¹. Os resultados apresentados neste trabalho, são compatíveis com os encontrados por Machado e colaboradores (2016) que reportaram frequência de detecção de 75% da ATZ em amostras de águas para consumo humano de 22 capitais brasileiras. Nas amostras do DF, foram reportadas concentrações entre 3 e 5 ng L⁻¹. Sodré e colaboradores (2017) reportaram concentrações entre 2 e 3,3 ng L⁻¹ em amostras de água para consumo no DF. Em outro estudo no Brasil, Montagner e colaboradores (2014) reportaram frequência de detecção de 50% de ATZ

em 18 amostras de água para consumo humano no Estado de São Paulo, e concentração média de 26 ng L⁻¹.

Em relação ao TCS, este bactericida foi detectado em quatro amostras, sendo que somente em duas delas foi possível quantificá-lo com o método utilizado neste trabalho. As concentrações variaram de 2,06 a 2,61 ng L⁻¹. Esta substância é de grande interesse por ser um interferente endócrino (Olaniyan et al., 2016). Na literatura, segundo *review* publicado por Olaniyan e colaboradores (2016), o TCS já foi encontrado em concentrações que variaram de 6 a 60 ng L⁻¹ em amostras de água para consumo humano.

Na Tabela 39 estão sumarizadas as informações acerca da ocorrência das substâncias quantificadas neste trabalho e em diferentes países.

Tabela 39. Ocorrência de micropoluentes emergentes em água para consumo humano em diferentes países.

Substância	Concentração (ng L ⁻¹)	País	Referência
Psicoestimulantes			
Cafeína	2,2-7,8	Brasil	Este trabalho Machado et al., 2016; Sodr�e et al., 2017
	3-38	Brasil	
	15	EUA	Stackelberg et al., 2007
	24,4	China	Leung et al., 2013
	4,02	Portugal	Gaffney et., 2015
	3,60	Itália	Riva et al., 2018
Paranxantina	2,1-5,0	Brasil	Este trabalho Riva et al., 2018
	n.d.	Itália	
Anti-epilético			
Carbamazepina	2,25-6,41	Brasil	Este Trabalho Stackelberg et al., 2007
	29	EUA	
	6	EUA	Benotti et al., 2009b
	1,90	Portugal	Gaffney et., 2015
	16	Japão	Simazaki et al., 2015
	7,61	Itália	Riva et al., 2018
Anti-inflamatórios			
�cido Mefenâmico	1,64-8,26	Brasil	Este Trabalho
Ibuprofeno	4,02 - 4,8	Brasil	Este Trabalho Simazaki et al., 2015
	6	Japão	
	21	Portugal	Gaffney et al., 2015

Substância	Concentração (ng L ⁻¹)	País	Referência
Diclofenaco Sódico	4,21-6,03		Este Trabalho
	16		Simazaki et al., 2015
	11	Portugal	Gaffney et al., 2015
Betabloqueadores			
Atenolol	2,1-4,06	Brasil	Este trabalho
	1,2	EUA	Benotti et al., 2009b
	10	Espanha	Huerta-fontela et al., 2010
	0,5-2,0	França	Vulliet et al., 2011
	0,21	Portugal	Gaffney et al., 2015
	0,20	Suécia	Tröger et al., 2018
Antibióticos			
Sulfametoxazol	1,02-5,02	Brasil	Este Trabalho
	10	China	Leung et al., 2013
	0,8	França	Vulliet et al., 2011
	1,6	Portugal	Gaffney et al., 2015
Hormônios			
17 α -etinilestradiol	4,47	Brasil	Este trabalho
Estriol	5,63	Brasil	Este trabalho
17 β -estradiol	3,71	Brasil	Este trabalho
	0,01	China	Fan et al., 2013
Estrona	1,2-5,35	Brasil	Este trabalho
	1,7	China	Fan et al., 2013
Reguladores Lipídicos			
Ácido Clofíbrico	2,34-4,23	Brasil	Este trabalho
	1,05	Itália	Riva et al., 2018
	270	Alemanha	Heberer et al., 1997
Gemfibrozil	4,47	Brasil	Este trabalho
	18	Portugal	Gaffney et al., 2015
Produtos de Higiene Pessoal			
DEET	1,22-21,98	Brasil	Este trabalho
	61	EUA	Lee et al., 2004
	9,7	EUA	Stackelberg et al., 2007
	63	EUA	Benotti et al., 2009b
Triclosan	2,06–2,61	Brasil	Este trabalho

Substância	Concentração (ng L ⁻¹)	País	Referência
	6-60	Vários Países	Olaniyan et al., 2016
Plastificante			
Bisfenol A	1,32-6,19	Brasil	Este trabalho
	26	EUA	Stackelberg et al., 2007
	25	EUA	Benotti et al., 2009b
	23,10	Itália	Riva et al., 2018
Herbicida			
Atrazina	3,45-7,72	Brasil	Este trabalho
	3-5	Brasil	Machado et al., 2016
	2-3,3	Brasil	Sodré et al., 2017
	26	Brasil	Montagner et al., 2014

Nota-se, pelos dados das Tabelas 37 e 38 que a amostra obtida da ETA Lago Norte apresentou a maior quantidade de diferentes analitos, totalizando 18 dos 35 micropoluentes emergentes avaliados. Este resultado era esperado uma vez que a ETA Lago Norte retira água para tratamento do Lago Paranoá. O Lago Paranoá por sua vez, recebe os efluentes de duas ETE localizadas na parte norte e sul, além de receber as cargas de águas pluviais, e outras possíveis fontes pontuais de recebimento de contaminantes, como por exemplo fossas sépticas ilegais que desaguam no Lago.

É importante mencionar que, o ponto de retirada de água do lago para a ETA Lago Norte está localizado no braço do Torto, região do lago que recebe as águas do Ribeirão do Torto. Essa região do lago é distante do local de aporte de efluentes das ETE Norte e Sul. O local, segundo a Caesb, foi escolhido pela boa qualidade da água, que já havia sido testada nos estudos para implementação do sistema definitivo de captação no Lago Paranoá (Caesb, 2009), no entanto a presença de micropoluentes emergentes nas amostras da ETA Lago Norte, pode ser um indicativo de outras fontes de contaminação que podem estar presentes nesse braço do lago.

Na amostra coletada em Ceilândia, foram encontradas 13 substâncias, enquanto que na amostra coletada na Asa Norte, foram encontradas 10. Nas amostras coletadas em Brazlândia e São Sebastião foram encontradas 8 substâncias e nas amostras coletadas no Lago Sul e em Sobradinho foram encontradas 4 substâncias.

A amostra coletada em Ceilândia referente a ETA do Descoberto foi a segunda que mais apresentou substâncias diferentes, apresentando a ocorrência de 13 dos substâncias avaliadas. Segundo Cavalcanti (2017) o Lago Descoberto sofre de alguns problemas, tais como:

- Adensamento populacional na bacia, considerando o crescimento de condomínios e das cidades de Brazlândia, Incra 8, Ceilândia, Águas Lindas de Goiás, e Ouro Verde;
- Invasões de terra em área de preservação permanente (APP), onde há vegetação com potencial para permitir a transferência de contaminantes para o lençol freático
- Agricultura em grande escala com uso de agroquímicos cujos efluentes podem causar contaminação, principalmente em um cenário de depleção do reservatório, onde a capacidade de diluição é reduzida;

Devido aos problemas descritos, o Lago Descoberto, que é o mais utilizado para fornecimento de água tratada no DF está sujeito a grande contaminação, refletida nos resultados apresentados.

A amostra coletada na Asa Norte referente a ETA Brasília, que recebe água de três mananciais, sendo eles: Reservatório Santa Maria, ribeirão Bananal e ribeirão do Torto, sofrem dos mesmos problemas descritos para o Lago Descoberto. Embora esteja em uma reserva de proteção ambiental, a proximidade com a cidade Estrutural e o depósito de lixo ali presente pode permitir a contaminação destes corpos aquático. É importante mencionar que na 1ª campanha de coleta, realizada em setembro de 2017, a ETA Brasília captava água dos Reservatórios Santa Maria e do ribeirão do torto, enquanto que na 2ª campanha de coleta, realizada em janeiro de 2018, a ETA captava água dos ribeirões do Torto e Bananal.

As amostras referentes as outras ETA apresentaram menos contaminantes, possivelmente pelo fato das respectivas fontes de captação de água serem constituídas de poços subterrâneos, onde a pressão antropogênica é baixa resultando em menor contaminação.

Com relação a variação das concentrações das substâncias investigadas devido a sazonalidade, não foi possível estabelecer padrões e perceber diferenças significativas entre as campanhas. De forma que não é possível avaliar variações sazonais com este universo de amostra, necessitando, portanto, uma quantidade

maior de campanhas e dados para uma avaliação estatística completa, incluindo outros aspectos que pode influenciar nos resultados obtidos, como por exemplo, uma avaliação acerca da eficiência do tratamento de água.

3.5.7 Avaliação de Risco

Para a avaliação de risco foram considerados apenas os resultados considerados positivos, ou seja, aqueles reportados acima dos valores de LOQ. A Figura 25 mostra a frequência de quantificação dos micropoluentes investigados neste trabalho.

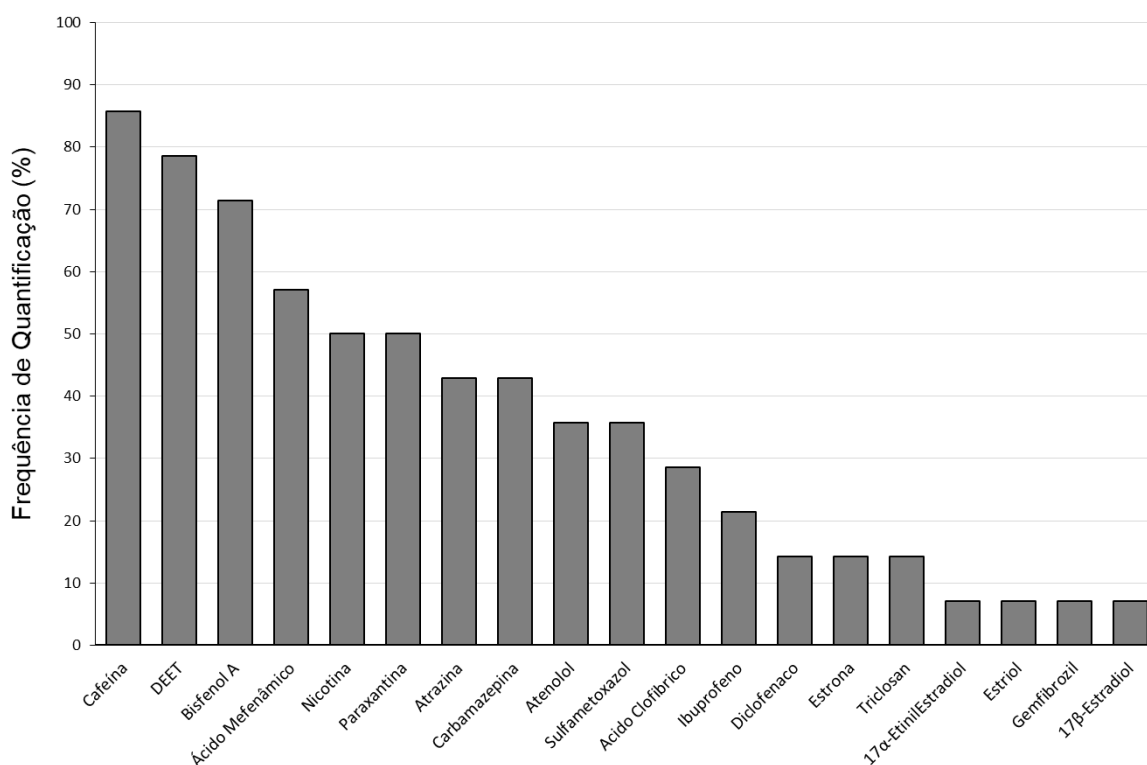


Figura 25. Frequência de quantificação dos analitos investigados neste trabalho.

Foram quantificados 19 analitos, em um total de 94 resultados positivos. A análise do Quociente de Risco baseou-se na classificação proposta por Komori e colaboradores (2013), onde os valores inferiores a 0,1 indicam ausência de risco, enquanto que os índices entre 0,1 e 1 são classificados como "necessidades de mais estudos". Quocientes de risco com valores maiores ou iguais a 1 são aqueles que apresentam risco.

O quociente de risco ambiental (QR_{amb}) pode ser calculado utilizando a equação 18.

$$QR_{amb} = \frac{MEC \text{ ou } PEC}{PNEC} \quad (18)$$

O quociente de risco humano (QR_{hum}) pode ser calculado utilizando a equação 19.

$$QR_{hum} = \frac{CM}{VMP} \quad (19)$$

onde CM é concentração medida do analito em água para consumo humano, conforme dados apresentados nas Tabelas 37 e 38.

3.5.7.1 Avaliação de risco ambiental

A avaliação de risco ambiental foi feita calculando-se o Quociente de Risco ambiental (QR_{amb}) com base na razão PEC/PNEC. Para obter o valor de PEC, foram utilizados os dados obtidos para as concentrações das substâncias nas amostras de água para consumo humano. Considerou-se um fator de remoção de 0% destas substâncias nas ETA, desta maneira a concentração obtida para a substância na água para consumo humano, foi considerada a concentração ambiental prevista (PEC) no manancial, ou seja, a concentração mínima encontrada no corpo aquático.

O QR_{amb} foi calculado considerando o valor de PNEC mais restritivo encontrado na literatura para cada contaminante investigado (Tabela 40).

Para a avaliação do risco ambiental, todos os analitos quantificados foram avaliados, os resultados estão compilados na Figura 26.

Tabela 40. Valores de PNEC utilizados para o cálculo de risco ambiental

Analito	PNEC (ng L ⁻¹)	Referência PNEC
ATN	77000	(Minguez et al., 2016)
ATZ	44	(Zheng et al., 2017)
BPA	60	(You et al., 2015)
CAF	720	(Gheorghe et al., 2016)
CFB	4200	(Tauxe-Wuersch et al., 2005)
CMZ	400	(Gheorghe et al., 2016)

Analito	PNEC (ng L ⁻¹)	Referência PNEC
DEET	5200	(You et al., 2015)
DFN	50	(Bouissou-Schurtz et al., 2014)
E1	18	(Lin et al., 2008)
E2	0,87	(Vestel et al., 2016)
E3	0,8	(Lin et al., 2008)
EE2	0,035	(Vestel et al., 2016)
GFB	7000	(Minguez et al., 2016)
IBU	10	(Bouissou-Schurtz et al., 2014)
MEF	430	(Tauxe-Wuersch et al., 2005)
NIC	2400	(Valcárcel et al., 2011)
PXT	100000	(Valcárcel et al., 2011)
SMX	200	(Vestel et al., 2016)
TCS	100	(You et al., 2015)

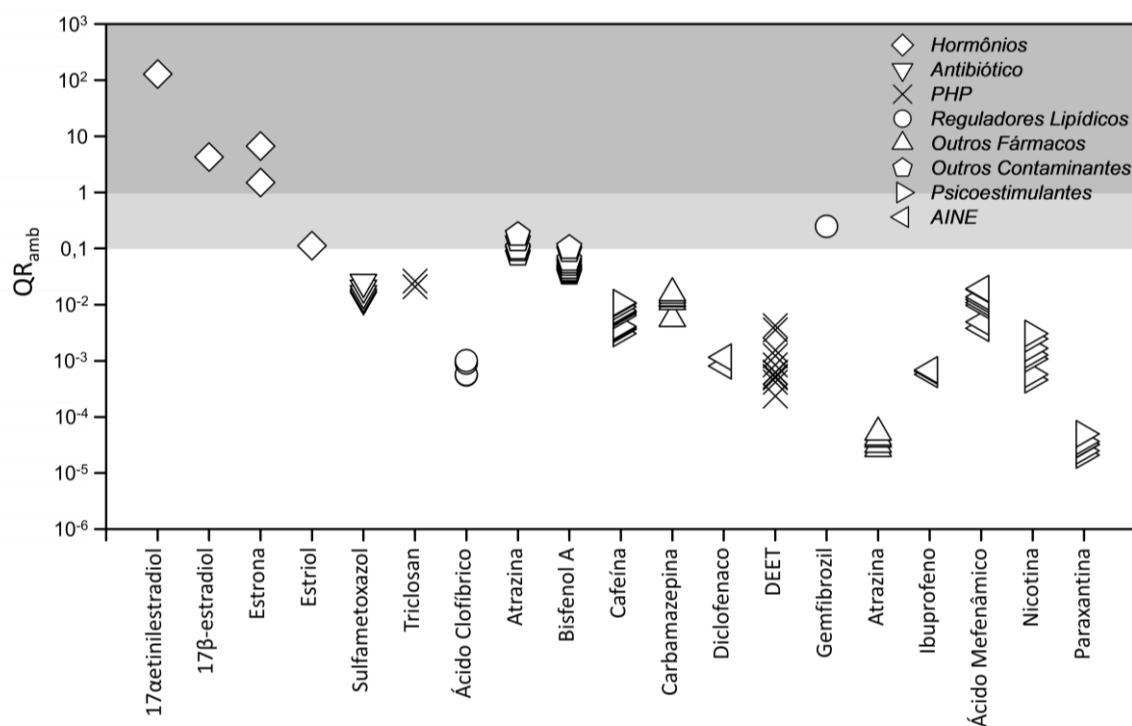


Figura 26. Avaliação de risco ambiental segundo dados obtidos de QR_{amb} para cada analito quantificado.

Observa-se na Figura 26 que dentre os 94 valores reportados acima de LOQ para todas as substâncias investigadas, 84 apresentam QR_{amb} menor que 0,1,

indicando ausência de risco. Seis apresentam QR_{amb} entre 0,1 e 1, indicando a necessidade de mais estudos, e quatro apresentaram risco, que requerem uma avaliação detalhada ($QR_{amb} > 1,0$).

Todas as quatro ocorrências com QR_{amb} maiores que 1, se referem aos hormônios. Esses dados são especialmente preocupantes, pois o potencial estrogênico destas substâncias é considerável, sendo fundamental uma análise mais detalhada acerca da presença destes micropoluentes (Kolpin et al., 2002). Sodré (2018) apresenta uma compilação de resultados gerados no Brasil entre 1999 a 2017 sobre a presença de micropoluentes emergentes em águas superficiais, notadamente produtos farmacêuticos e de higiene pessoal. Neste trabalho, Sodré (2018) apresenta uma avaliação de risco ambiental no qual mostra que hormônios e antibióticos devem ser priorizados para garantir o uso de água para proteção da vida aquática. A maioria dos QR_{amb} calculados para os hormônios EE2, E2 e E3 são da ordem de 1000 a 10000.

As seis ocorrências que apresentaram a necessidade de mais estudos referem-se a quatro analitos (E3, BPA, ATZ e GFB). E3 e BPA possuem ação estrogênica (Bittner et al., 2014). A ATZ pode ser degradar e formar metabólitos que são tóxicos e persistentes no ambiente, os principais metabólitos são a hidroxiatrazina e dietilatrazina (Acero et al., 2000). Em ambientes aquáticos, a exposição a ATZ pode provocar a diminuição na quantidade de oxigênio dissolvido, devido a diminuição da produção primária (Graymore et al., 2001). Em um estudo de toxicidade do GFB em ambientes aquáticos Zurita e colaboradores 2007 exploraram a resposta obtida para diferentes espécies aquáticas, *Vibrio fischeri* (bactéria), *Chlorella vulgaris* (alga), *Daphnia magna* (crustáceo) e *Poeciliopsis lucida* (peixe), e concluíram que o GFB foi prejudicial, pois inibiu a proliferação da alga *C. Vulgaris* e diminuiu a bioluminescência da bactéria *Vibrio Fischeri*, dentre outros efeitos.

3.5.7.2 Avaliação de risco à saúde humana

O risco à saúde humano foi avaliado calculando-se o Quociente de Risco (QR_{hum}) comparando as concentrações obtidas das substâncias químicas alvo na água potável com um critério de qualidade da água (VMP) calculado usando a equação:

$$VMP = \frac{IDA \times P \times F}{C} \quad (20)$$

onde *IDA* é a ingestão diária aceitável, em mg kg⁻¹, *F* é o fator de alocação considerando a porcentagem do contaminante ingerido através do consumo de água, *P* é o peso corporal e *C* é o consumo diário de água. Os valores padrão para *F* (20%), *P* (60 kg) e *C* (2 L) foram usados considerando o consumo de água para um adulto de acordo com as diretrizes para a qualidade da água potável. (WHO, 2011)

Os valores de QR_{hum} foram calculados utilizando os menores valores de *VMP* propostos na literatura, caso o *VMP* não estivesse disponível, os mesmos foram calculados a partir do menor valor de *NOAEL* encontrado na literatura, e calculando-se o valor de *IDA*, usando a equação:

$$IDA = \frac{NOAEL}{FI} \quad (21)$$

onde *FI* corresponde ao fator de incerteza referente ao dado toxicológico.

Das substâncias quantificadas somente duas (DEET e MEF) não apresentaram, no melhor de nosso conhecimento, valores de *VMP* descritos na literatura. Assim, para o cálculo de *VMP* destas substâncias foram utilizados o menores valores de *NOAEL* encontrados na literatura. O valor do fator de incerteza utilizado foi de 1000.

Os valores utilizados de *VMP* e *NOAEL* e respectivas referências estão apresentadas na Tabela 41.

Para a avaliação do risco à saúde humana, todos os analitos quantificados foram avaliados, os resultados estão compilados na Figura 27.

Tabela 41. Valores de VMP e NOAEL utilizados para o cálculo de risco à saúde humana

Analito	VMP (ng L ⁻¹)	Dados de NOAEL e FI ^a	Referência VMP, IDA ou NOAEL
ATN	11000	-	(Gaffney et al., 2015)
ATZ	3000	-	(MDH, 2018)
BPA	2x10 ⁵	-	(MDH, 2018)
CAF	350	-	(Riva et al., 2018)
CFB	1,25x10 ⁶	-	(Riva et al., 2018)
CMZ	1520	-	(Gaffney et al., 2015)
DEET	1,5x10 ⁶	NOAEL = 25 mg kg ⁻¹ FI = 1000	(US EPA, 2004)
DFN	6700	-	(Gaffney et al., 2015)
E1	350	-	(US EPA, 2016)
E2	0,9	-	(US EPA, 2016)
E3	350	-	(US EPA, 2016)
EE2	0,2	-	(MDH, 2018)
GFB	5400	-	(Gaffney et al., 2015)
IBU	4,5x10 ⁶	-	(Gaffney et al., 2015)
MEF	1,5x10 ⁶	NOAEL = 5 mg kg ⁻¹ FI = 1000	(Pfizer, 2007)
NIC	2800	-	(Riva et al., 2018)
PXT*	350*	-	-
SMX	1x10 ⁶	-	(MDH, 2018)
TCS	5,0x10 ⁵	-	(MDH, 2018)

^aDados utilizados no cálculo de VMP, caso valores de VMP não estivessem disponíveis.

*Metabólito CAF

Não foram encontrados valores de IDA ou dados toxicológicos para a PXT. Para se realizar o cálculo de QR_{hum} para esta substância, utilizou-se o valor de VMP da CAF, visto que a PXT é o principal metabólito. Este tipo de consideração pode ser feita com ressalvas, uma vez que a toxicidade dos metabólitos pode ser superior à substância base.

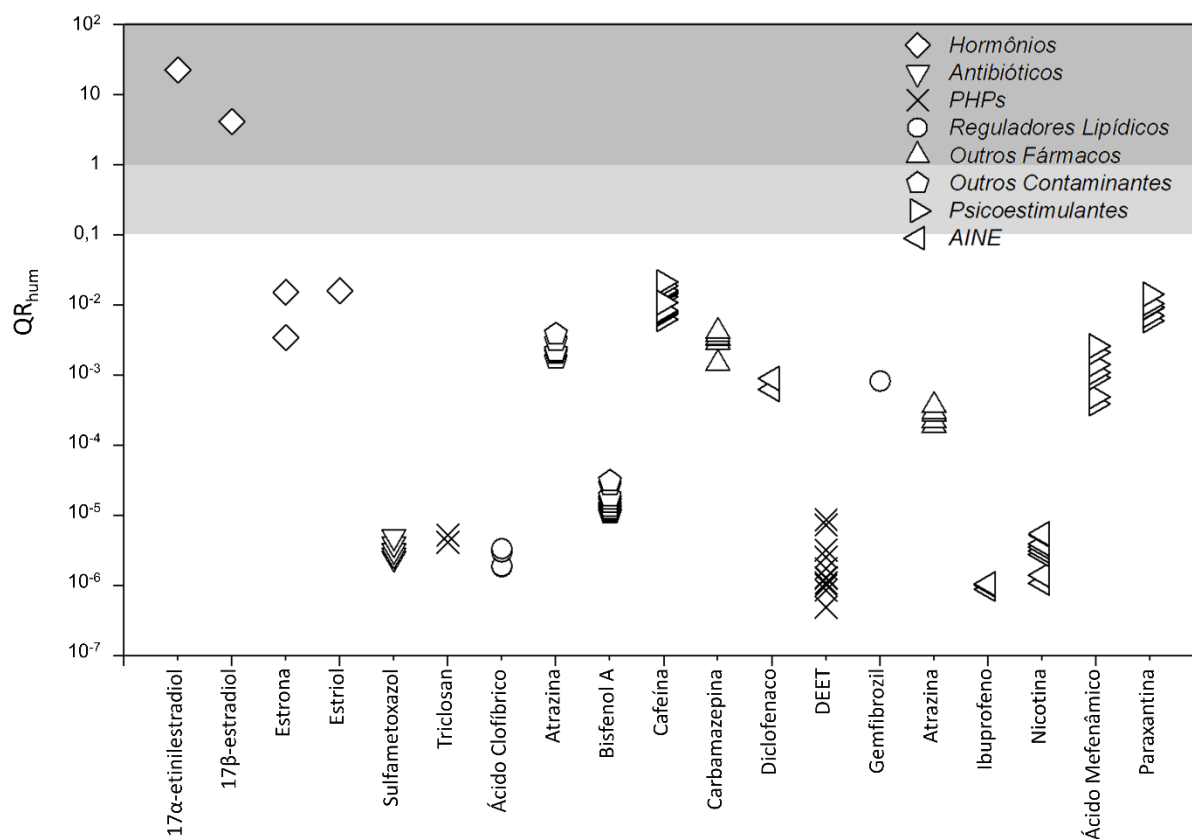


Figura 27. Avaliação de risco a saúde humana conforme resultados obtidos de QR_{hum} para cada analito investigado

De acordo com os dados obtidos na Figura 27, do total de 94 ocorrências, 92 apresentaram ausência de risco ($QR_{hum} < 0,1$) e duas apresentaram risco ($QR_{hum} > 1,0$).

Para análise do risco à saúde humana quanto a presença do E2 e do EE2, únicos analitos que apresentaram QR_{hum} acima de 1, foram avaliados outros valores de VMP disponíveis na literatura para fins de comparação, uma vez que estes critérios podem ser calculados a partir de diferentes dados toxicológicos e valores de IDA.

Segundo o Conselho de Proteção ao Meio Ambiente da Austrália, o VMP para o E2 e para o EE2 são de 175 e 1,5 ng L⁻¹, respectivamente (Australia, 2008). Caldwell e colaboradores (2010) reportam valores de IDA para E2 e EE2 de 0,02 e 0,007 µg pessoa⁻¹ dia⁻¹, de onde podemos calcular os valores de VMP, 2 e 0,7 ng L⁻¹. Flöter e colaboradores (2016) reportam valores de IDA de 0,05 µg kg⁻¹ d⁻¹ para o E2, o que permite calcular um VMP de 300 ng L⁻¹. Lampard e colaboradores (2010) reportam

valores de IDA para o EE2 de $0,003 \mu\text{g pessoa}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, obtendo-se um valor de VMP de $0,3 \text{ ng L}^{-1}$.

Compilando as avaliações de risco usando diferentes valores calculados e obtidos para estas duas substâncias é possível proceder uma avaliação mais detalhada do risco, conforme mostra a Figura 28.

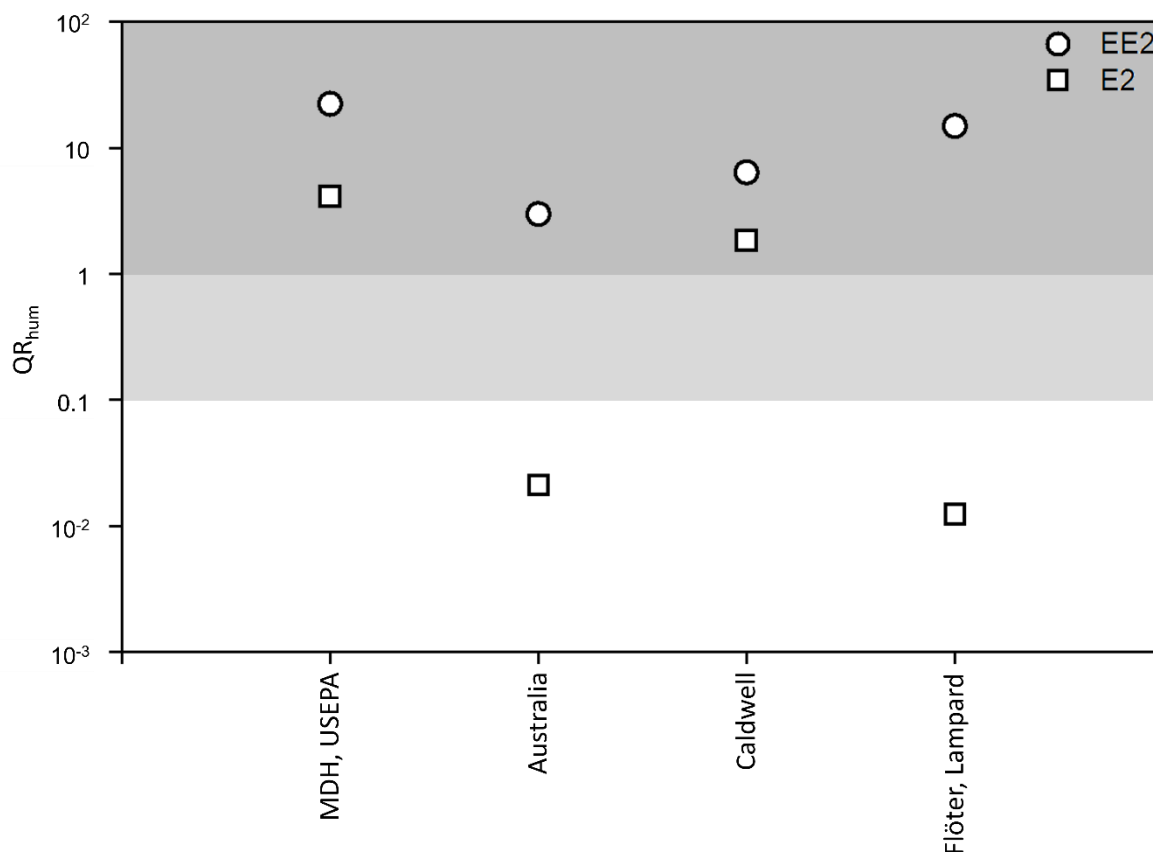


Figura 28. Avaliação de risco a saúde humana para E2 e EE2 comparando-se diferentes valores de VMP propostos para estas substâncias.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 28, observa-se que o EE2 apresentou risco à saúde humana em qualquer critério de qualidade disponível, enquanto que a avaliação do risco do E2 depende do valor de referência utilizado.

Ambos os analitos foram quantificados na amostra da ETA Lago Norte, o que indica a necessidade de uma avaliação aprofundada nas águas do Lago Paranoá e na água tratada a partir deste corpo aquático. Silva (2015) reportou concentrações de 591 ng L^{-1} de EE2 na saída dos efluentes das ETE localizadas no Lago Paranoá. Evidentemente, os locais onde os efluentes das ETE são introduzidos nas águas do Lago Paranoá deverão ter concentrações mais elevadas dessa substância do que em

outras áreas mais distantes, onde a diluição e processos de autodepuração reduziriam os níveis de concentração. Uma hipótese para a ocorrência dessas substâncias em água para consumo humano, visto que a ETA Lago Norte retira água do Lago Paranoá em uma região distante da introdução dos efluentes das ETE, seria uma possível contaminação causada por uma fonte pontual perto da captação.

A maioria dos analitos avaliados apresentou concentrações muito abaixo das doses utilizadas para fins terapêuticos. Por exemplo, com uma dose terapêutica única mínima de CMZ de 100 mg, uma pessoa precisaria beber cerca de 16000 mil litros de água que contém a concentração máxima reportada de CMZ neste trabalho, ou seja, 6,41 ng L⁻¹, para ingerir a dose terapêutica. Por outro lado, a dose terapêutica não deve ser o único critério para avaliação de risco.

Até o momento, com os conhecimentos atuais, não há evidências de que a exposição a baixas concentrações de produtos farmacêuticos, através da água tratada, prejudique a saúde humana. No entanto, a maioria dos dados provêm dos estudos de toxicidade aguda para substâncias farmacêuticas individuais e pouco se sabe sobre potenciais efeitos na saúde associados à ingestão crônica de longo prazo de baixas concentrações através da água tratada (Schriks et al., 2010). Além disso, estudos de avaliação de risco sobre o impacto à saúde humana de produtos farmacêuticos geralmente têm adultos saudáveis como população alvo, mas não levam em consideração populações mais sensíveis, como crianças, mulheres grávidas e feto, e pessoas alérgicas (Barceló, 2012).

Embora o risco para a saúde decorrente da exposição a produtos farmacêuticos na água para consumo humano pareça ser pequeno, é necessária uma avaliação mais aprofundada para compreender adequadamente esta questão. Além disso, em águas urbanas existem outras substâncias orgânicas em níveis traço, dentre os quais uma variedade de subprodutos, que ocorrem concomitantemente. Assim, avaliar os efeitos de uma mistura de produtos farmacêuticos, seus metabolitos e/ou produtos de transformação presentes em água torna-se uma tarefa importante, mesmo que desafiadora. Uma forma para avaliar o risco acumulado decorrente da presença de todos os analitos quantificados em amostras de água para consumo humano é utilizar a abordagem proposta por Riva et al., que consiste no somatório dos QR_{hum} para calcular o Índice de Risco (IR). (Riva et al., 2018)

IR é calculado a partir dos QR_{hum} individuais de todas as substâncias quantificadas em uma amostra, se o resultado for inferior a 1, o risco para a saúde humana resultante da co-exposição aos contaminantes emergentes nos níveis medidos é considerado insignificante. Se o resultado for superior a 1, não significa um risco imediato para a saúde humana, mas indica uma avaliação de risco mais detalhada para refinar o índice.

$$IR = \sum_{i=1}^n QR_{hum_i} \quad (22)$$

O cálculo do IR não leva em consideração efeitos sinérgicos e antagônicos relacionados a presença das diversas substâncias em uma amostra, por isso esse índice é considerado uma ferramenta para diagnóstico inicial, não sendo recomendado utiliza-lo para fins regulatórios. Os resultados calculados para o índice de risco de cada amostra estão apresentados na Figura 29.

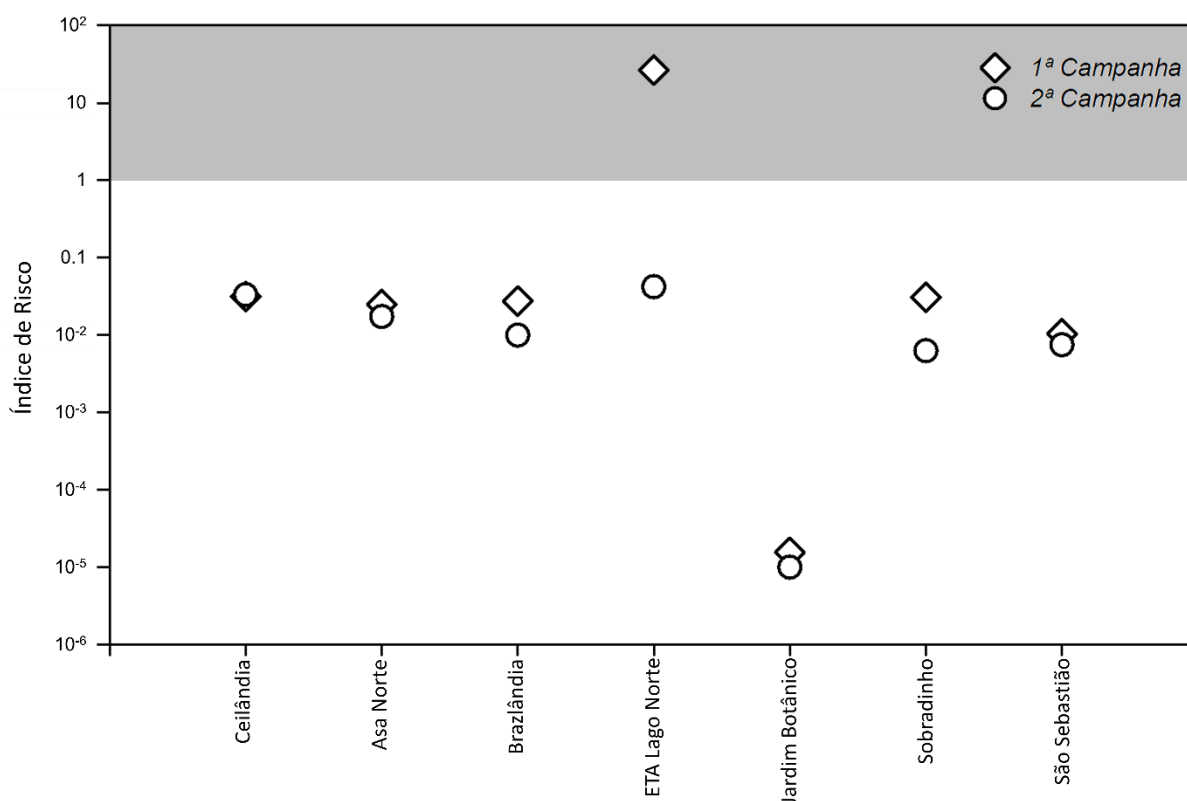


Figura 29. Índice de Risco para cada amostra analisada neste trabalho

De acordo com os resultados apresentados na Figura 29, somente a amostra da primeira campanha referente a ETA Lago Norte apresentou índice de risco superior a

1, indicando a necessidade de pesquisas adicionais. Este resultado se deve principalmente aos QR_{hum} dos hormônios EE2 e E2 encontrados nessa amostra que foram superiores a 1 conforme apresentado na Figura 27. É importante mencionar que na 1ª campanha de coleta ETA Lago Norte, estava em fase de pré-operação.

3.6 CONCLUSÕES

Neste capítulo foi apresentado o desenvolvimento de um método analítico voltado a investigar a presença de 35 micropoluentes emergentes na água para consumo humano do DF empregando extração em fase sólida seguida de análises por LC-MS/MS(Q-TOF). A maioria dos analitos investigados pertencem a classe dos fármacos já que estas substâncias apresentam características que as tornam prioritárias no que diz respeito a avaliação de risco a saúde humana, uma vez que são produzidas e consumidas em grandes quantidades e notadamente concebidas para provocar efeitos diversos em organismos vivos.

O desenvolvimento do método envolveu a otimização da etapa de extração em fase sólida, por meio de um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} . A partir deste planejamento, foram selecionadas as condições ótimas para extração de cada analito investigado, ajustando o pH da amostra em três diferentes níveis. Após a seleção das condições ótimas de extração, foram realizados novos ensaios de recuperação. Dentre os 35 micropoluentes investigados, 14 apresentaram recuperações na faixa entre 90 e 101%, 11 na faixa entre 80 e 89%, oito na faixa entre 70 e 79% e dois entre 65 e 69%. Todos os coeficientes de variação foram inferiores a 10%, sendo que o CV médio, considerando todos os resultados, foi de 5,8%.

O método foi aplicado em amostras de água para consumo humano no DF, sendo que 20 micropoluentes emergentes foram detectados. As concentrações reportadas acima de LOQ variaram entre 1,20 e 21,98 ng L⁻¹, sendo o nível mais baixo encontrado para E1 e o mais elevado para o DEET.

Na amostra da estação de tratamento de água emergencial do Lago Norte (ETA-Lago Norte), que passou a captar água do Lago Paranoá em outubro de 2017, foram encontradas 18 substâncias.

Com os resultados obtidos foram realizadas avaliações de risco ambiental e para saúde humana. A avaliação do risco ambiental baseou-se na relação PEC/PNEC

considerando que os níveis encontrados na água para consumo humano são iguais ao encontrados no manancial respectivo (PEC). Dentre os 19 analitos quantificados neste trabalho, cinco apresentaram a necessidade de mais estudos e três apresentaram risco à vida aquática. A avaliação de risco a saúde humana baseou-se na relação da concentração do analito na amostra de água para consumo humano em comparação a critérios de qualidade da água propostos na literatura. Dos 19 analitos, dois apresentaram risco elevado.

Tanto na avaliação de risco ambiental quanto na de risco a saúde humana, os hormônios foram aqueles que apresentaram maiores riscos, especialmente o EE2 e o E2. Tendo-se em vista estes resultados se faz necessário a realização de mais campanhas amostrais para se obter uma maior quantidade de dados, para se ter uma resposta mais definitiva em relação a presença e quantidades das substâncias avaliadas.

De acordo com as demandas científicas proposto no projeto da FUNASA, do qual este trabalho faz parte, foram atendidas satisfatoriamente as necessidades de se estabelecer um método para quantificação de micropoluentes emergentes (35 substâncias), aplicando-o em amostras de água para consumo humano no DF, e propor uma estratégia para avaliação dos riscos ambientais e à saúde humana quanto a presença destas substâncias.

Finalmente, os resultados obtidos neste trabalho apresentam um diagnóstico preliminar quanto a presença de micropoluentes emergentes em água para consumo humano fornecida à população do DF. Espera-se que estes resultados possam subsidiar discussões no sentido de estabelecer uma legislação regulatória, visando a implementação de sistemas de monitoramento, que permita definir critérios de qualidade da água tanto para a proteção da vida aquática quanto da saúde humana.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A ocorrência de micropoluentes ambientais em águas superficiais e para consumo humano, desencadeou uma apreciação da vulnerabilidade do ciclo da água sob estresse pelo uso excessivo de água e uma população crescente e demograficamente envelhecida, que está se tornando cada vez mais dependente de produtos farmacêuticos e produtos de higiene pessoal.

O interesse pelo tópico de micropoluentes emergentes e seus efeitos no meio ambiente e a saúde humana, certamente deverá aumentar a conscientização do público quanto à interconexão entre as escolhas de estilo de vida e a saúde ambiental e humana. Assim, a busca de conhecimento sobre o impacto de micropoluentes emergentes na água para consumo humano irá continuar.

Dentro desta perspectiva, as demandas científicas propostas no projeto da FUNASA, foram atendidas satisfatoriamente. Foi desenvolvido uma estratégia para priorização de mananciais e o estabelecimento de um método multirresíduos (35 substâncias) para determinação de micropoluentes emergentes em água para consumo humano.

Espera-se que os dados obtidos neste trabalho, possam servir de base para a realização de pesquisas futuras, e também possam colaborar com a construção de um banco de dados acerca da ocorrência de inúmeros micropoluentes de interesse recente na água para consumo humano do Brasil e do mundo.

Tendo em vista a crise hídrica presente em muitas regiões do Brasil, e também no DF, espera-se também, que em um futuro próximo, o Brasil também tenha que investir na reutilização de água, para combater a escassez. Assim, é fundamental criar programas de monitoramento da qualidade da água e legislações restritivas quanto a presença destes micropoluentes, além é claro, da necessidade de se investir em técnicas avançadas de tratamento de esgoto e de água. Por outro lado, também é necessário investimento na conscientização do público frente a estes problemas, o que poderá levar a uma mudança de hábitos e um estilo de vida mais sustentável.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acero, J.L., Stemmler, K., Von Gunten, U., 2000. Degradation kinetics of atrazine and its degradation products with ozone and OH radicals: A predictive tool for drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* 34, 591–597. doi:10.1021/es990724e
- Aherne, G.W., Briggs, R., 1989. The relevance of the presence of certain synthetic steroids in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.* 41, 735–736. doi:10.1111/j.2042-7158.1989.tb06355.x
- Alegre, H., Coelho, S.T., Almeida, M. do C., Vieira, P., 2005. Controlo de perdas de água em sistemas públicos de adução e distribuição. *Série guias técnicos* 3.
- Américo, J.H.P., Torres, N.H., Américo, G.H.P., Carvalho, S.L. de, 2013. OCORRÊNCIA, DESTINO E POTENCIAIS IMPACTOS DOS FÁRMACOS NO AMBIENTE. *SaBios-Revista Saúde e Biol.* v. 8, n. 2.
- ANVISA, 2017. Ministério da Saúde (MS) - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. *Diário Of. [da] República Fed. do Bras.* 2017, 22.
- Aquino, S.F. De, Brandt, E.M.F., Chernicharo, C.A. de L., 2013. Remoção de fármacos e desreguladores endócrinos em estações de tratamento de esgoto: revisão da literatura. *Rev. Eng. Sanitária e Ambient.* 187–204. doi:10.1590/S1413-41522013000300002
- Araújo, S., 2014. Desenvolvimento e validação de um método analítico (SPE - HPLC) para determinação de compostos emergentes em águas superficiais. University of Ceará.
- AUSTRALIA, 2008. Australian guidelines for water recycling: Managing health and environmental risks (Phase 2) Augmentation of drinking water supplies, National Water Quality Management Strategy. Australia.
- Baertschi, S.W., Alsante, K.M., Reed, R.A., 2011. *Pharmaceutical Stress Testing: Predicting Drug Degradation*, Igarss 2014.
- Barceló, D., 2012. Emerging Organic Contaminants and Human Health, *The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-28132-7
- Benfica, S.R., Francisco, B., Lacerda, C. De, 2017. Crise hídrica no distrito federal no panorama atual (2016-2017) 1–27.
- Benotti, M.J., Trenholm, R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Stanford, B.D., Snyder, S.A., 2009. Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in U.S. Drinking Water. *Environ. Sci. Technol.* 43, 597–603. doi:10.1021/es801845a
- Bessone, F., 2010. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: What is the actual risk of liver damage? *World J. Gastroenterol.* WJG 16, 5651.
- Bittner, G.D., Yang, C.Z., Stoner, M.A., 2014. Estrogenic chemicals often leach from BPA-free plastic products that are replacements for BPA-containing polycarbonate products. *Environ. Heal. A Glob. Access Sci. Source* 13, 1–14. doi:10.1186/1476-069X-13-41
- Bolong, N., Ismail, A.F., Salim, M.R., Matsuura, T., 2009. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination* 238, 229–246. doi:10.1016/j.desal.2008.03.020

- Bonde, S.L., Bhadane, R.P., Gaikwad, A., NARENDIRAN, A.S., GAVALI, S., Katale, D., 2013. Simultaneous determination of dapsone and its major metabolite N-acetyl dapsone by LC-MS/MS method. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci* 5, 441–446.
- Bouissou-Schurtz, C., Houeto, P., Guerbet, M., Bachelot, M., Casellas, C., Mauclair, A.C., Panetier, P., Delval, C., Masset, D., 2014. Ecological risk assessment of the presence of pharmaceutical residues in a French national water survey. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 69, 296–303. doi:10.1016/j.yrtph.2014.04.006
- Brasil, 2016. Plano Nacional de Adaptação à Mudança do Clima, Vol. II: Estratégias Geral. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- BRASIL, 2017. Conjuntura dos Recursos Hídricos no Brasil. Brasília.
- BRASIL, 2016. Diagnóstico dos serviços de água e esgotos - 2014. Brasília.
- Caesb, 2009. PROJETO BÁSICO PARA AMPLIAÇÃO DOS SISTEMAS DE ABASTECIMENTO DE ÁGUA DO DISTRITO FEDERAL UTILIZANDO COMO MANANCIAL O LAGO PARANOÁ Volume I – Memorial Descritivo. Brasília.
- CAESB, 2011. Sinopse do sistema de abastecimento de água do Distrito Federal. Brasília.
- Cahill, M.G., Caprioli, G., Stack, M., Vittori, S., James, K.J., 2011. Semi-automated liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) method for basic pesticides in wastewater effluents. *Anal. Bioanal. Chem.* 400, 587–594. doi:10.1007/s00216-011-4781-1
- Caldwell, D.J., Mastrocco, F., Nowak, E., Johnston, J., Yekel, H., Pfeiffer, D., Hoyt, M., DuPlessie, B.M., Anderson, P.D., 2010. An assessment of potential exposure and risk from estrogens in drinking water. *Environ. Health Perspect.* 118, 338–344. doi:10.1289/ehp.0900654
- Camargo, M.C.R., Toledo, M.C.F., 1998. TEOR DE CAFEÍNA EM CAFÉS BRASILEIROS. *Food Sci. Technol.*
- Canals, L.M.I., Chenoweth, J., Chapagain, A., Orr, S., Antón, A., Clift, R., 2009. Assessing freshwater use impacts in LCA: Part I - Inventory modelling and characterisation factors for the main impact pathways. *Int. J. Life Cycle Assess.* 14, 28–42. doi:10.1007/s11367-008-0030-z
- Canela, M.C., Jardim, W.F., Sodre, F.F., Grassi, M.T., 2014. Cafeína em águas de abastecimento público no Brasil.
- Cardoso, L. V., Tomasini, D., Sampaio, M.R.F., Caldas, S.S., Kleemann, N., Primel, E.G., Gonçalves, F.F., 2011. Optimization and validation of a method using SPE and LC-APCI-MS/MS for determination of pharmaceuticals in surface and public supply water. *J. Braz. Chem. Soc.* 22, 1944–1952. doi:10.1590/S0103-50532011001000016
- Castiglioni, S., Davoli, E., Riva, F., Palmiotto, M., Camporini, P., Manenti, A., Zuccato, E., 2018. Data on occurrence and fate of emerging contaminants in a urbanised area. *Data Br.* 17, 533–543. doi:https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.01.029
- Cavalcanti, C.P., 2017. CONTAMINANTES EMERGENTES NOS PRINCIPAIS MANANCIAIS UTILIZADOS NO DISTRITO FEDERAL . University of Brasilia.
- CGEE, 2016. Secas no Brasil : Política e gestão proativas.

- Cimetiere, N., Soutrel, I., Lemasle, M., Laplanche, A., Crocq, A., 2013. Standard addition method for the determination of pharmaceutical residues in drinking water by SPE–LC–MS/MS. *Environ. Technol.* 34, 3031–3041. doi:10.1080/09593330.2013.800563
- Clara, M., Strenn, B., Kreuzinger, N., 2004. 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, 947–954. doi:10.1016/j.watres.2003.10.058
- Cohen, J.C.P., Beltrão, J. da C., Gandu, A.W., Silva, R.R. da, 2007. Influência do desmatamento sobre o ciclo hidrológico na Amazônia . *Ciência e Cult.* .
- CONAMA, 2011. Resolução CONAMA 430/2011. *Diário Of. da União* 9. doi:10.1073/pnas.0703993104
- Cunningham, V.L., Perino, C., Vincent, J.D., Hartmann, A., Bechter, R., 2010. Human health risk assessment of carbamazepine in surface waters of North America and Europe. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 56, 343–351.
- de Moura, A. José, 2015. A CRISE HÍDRICA NO BRASIL : A água como elemento raro e caro . 1–14.
- Fan, Z., Hu, J., An, W., Yang, M., 2013. Detection and occurrence of chlorinated byproducts of bisphenol a, nonylphenol, and estrogens in drinking water of China: Comparison to the parent compounds. *Environ. Sci. Technol.* 47, 10841–10850. doi:10.1021/es401504a
- Fatta, D., Nikolaou, A., Achilleos, A., Meric, S., 2007. Analytical methods for tracing pharmaceutical residues in water and wastewater 26. doi:10.1016/j.trac.2007.02.001
- Ferreira, A.P., de Lourdes, C., da Cunha, N., 2005. Anthropogenic pollution in aquatic environment: Development of a caffeine indicator. *Int. J. Environ. Health Res.* 15, 303–311. doi:10.1080/09603120500155898
- Ferrer, I., Thurman, E.M., 2013. Chapter 4 - Analysis of Pharmaceuticals in Drinking Water, Groundwater, Surface Water, and Wastewater, in: Petrovic, M., Barcelo, D., Pérez, S.B.T.-C.A.C. (Eds.), *Analysis, Removal, Effects and Risk of Pharmaceuticals in the Water Cycle*. Elsevier, pp. 91–128. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62657-8.00004-5
- Flöter, V.L., Galateanu, G., Fürst, R.W., Seidlová-Wuttke, D., Wuttke, W., Möstl, E., Hildebrandt, T.B., Ulbrich, S.E., 2016. Sex-specific effects of low-dose gestational estradiol-17 β exposure on bone development in porcine offspring. *Toxicology* 366–367, 60–67. doi:10.1016/j.tox.2016.07.012
- Fong, P.P., 1998. Zebra Mussel Spawning Is Induced in Low Concentrations of Putative Serotonin Reuptake Inhibitors. *Biol. Bull.* 194, 143–149. doi:10.2307/1543044
- Freitas, M.B., Costa, P.R., JO, B., Vieira, E.P., Maia, P.P., Elisa, M., Siqueira, P.B., 2009. Amitriptilina e Nortriptilina em Plasma: Extração em Fase Sólida por Polímeros de Impressão Molecular e Sílica Octadecila para Análise Cromatográfica em Fase Líquida de Alta Resolução. *Lat. Am. J. Pharm* 28, 70–79.
- Fritz, J.S., 2000. *Solid-Phase Extraction: Principles, Techniques and Applications* Edited by Nigel J. K. Simpson (Varian Associates). Dekker: New York and Basel. 2000. xi + 514 pp. \$195.00. ISBN 0-8247-09021-X. *J. Am. Chem. Soc.* 122, 12411–12412.

doi:10.1021/ja0047976

- Froehner, S., Souza, D.B., Machado, K.S., da Rosa, E.C., 2010. Tracking Anthropogenic Inputs in Barigui River, Brazil Using Biomarkers. *Water, Air, Soil Pollut.* 210, 33–41. doi:10.1007/s11270-009-0220-8
- Gaffney, V., Almeida, C.M.M., Rodrigues, A., Ferreira, E., Benoliel, M.J., Cardoso, V.V., 2015. Occurrence of pharmaceuticals in a water supply system and related human health risk assessment. *Water Res.* 72, 199–208. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.027
- Garcia-Rodríguez, A., Sagristà, E., Matamoros, V., Fontàs, C., Hidalgo, M., Salvadó, V., 2014. Determination of pharmaceutical compounds in sewage sludge using a standard addition method approach. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 94, 1199–1209.
- Gardinali, P.R., Zhao, X., 2002. Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography--atmospheric pressure chemical ionization--mass spectrometry (LC-APCI-MS). *Environ. Int.* 28, 521–528.
- Gheorghe, S., Petre, J., Lucaciu, I., Stoica, C., Nita-Lazar, M., 2016. Risk screening of pharmaceutical compounds in Romanian aquatic environment. *Environ. Monit. Assess.* 188. doi:10.1007/s10661-016-5375-3
- Gonçalves, E.S., Rodrigues, S.V., Silva-Filho, E.V. da, 2017. The use of caffeine as a chemical marker of domestic wastewater contamination in surface waters: seasonal and spatial variations in Teresópolis, Brazil. *Rev. Ambient. Água* 12, 192–202. doi:10.4136/ambi-agua.1974
- Graymore, M., Stagnitti, F., Allinson, G., 2001. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems. *Environ. Int.* 26, 483–495. doi:10.1016/S0160-4120(01)00031-9
- Grimm, A.M., Ferraz, S.E.T., Gomes, J., 1998. Precipitation Anomalies in Southern Brazil Associated with El Niño and La Niña Events. *J. Clim.* 11, 2863–2880. doi:10.1175/1520-0442(1998)011<2863:PAISBA>2.0.CO;2
- Guasch, H., Ginebreda, A., Geiszinger, A., 2012. Emerging and Priority Pollutants in Rivers, *The Handbook of Environmental Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. doi:10.1007/978-3-642-25722-3
- Halden, R.U., 2015. Epistemology of Contaminants of Emerging Concern and Literature Meta-analysis. *J. Hazard. Mater.* 0, 2–9. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.08.074
- Harris, D.C., 2007. *Quantitative chemical analysis*. Seventh edition. New York : W.H. Freeman and Co., [2007] ©2007.
- Harris, D.C., Lucy, C.A., 2015. *Quantitative Chemical Analysis*, Ninth Edit. ed. Kate Parker, New York.
- Heberer, T., 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol. Lett.* 131, 5–17. doi:10.1016/S0378-4274(02)00041-3
- Heberer, T., Stan, H.-J., 1997. Determination of Clofibric Acid and N-(Phenylsulfonyl)-Sarcosine in Sewage, River and Drinking Water. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 67, 113–124. doi:10.1080/03067319708031398

- Hernández, F., Ibáñez, M., Bade, R., Bijlsma, L., Sancho, J. V., 2014. Investigation of pharmaceuticals and illicit drugs in waters by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry. *TrAC - Trends Anal. Chem.* 63, 140–157. doi:10.1016/j.trac.2014.08.003
- Herrin, G.L., McCurdy, H.H., Wall, W.H., 2005. Investigation of an LC-MS-MS (QTrap) method for the rapid screening and identification of drugs in postmortem toxicology whole blood samples. *J. Anal. Toxicol.* 29, 599–606.
- Hillebrand, O., Nödler, K., Licha, T., Sauter, M., Geyer, T., 2012. Caffeine as an indicator for the quantification of untreated wastewater in karst systems. *Water Res.* 46, 395–402. doi:10.1016/j.watres.2011.11.003
- Hirsch, R., Ternes, T.A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F., Kratz, K.L., 1998. Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 815, 213–223. doi:10.1016/S0021-9673(98)00335-5
- Hommen, U., Baveco, J.M.H., Galic, N., van den Brink, P.J., 2010. Potential application of ecological models in the European environmental risk assessment of chemicals. I. Review of protection goals in EU directives and regulations. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 6, 325–337. doi:10.1002/ieam.69
- Huerta-fontela, M., Teresa, M., Ventura, F., 2010. Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. *Water Res.* 45, 1432–1442. doi:10.1016/j.watres.2010.10.036
- INMETRO, 2007. Orientação Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos - DOQ-CGCRE-008. *Inst. Nac. Metrol. e Norm. e Qual. Ind.* 25.
- Jardim, W.F., Montagner, C.C., Pescara, I.C., Umbuzeiro, G.A., Marcela, A., Dea, D., Eldridge, M.L., Sodré, F.F., 2012. An integrated approach to evaluate emerging contaminants in drinking water. *Sep. Purif. Technol.* 84, 3–8. doi:10.1016/j.seppur.2011.06.020
- Jelic, A., Gros, M., Ginebreda, A., Cespedes-Sánchez, R., Ventura, F., Petrovic, M., Barcelo, D., 2011. Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water Res.* 45, 1165–1176.
- Khetan, S.K., Collins, T.J., 2007. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a challenge to green chemistry. *Chem. Rev.* 107, 2319–2364.
- Kidd, K.A., Blanchfield, P.J., Mills, K.H., Palace, V.P., Evans, R.E., Lazorchak, J.M., Flick, R.W., 2007. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 8897 LP-8901.
- Kihara, Eliane, Orlando, Marcelo, Carvalho Cassius, A., 2013. O setor farmacêutico no Brasil, [www.pwc.com.br Panorama](http://www.pwc.com.br/Panorama). doi:10.5700/rausp1110
- Kim, S.D., Cho, J., Kim, I.S., Vanderford, B.J., Snyder, S.A., 2007. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Res.* 41, 1013–1021. doi:10.1016/j.watres.2006.06.034
- Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202–

1211. doi:10.1021/es011055j

Komori, K., Suzuki, Y., Minamiyama, M., Harada, A., 2013. Occurrence of selected pharmaceuticals in river water in Japan and assessment of their environmental risk. *Environ. Monit. Assess.* 185, 4529–4536. doi:10.1007/s10661-012-2886-4

Kostiainen, R., Kauppila, T.J., 2009. Effect of eluent on the ionization process in liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1216, 685–699. doi:10.1016/j.chroma.2008.08.095

Kumar, A., Chang, B., Xagorarakis, I., 2010. Human health risk assessment of pharmaceuticals in water: Issues and challenges ahead. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 7, 3929–3953. doi:10.3390/ijerph7113929

Kumar, A., Xagorarakis, I., 2010. Human health risk assessment of pharmaceuticals in water: an uncertainty analysis for meprobamate, carbamazepine, and phenytoin. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 57, 146–156. doi:10.1016/j.yrtph.2010.02.002

Kummerer, K., 2001. Introduction: Pharmaceuticals in the Environment, Pharmaceuticals in the Environment; Sources, Fate, Effects, and Risks. doi:10.2146/ajhp050123

Kümmerer, K., 2008. *Pharmaceuticals in the Environment*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. doi:10.1007/978-3-540-74664-5

Kuster, A., Adler, N., 2014. Pharmaceuticals in the environment: scientific evidence of risks and its regulation. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 369, 20130587–20130587. doi:10.1098/rstb.2013.0587

Kuster, A., Alder, A., Escher, B., Duis, K., Fenner, K., Garric, J., Hutchinson, T., Lapen, D., Péry, A., Rombke, J., Snape, J., Ternes, T., Topp, E., Wehrhan, A., Knacker, T., 2009. Environmental Risk Assessment of Human Pharmaceuticals in the European Union: A Case Study with the B-Blocker Atenolol. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 6, 514–523. doi:10.1897/IEAM

Lampard, J., Leusch, F., Roiko, A., Chapman, H., 2010. Contaminants of concern in recycled water. *Water*.

Lee, K.E., Barber, L.B., Furlong, E.T., Cahill, J.D., Kolpin, D.W., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., 2004. Presence and distribution of organic wastewater compounds in wastewater, surface, ground, and drinking waters, Minnesota, 2000-02. *US Geol. Surv. Sci. Investig. Rep.* 5138.

Leung, H.W., Jin, L., Wei, S., Tsui, M.M.P., Zhou, B., Jiao, L., Cheung, P.C., Chun, Y.K., Murphy, M.B., Lam, P.K.S., 2013. Pharmaceuticals in tap water: human health risk assessment and proposed monitoring framework in China. *Environ. Health Perspect.* 121, 839.

Lin, A.Y.C., Yu, T.H., Lin, C.F., 2008. Pharmaceutical contamination in residential, industrial, and agricultural waste streams: Risk to aqueous environments in Taiwan. *Chemosphere* 74, 131–141. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.08.027

Linden, R., Antunes, M. V, Heinzelmann, L.S., Fleck, J.D., Staggemeier, R., Fabres, R.B., Vecchia, A.D., Nascimento, C.A., Spilki, F.R., 2015. Caffeine as an indicator of human fecal contamination in the Sinos River: a preliminary study. *Brazilian J. Biol.* 75, 81–84. doi:10.1590/1519-6984.0513

- Lorz, C., Makeschin, F., Weiss, H., 2014. Integrated Water Resource Management in Brazil. IWA Publishing.
- Macedonio, F., Drioli, E., 2017. Sustainable Membrane Technology for Water and Wastewater Treatment. doi:10.1007/978-981-10-5623-9
- Machado, K.C., Grassi, M.T., Vidal, C., Pescara, I.C., Jardim, W.F., Fernandes, A.N., Sodré, F.F., Almeida, F. V., Santana, J.S., Canela, M.C., Nunes, C.R.O., Bichinho, K.M., Severo, F.J.R., 2016. A preliminary nationwide survey of the presence of emerging contaminants in drinking and source waters in Brazil. *Sci. Total Environ.* 572, 138–146. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.07.210
- Marengo, J.A., 2008. Água e mudanças climáticas. *Estud. avançados* 22.
- Marengo, J.A., Nobre, C.A., Seluchi, M.E., Cuartas, A., Alves, L.M., Mendiondo, E.M., Obregón, G., Sampaio, G., 2015. A seca e a crise hídrica de 2014-2015 em São Paulo. *Rev. USP* 31. doi:10.11606/issn.2316-9036.v0i106p31-44
- MDH, 2018. Minnessota Department of Health -Human Health-Based Water Guidance Table [WWW Document]. URL <http://www.health.state.mn.us/divs/eh/risk/guidance/gw/table.html> (accessed 3.1.18).
- MED-EUWI, 2007. Mediterranean wastewater reuse report.
- Melo, A., 2016. Princípios norteadores da gestão dos recursos hídricos no Brasil e no Estado de São Paulo em tempos de escassez. *Geogr. Rev. Digit. para Estud. Geogr. y Ciencias Soc.* 7, 1–14. doi:10.14198/GEOGRA2016.7.87(14)
- Miao, X.-S., Yang, J.-J., Metcalfe, C.D., 2005. Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant. *Environ. Sci. Technol.* 39, 7469–7475.
- Miege, C., Choubert, J.M., Ribeiro, L., Eusèbe, M., Coquery, M., 2009. Fate of pharmaceuticals and personal care products in wastewater treatment plants—conception of a database and first results. *Environ. Pollut.* 157, 1721–1726.
- Migowska, N., Caban, M., Stepnowski, P., Kumirska, J., 2012. Simultaneous analysis of non-steroidal anti-inflammatory drugs and estrogenic hormones in water and wastewater samples using gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography with electron capture detection. *Sci. Total Environ.* 441, 77–88.
- Minguez, L., Pedelucq, J., Farcy, E., Ballandonne, C., Budzinski, H., Halm-Lemeille, M.P., 2016. Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 4992–5001. doi:10.1007/s11356-014-3662-5
- Montagner, C.C., Umbuzeiro, G. a, Pasquini, C., Jardim, W.F., 2014. Caffeine as an indicator of estrogenic activity in source water. *Environ. Sci. Process. Impacts* 16, 10–13. doi:10.1039/c4em00058g
- Montagner, C.C., Vidal, C., Acayaba, R.D., 2017. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: Cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. *Quim. Nova* 40, 1094–1110. doi:10.21577/0100-4042.20170091
- Montagner, C.C., Vidal, C., Acayaba, R.D., Jardim, W.F., Jardim, I.C.S.F., Umbuzeiro, G.A., 2014. Trace analysis of pesticides and an assessment of their occurrence in surface

- and drinking waters from the State of São Paulo (Brazil). *Anal. Methods* 6, 6668–6677. doi:10.1039/C4AY00782D
- Mueller, C.A., Weinmann, W., Dresen, S., Schreiber, A., Gergov, M., 2005. Development of a multi-target screening analysis for 301 drugs using a QTrap liquid chromatography/tandem mass spectrometry system and automated library searching. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 1332–1338.
- Mumin, A., Akhter, K.F., Abedin, Z., Hossain, Z., 2006. Determination and characterization of caffeine in tea, coffee and soft drinks by solid phase extraction and high performance liquid chromatography (SPE–HPLC). *Malaysian J. Chem.* 8, 45–51.
- Nakamura, C.Y., Marques, E., Vilela, P., Oda, T., Lima, L., Costa, R., Azevedo, I.C., 2014. Avaliação Da qualidade da água subterrânea no entorno de um aterro sanitário. *Águas Subterrâneas* 28, 28–40.
- Niemuth, N.J., Klaper, R.D., 2015. Emerging wastewater contaminant metformin causes intersex and reduced fecundity in fish. *Chemosphere* 135, 38–45. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.03.060
- Nobre, A.D., 2014. The Future Climate of Amazonia. Scientific Assessment Report.
- Ogunseitan, O.A., 1996. Removal of caffeine in sewage by *Pseudomonas putida*: implications for water pollution index. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 12, 251–256.
- Olaniyan, L.W.B., Mkwetshana, N., Okoh, A.I., 2016. Triclosan in water, implications for human and environmental health. *Springerplus* 5, 1639.
- Oshita, D., Jardim, I.C.S.F., 2015. Comparação de métodos por cromatografia líquida na determinação de multirresíduos de agrotóxicos em morangos. *Quim. Nova* 38, 1273–1281. doi:10.5935/0100-4042.20150145
- Pal, A., Gin, K.Y.H., Lin, A.Y.C., Reinhard, M., 2010. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Sci. Total Environ.* 408, 6062–6069. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.09.026
- Pavlović, D.M., Babić, S., Dolar, D., Ašperger, D., Košutić, K., Horvat, A.J.M., Kaštelan-Macan, M., 2010. Development and optimization of the SPE procedure for determination of pharmaceuticals in water samples by HPLC-diode array detection. *J. Sep. Sci.* 33, 258–267. doi:10.1002/jssc.200900571
- Peng, F.-J., Pan, C.-G., Zhang, M., Zhang, N.-S., Windfeld, R., Salvito, D., Selck, H., Van den Brink, P.J., Ying, G.-G., 2017. Occurrence and ecological risk assessment of emerging organic chemicals in urban rivers: Guangzhou as a case study in China. *Sci. Total Environ.* 589, 46–55.
- Petrović, M., Hernando, M.D., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., 2005. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *J. Chromatogr. A* 1067, 1–14. doi:https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.10.110
- Pfizer, 2007. MATERIAL SAFETY DATA SHEET - Mefenamic Acid. doi:10.1017/CBO9781107415324.004
- Pichon, V., 1998. Multiresidue solid-phase extraction for trace-analysis of pesticides and their metabolites in environmental water. *Analisis* 26, M91–M98.

doi:10.1051/analysis:199826060091

- Pomati, F., Orlandi, C., Clerici, M., Luciani, F., Zuccato, E., 2008. Effects and interactions in an environmentally relevant mixture of pharmaceuticals. *Toxicol. Sci.* 102, 129–137. doi:10.1093/toxsci/kfm291
- Radjenovic, J., Petrovic, M., Barceló, D., 2007. Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1365–1377. doi:10.1007/s00216-006-0883-6
- Raghav, M., 2013. Contaminants of Emerging Concern in Water.
- Reddersen, K., Heberer, T., Dünnebier, U., 2002. Identification and significance of phenazone drugs and their metabolites in ground- and drinking water. *Chemosphere* 49, 539–544. doi:10.1016/S0045-6535(02)00387-9
- Ribani, M., Grespan Bottoli, C.B., Collins, C.H., Fontes Jardim, I.C.S., Costa Melo, L.F., 2004. Validação em todos os cromatográficos e eletroforéticos. *Quim. Nova* 27, 771–780. doi:10.1590/S0100-40422004000500017
- Rijsberman, F.R., 2006. Water scarcity: Fact or fiction? *Agric. Water Manag.* 80, 5–22. doi:10.1016/j.agwat.2005.07.001
- Riva, F., Castiglioni, S., Fattore, E., Manenti, A., Davoli, E., Zuccato, E., 2018. Monitoring emerging contaminants in the drinking water of Milan and assessment of the human risk. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 0–1. doi:https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.01.008
- Sacher, F., Lange, F.T., Brauch, H.-J., Blankenhorn, I., 2001. Pharmaceuticals in groundwaters: Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *J. Chromatogr. A* 938, 199–210. doi:https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01266-3
- Sato, T., Qadir, M., Yamamoto, S., Endo, T., Zahoor, A., Dahl, R., 2013. A decline in k in g. *Agric. Water Manag.* 130, 1–13. doi:10.1016/j.agwat.2013.08.007
- Schriks, M., Heringa, M.B., van der Kooij, M.M.E., de Voogt, P., van Wezel, A.P., 2010. Toxicological relevance of emerging contaminants for drinking water quality. *Water Res.* 44, 461–476. doi:10.1016/j.watres.2009.08.023
- Schwab, B.W., Hayes, E.P., Fiori, J.M., Mastrocco, F.J., Roden, N.M., Cragin, D., Meyerhoff, R.D., D'Aco, V.J., Anderson, P.D., 2005. Human pharmaceuticals in US surface waters: a human health risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 42, 296–312. doi:10.1016/j.yrtph.2005.05.005
- Schwarzenbach, R.P., Egli, T., Hofstetter, T.B., von Gunten, U., Wehrli, B., 2010. Global Water Pollution and Human Health. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 35, 109–136. doi:10.1146/annurev-environ-100809-125342
- Silva, S.R., 2015. Quantificação de substâncias com atividade estrogênica e caracterização da toxicidade embrionária em zebrafish (*Danio rerio*) nos efluentes das Estações de Tratamento de Esgotos Sul e Norte e no Lago Paranoá, Brasília-DF. Dissertação.
- Simazaki, D., Kubota, R., Suzuki, T., Akiba, M., 2015. ScienceDirect Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health. *Water Res.* 76, 187–200. doi:10.1016/j.watres.2015.02.059

- SINDUSFARMA, 2018. Perfil da indústria farmacêutica e aspectos relevantes do setor, Perfil da indústria farmacêutica 2017.
- Sodré, F.F., 2018. Pharmaceuticals and personal care products as emerging micropollutants in Brazilian surface waters: a preliminary snapshot on environmental contamination and risks. *Eclét. Química Under Revi*, 1–19.
- Sodré, F.F., Feitosa, R.S., Jardim, W.F., Maldaner, A.O., 2018. Wastewater-based epidemiology of cocaine in the Brazilian Federal District: spatial distribution, weekly variation and sample preservation strategies [Under Review]. *J. Braz. Chem. Soc.*
- Sodré, F.F., Locatelli, M.A.F., Jardim, W.F., 2010a. An in-line clean system for the solid-phase extraction of emerging contaminants in natural waters (in Portuguese). *Quim. Nova* 33, 216–219. doi:10.1590/S0100-40422010000100037
- Sodré, F.F., Montagner, C.C., Locatelli, M.A.F., Jardim, W.F., 2007. Ocorrência de Interferentes Endócrinos e Produtos Farmacêuticos em Águas Superficiais da Região de Campinas (SP, Brasil). *J. Brazilian Soc. Ecotoxicol.* 2, 187–196. doi:10.5132/jbse.2007.02.012
- Sodré, F.F., Pescara, I.C., Montagner, C.C., Jardim, W.F., 2010b. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography – tandem mass spectrometry. *Microchem. J.* 96, 92–98. doi:10.1016/j.microc.2010.02.012
- Sodré, F.F., Santana, J.S., Sampaio, T.R., Brandão, C.C.S., 2017. Seasonal and spatial distribution of selected emerging contaminants in surface and drinking waters from the Brazilian Federal District. *J. Brazilian Chem. Soc. Under Revi*, 1–12.
- Stackelberg, P.E., Gibs, J., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Zaugg, S.D., Lippincott, R.L., 2007. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds. *Sci. Total Environ.* 377, 255–272. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.095
- Stolker, A.A.M., Niesing, W., Hogendoorn, E.A., Versteegh, J.F.M., Fuchs, R., Brinkman, U.A.T., 2004. Liquid chromatography with triple-quadrupole or quadrupole-time of flight mass spectrometry for screening and confirmation of residues of pharmaceuticals in water. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 955–963. doi:10.1007/s00216-003-2253-y
- Sui, Q., Cao, X., Lu, S., Zhao, W., Qiu, Z., Yu, G., 2015. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. *Emerg. Contam.* 1, 14–24. doi:10.1016/j.emcon.2015.07.001
- Sui, Q., Wang, B., Zhao, W., Huang, J., Yu, G., Deng, S., Qiu, Z., Lu, S., 2012. Chemosphere Identification of priority pharmaceuticals in the water environment of China. *Chemosphere* 89, 280–286. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.04.037
- Tauxe-Wuersch, A., De Alencastro, L.F., Grandjean, D., Tarradellas, J., 2005. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Res.* 39, 1761–1772. doi:10.1016/j.watres.2005.03.003
- Telepchak, M.J., August, T.F., Chaney, G., 2004. Solid Phase Extraction Troubleshooting, in: Telepchak, M.J., August, T.F., Chaney, G. (Eds.), *Forensic and Clinical Applications of Solid Phase Extraction*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 147–168. doi:10.1007/978-1-59259-292-0_8
- Teófilo, R.F., Ferreira, M.M.C., 2006. *Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculo de*

- planejamentos experimentais, um tutorial. *Quim. Nova* 29, 338–350. doi:10.1590/S0100-40422006000200026
- Thorn, C.F., Aklillu, E., McDonagh, E.M., Klein, T.E., Altman, R.B., 2012. PharmGKB summary: Caffeine pathway. *Pharmacogenet. Genomics* 22, 389–395. doi:10.1097/FPC.0b013e3283505d5e
- Tröger, R., Klöckner, P., Ahrens, L., Wiberg, K., 2018. Micropollutants in drinking water from source to tap - Method development and application of a multiresidue screening method. *Sci. Total Environ.* 627, 1404–1432. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.277
- Umbuzeiro, G. de A., 2012. Guia de potabilidade para substâncias químicas, Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental.
- Umbuzeiro, G.D.A., Kummrow, F., Rei, F.F.C., 2010. Toxicologia, Padrões De Qualidade De Água E a Legislação. *Rev. Gestão Integr. em Saúde do Trab. e Meio Ambient.* 5, 1–14.
- UN-DESA, 2012. World Urbanization Prospects: The 2011 Revision, Presentation at the Center for Strategic and doi:10.2307/2808041
- US EPA, 2016. Contaminant Information Sheets (CISs) for the Final Fourth Contaminant Candidate List (CCL 4).
- US EPA, 2004. Reregistration Eligibility Decision (RED) - DEET. USA.
- Valcárcel, Y., González Alonso, S., Rodríguez-Gil, J.L., Gil, A., Catalá, M., 2011. Detection of pharmaceutically active compounds in the rivers and tap water of the Madrid Region (Spain) and potential ecotoxicological risk. *Chemosphere* 84, 1336–1348. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.05.014
- Van de Steene, J.C., Mortier, K.A., Lambert, W.E., 2006. Tackling matrix effects during development of a liquid chromatographic-electrospray ionisation tandem mass spectrometric analysis of nine basic pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *J. Chromatogr. A* 1123, 71–81. doi:10.1016/j.chroma.2006.05.013
- Vanderford, B.J., Pearson, R.A., Rexing, D.J., Snyder, S.A., 2003. Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 75, 6265–6274. doi:10.1021/ac034210g
- Vergili, I., 2013. Application of nanofiltration for the removal of carbamazepine, diclofenac and ibuprofen from drinking water sources. *J. Environ. Manage.* 127, 177–187. doi:10.1016/j.jenvman.2013.04.036
- Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Zambello, E., 2012. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: Removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment-A review. *Sci. Total Environ.* 429, 123–155. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.04.028
- Vestel, J., Caldwell, D.J., Constantine, L., D'Aco, V.J., Davidson, T., Dolan, D.G., Millard, S.P., Murray-Smith, R., Parke, N.J., Ryan, J.J., Straub, J.O., Wilson, P., 2016. Use of acute and chronic ecotoxicity data in environmental risk assessment of pharmaceuticals. *Environ. Toxicol. Chem.* 35, 1201–1212. doi:10.1002/etc.3260
- Vieno, N.M., Tuhkanen, T., Kronberg, L., 2006. Analysis of neutral and basic
-

- pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry detection. *J. Chromatogr. A* 1134, 101–111. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.08.077>
- Vulliet, E., Cren-Olivé, C., Grenier-Loustalot, M.-F., 2011. Occurrence of pharmaceuticals and hormones in drinking water treated from surface waters. *Environ. Chem. Lett.* 9, 103–114.
- WaterReuse Research Foundation, 2015. Framework for Direct Potable Reuse.
- Webb, S., Ternes, T., Gibert, M., Olejniczak, K., 2003. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. *Toxicol. Lett.* 142, 157–167. doi:[https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(03\)00071-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00071-7)
- Weinberg, B., Bealer, B., 2001. *The World of Caffeine: The Science and Culture of the World's Most Popular Drug*. Routledge, 2002, New York.
- WHO, 2012. *Pharmaceuticals in drinking-water*. World Health Organization.
- WHO, 2011. *WHO guidelines for drinking-water quality*., WHO chronicle. WHO Press, Geneva. doi:[10.1016/S1462-0758\(00\)00006-6](https://doi.org/10.1016/S1462-0758(00)00006-6)
- WHO, U., 2014. *Progress on sanitation and drinking-water - 2014 update, ... Monitoring Programme for water supply and sanitation* doi:[978 92 4 150724 0](https://doi.org/10.1016/j.wss.2014.12.003)
- Wille, K., De Brabander, H.F., Vanhaecke, L., De Wulf, E., Van Caeter, P., Janssen, C.R., 2012. Coupled chromatographic and mass-spectrometric techniques for the analysis of emerging pollutants in the aquatic environment. *TrAC Trends Anal. Chem.* 35, 87–108. doi:<https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.12.003>
- Yan, Z., Lu, G., Liu, J., Jin, S., 2012. An integrated assessment of estrogenic contamination and feminization risk in fish in Taihu Lake, China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 84, 334–340. doi:[10.1016/j.ecoenv.2012.08.010](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.08.010)
- You, L., Nguyen, V.T., Pal, A., Chen, H., He, Y., Reinhard, M., Gin, K.Y.H., 2015. 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, 955–963. doi:[10.1016/j.scitotenv.2015.06.041](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.041)
- Zheng, L., Zhang, Y., Yan, Z., Zhang, J., Li, L., Zhu, Y., Zhang, Y., Zheng, X., Wu, J., Liu, Z., 2017. Derivation of predicted no-effect concentration and ecological risk for atrazine better based on reproductive fitness. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 142, 464–470. doi:[10.1016/j.ecoenv.2017.04.006](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.006)
- Zhou, W., Yang, S., Wang, P.G., 2017. Matrix effects and application of matrix effect factor. *Bioanalysis* 9, bio-2017-0214. doi:[10.1016/j.bio-2017-0214](https://doi.org/10.1016/j.bio-2017-0214)
- Zrnčić, M., Babić, S., Kaštelan-Macan, M., 2013. Development of high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (HPLC–MS/MS) method for determination of different classes of pharmaceuticals in waste waters, in: *International Symposium on Separation Sciences New Achievements in Chromatography* (19; 2013).
- Zurita, J.L., Repetto, G., Jos, Á., Salguero, M., López-Artíguez, M., Cameán, A.M., 2007. Toxicological effects of the lipid regulator gemfibrozil in four aquatic systems. *Aquat. Toxicol.* 81, 106–115. doi:[10.1016/j.aquatox.2006.11.007](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.11.007)

Zwiener, C., Frimmel, F.H., 2004. LC-MS analysis in the aquatic environment and in water treatment--a critical review. Part I: Instrumentation and general aspects of analysis and detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 851–861. doi:10.1007/s00216-003-2404-1

ANEXOS

ANEXO-I

Anexo I - Gráficos referentes ao processo de otimização de extração.

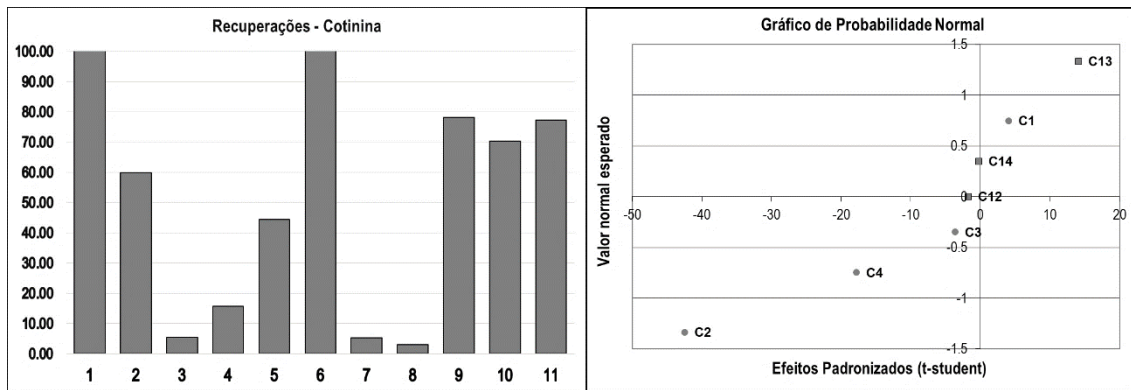


Figura AI-1. Recuperações obtidas para COT e o gráfico de probabilidade Normal

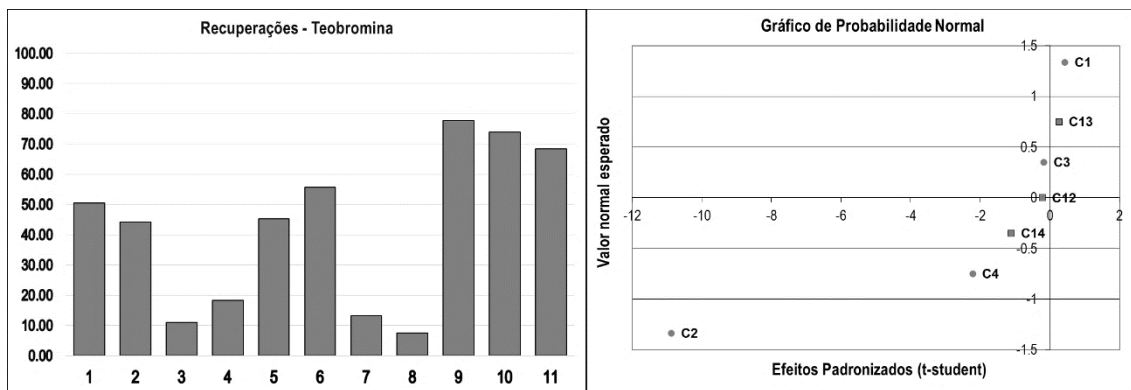


Figura AI-2. Recuperações obtidas para TEO e o gráfico de probabilidade Normal

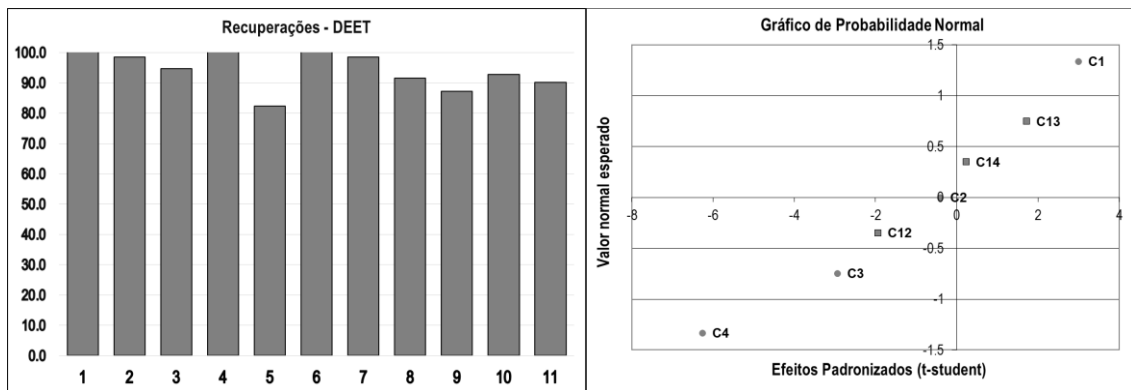


Figura AI-3. Recuperações obtidas para DEET e o gráfico de probabilidade Normal

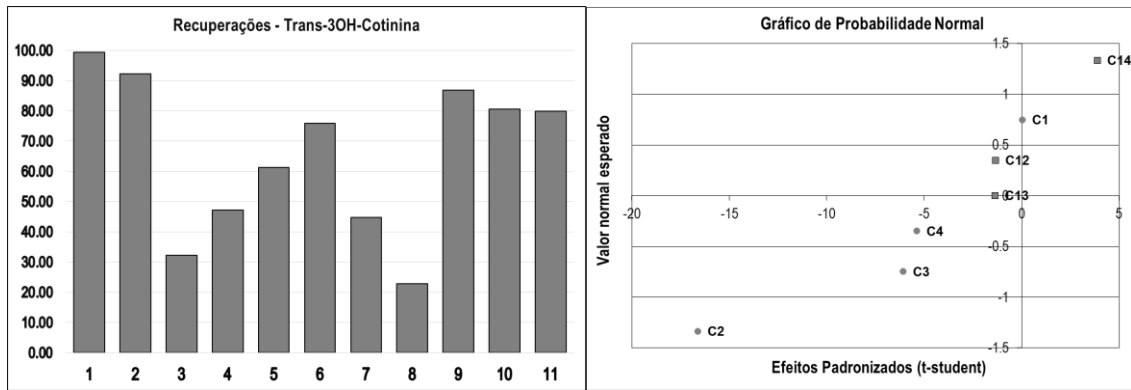


Figura AI-4. Recuperações obtidas para OH-COT e o gráfico de probabilidade Normal

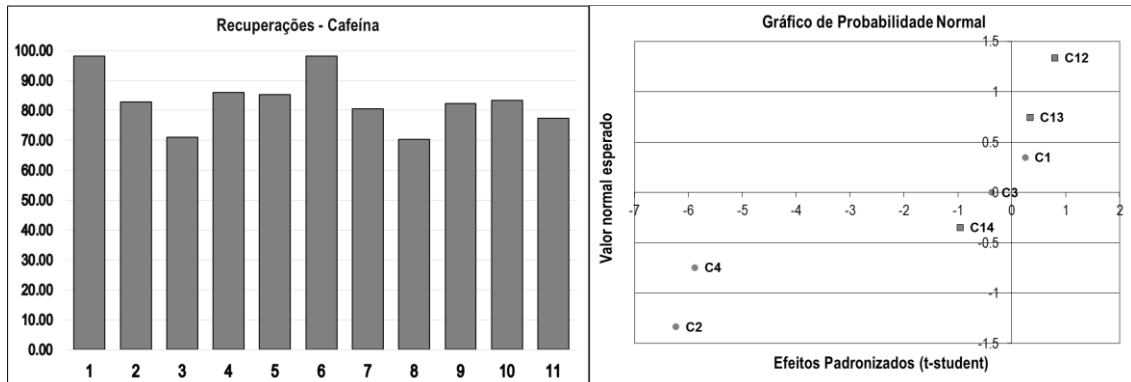


Figura AI-5. Recuperações obtidas para CAF e o gráfico de probabilidade Normal

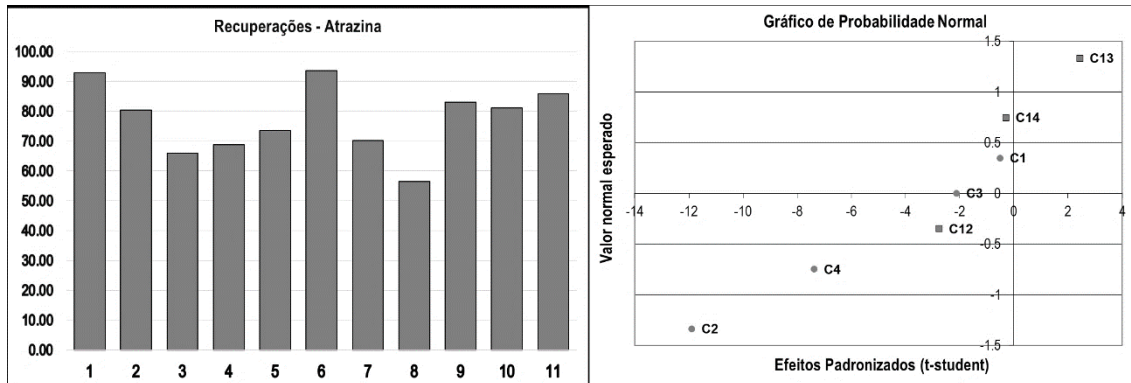


Figura AI-6. Recuperações obtidas para ATZ e o gráfico de probabilidade Normal

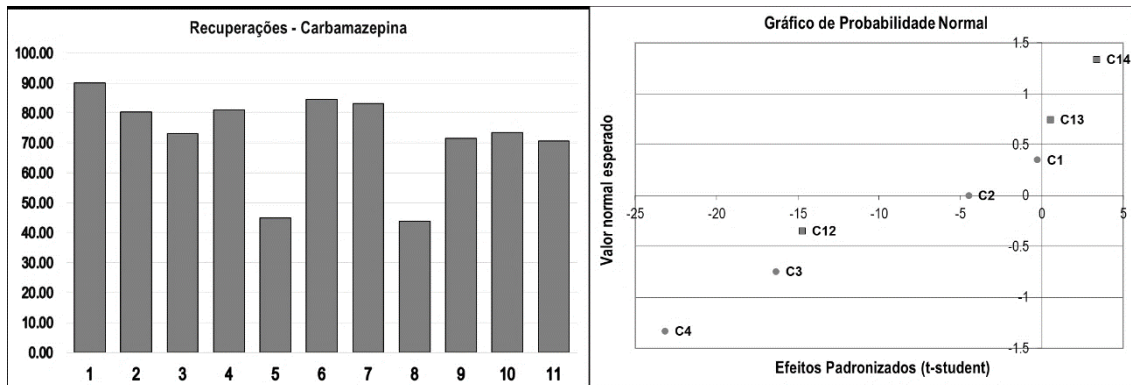


Figura AI-7. Recuperações obtidas para CMZ e o gráfico de probabilidade Normal

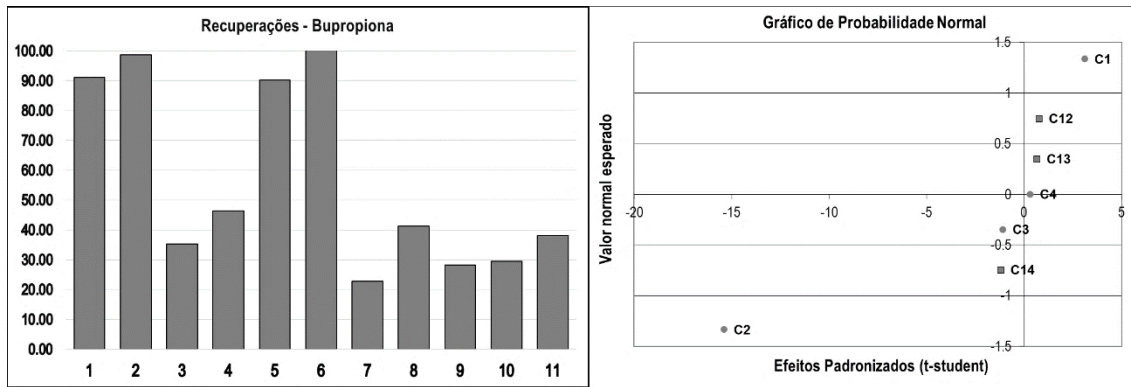


Figura AI-8. Recuperações obtidas para BUP e o gráfico de probabilidade Normal

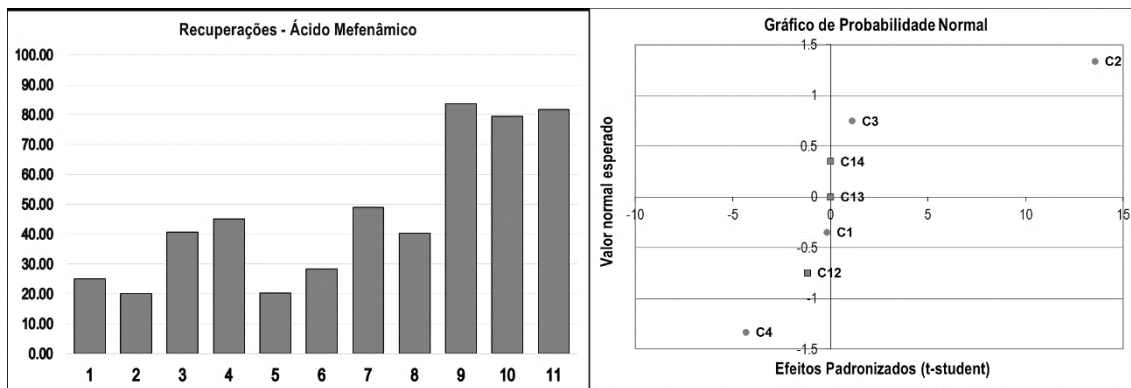


Figura AI-9. Recuperações obtidas para MEF e o gráfico de probabilidade Normal

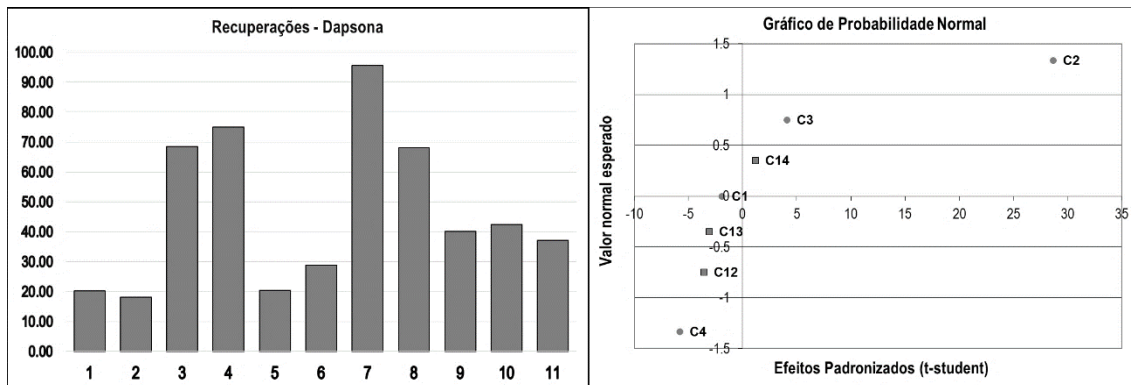


Figura AI-10. Recuperações obtidas para DAP e o gráfico de probabilidade Normal

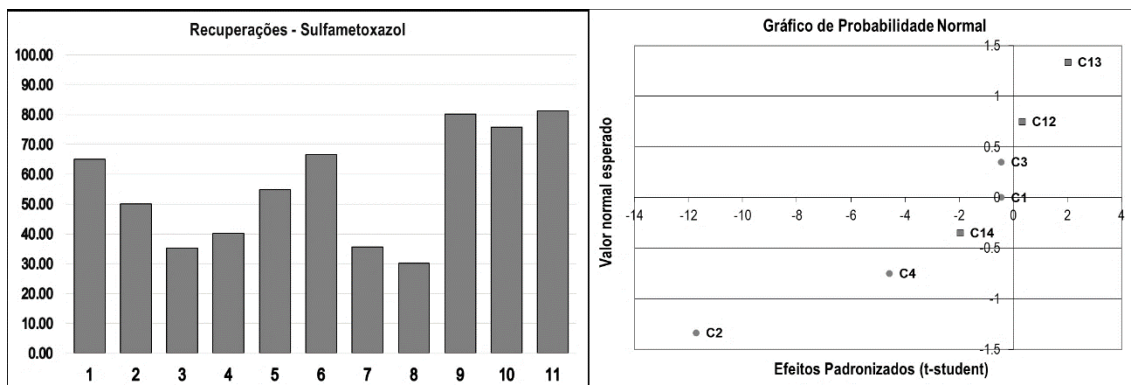


Figura AI-11. Recuperações obtidas para SMX e o gráfico de probabilidade Normal

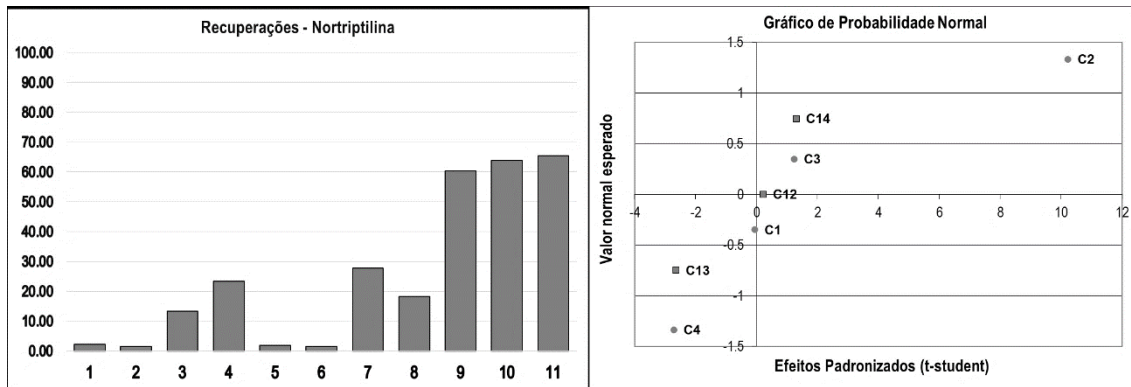


Figura AI-12. Recuperações obtidas para NOR e o gráfico de probabilidade Normal

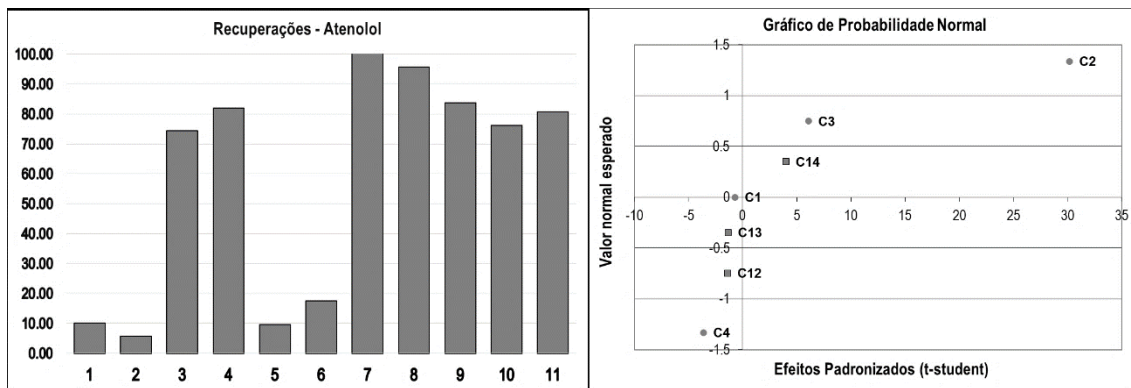


Figura AI-13 Recuperações obtidas para ATN e o gráfico de probabilidade Normal

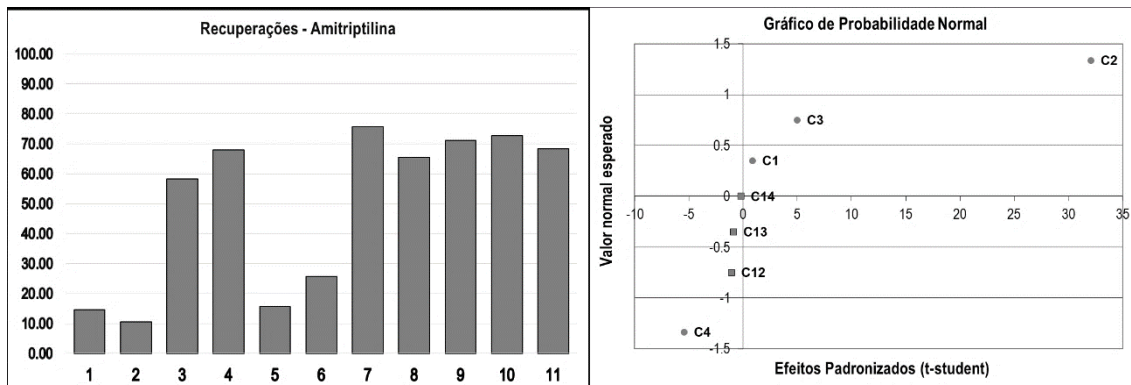


Figura AI-14. Recuperações obtidas para AMT e o gráfico de probabilidade Normal

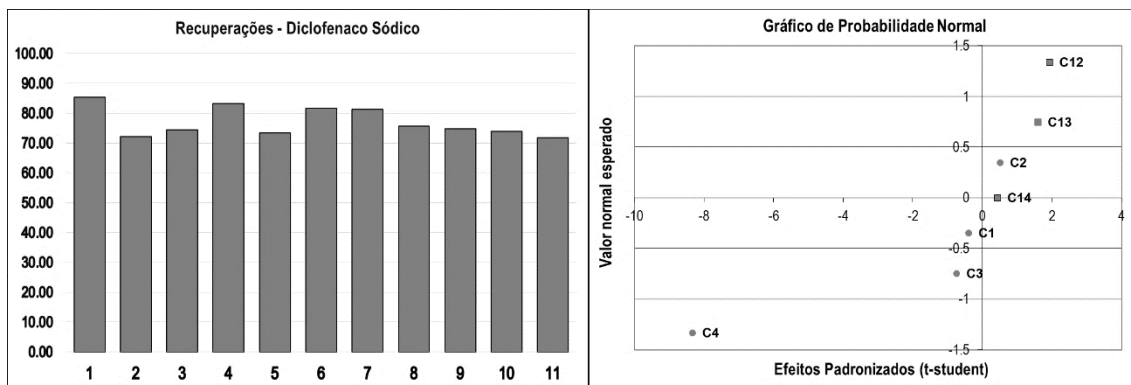


Figura AI-15. Recuperações obtidas para DFN e o gráfico de probabilidade Normal

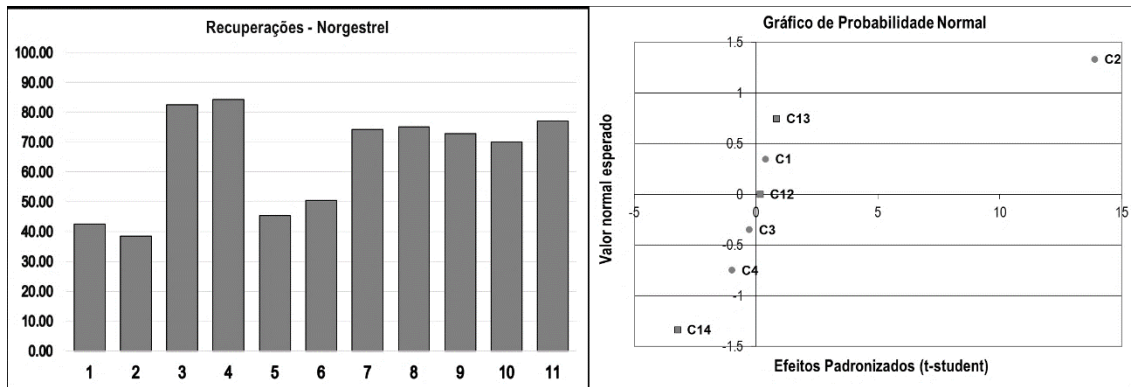


Figura AI-16. Recuperações obtidas para NGT e o gráfico de probabilidade Normal

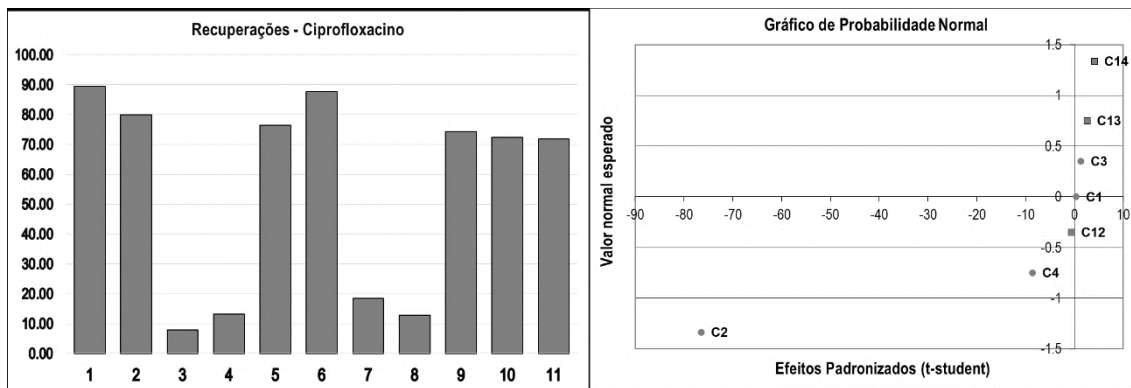


Figura AI-17. Recuperações obtidas para CPX e o gráfico de probabilidade Normal

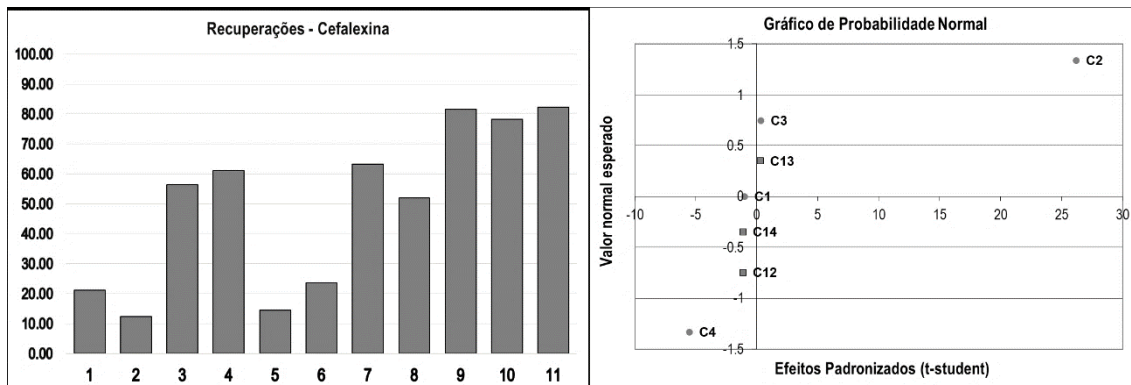


Figura AI-18. Recuperações obtidas para CFX e o gráfico de probabilidade Normal

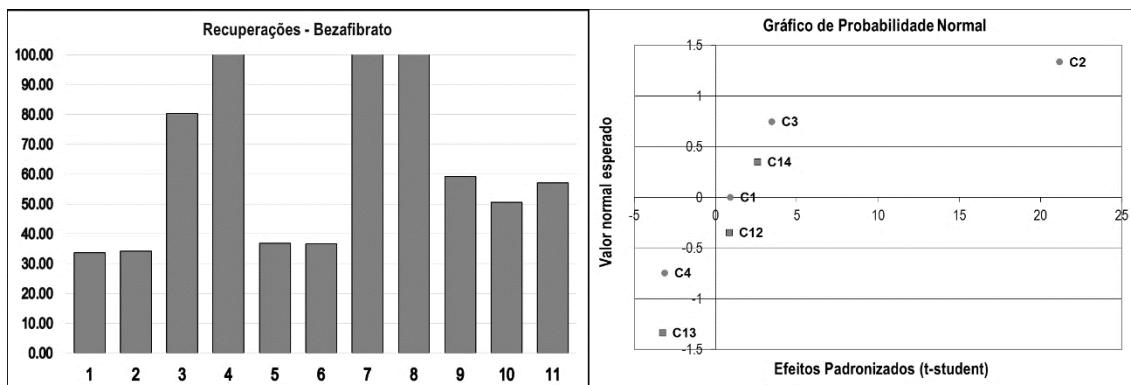


Figura AI-19. Recuperações obtidas para BZF e o gráfico de probabilidade Normal

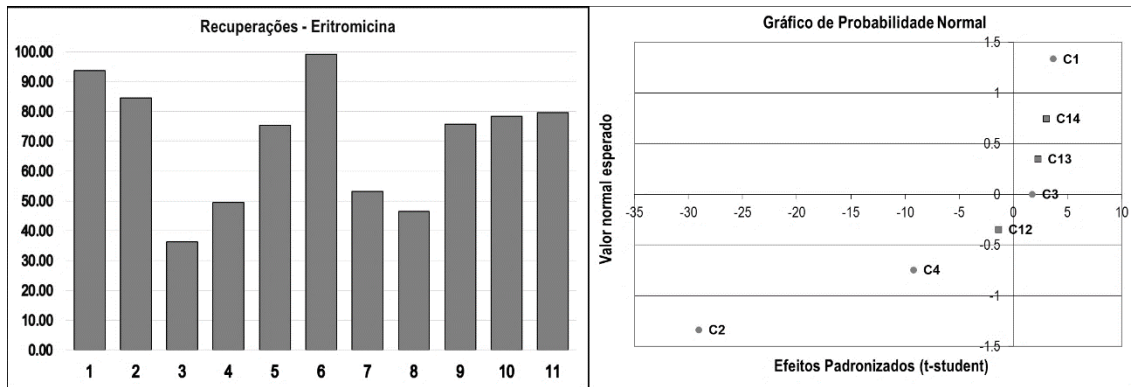


Figura AI-20. Recuperações obtidas para ETM e o gráfico de probabilidade Normal

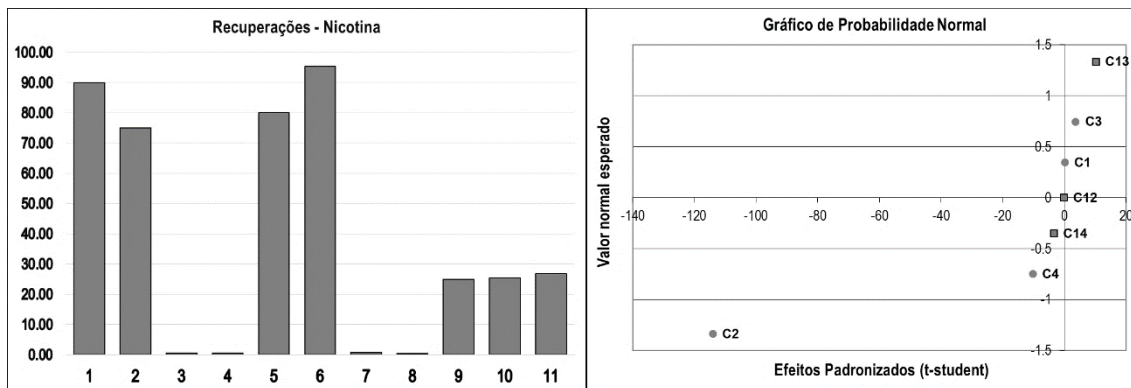


Figura AI-21. Recuperações obtidas para NIC e o gráfico de probabilidade Normal

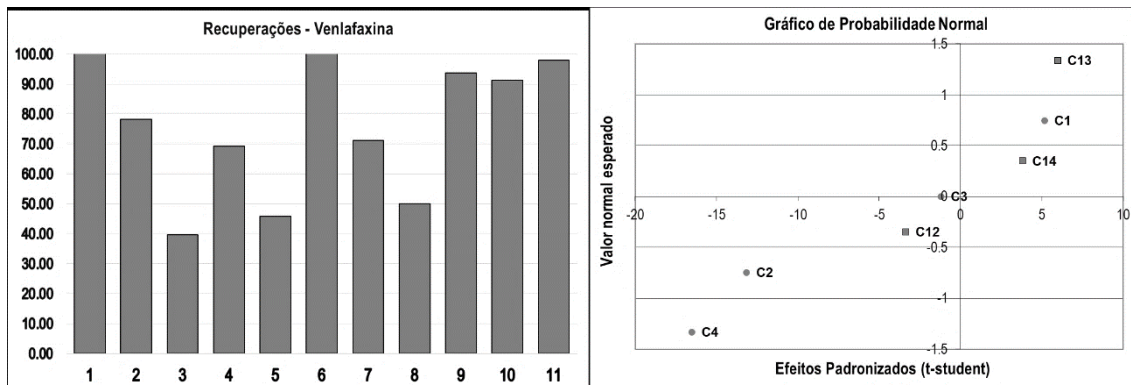


Figura AI-22. Recuperações obtidas para VEN e o gráfico de probabilidade Normal

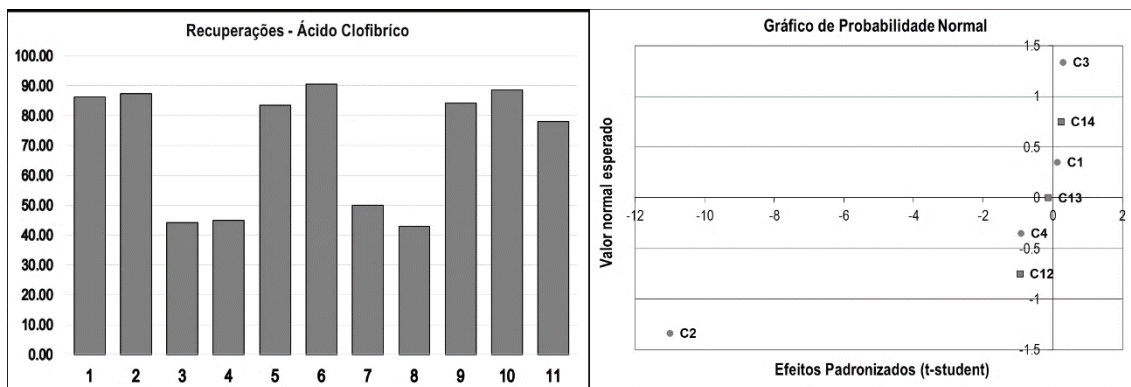


Figura AI-23. Recuperações obtidas para CFB e o gráfico de probabilidade Normal

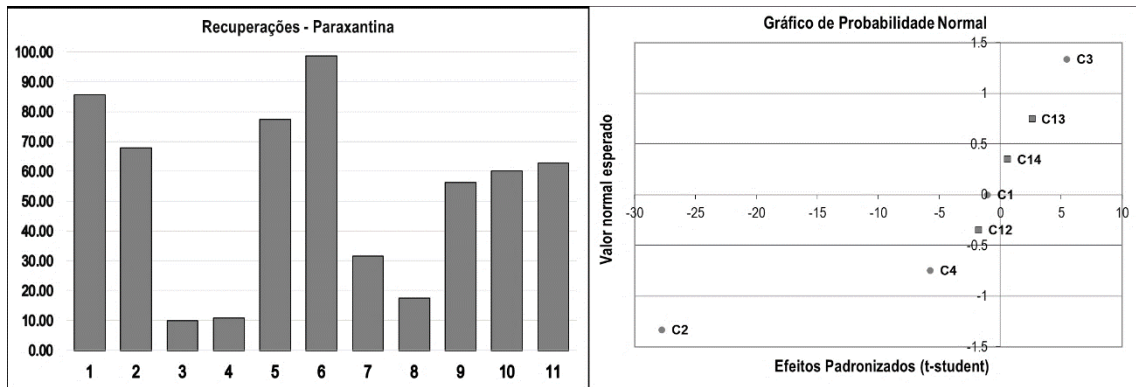


Figura AI-24. Recuperações obtidas para PXT e o gráfico de probabilidade Normal

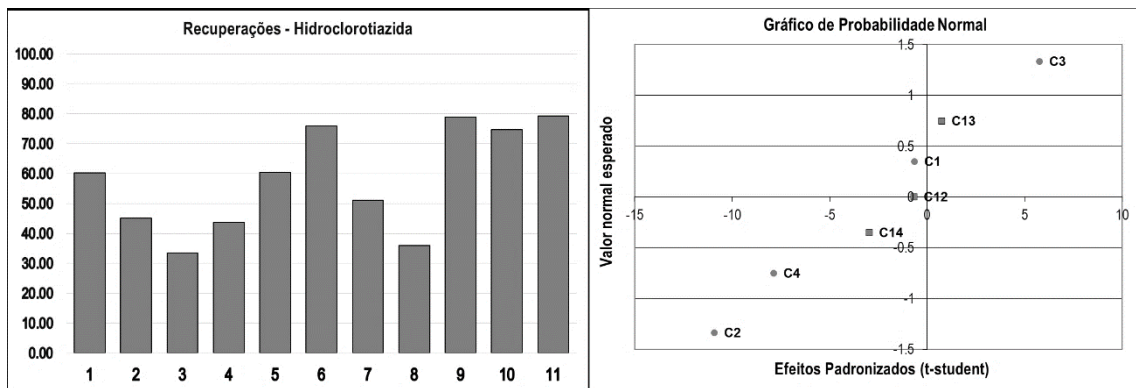


Figura AI-25. Recuperações obtidas para HCT e o gráfico de probabilidade Normal

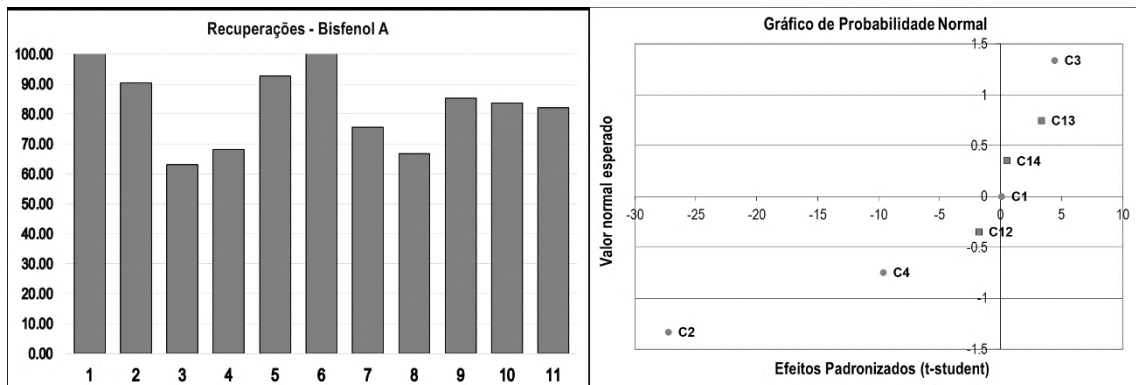


Figura AI-26. Recuperações obtidas para BPA e o gráfico de probabilidade Normal

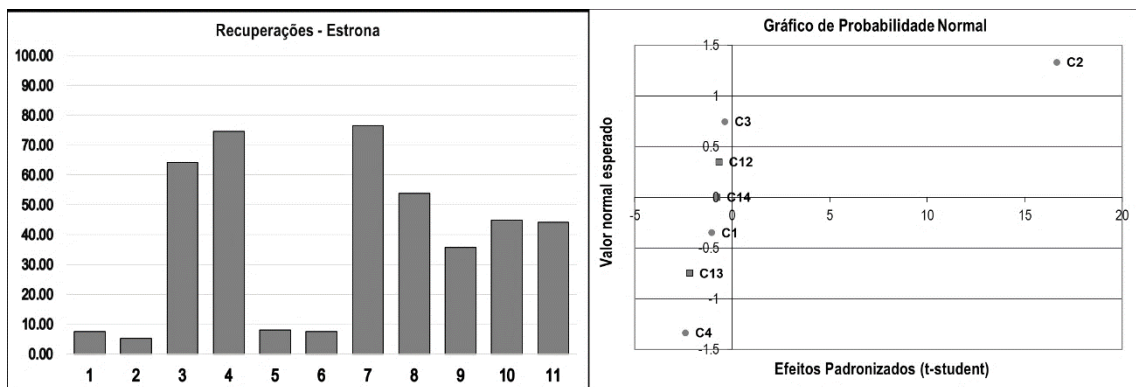


Figura AI-27. Recuperações obtidas para E1 e o gráfico de probabilidade Normal

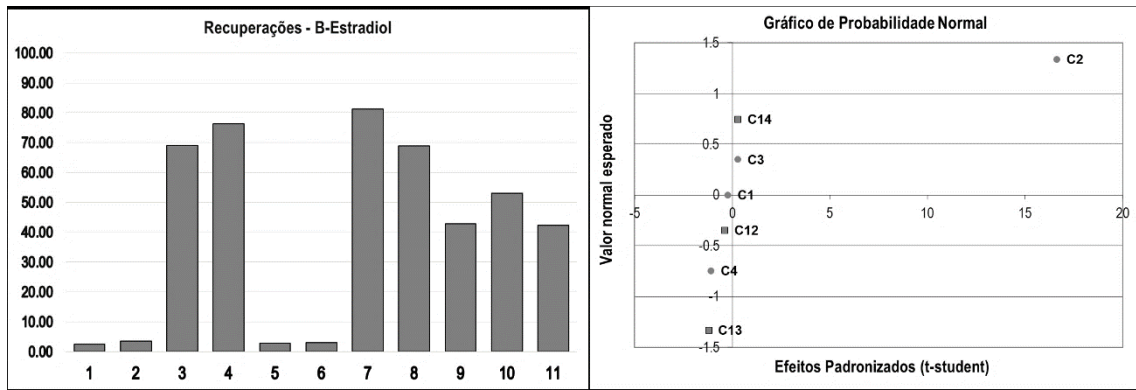


Figura AI -28. Recuperações obtidas para E2 e o gráfico de probabilidade Normal

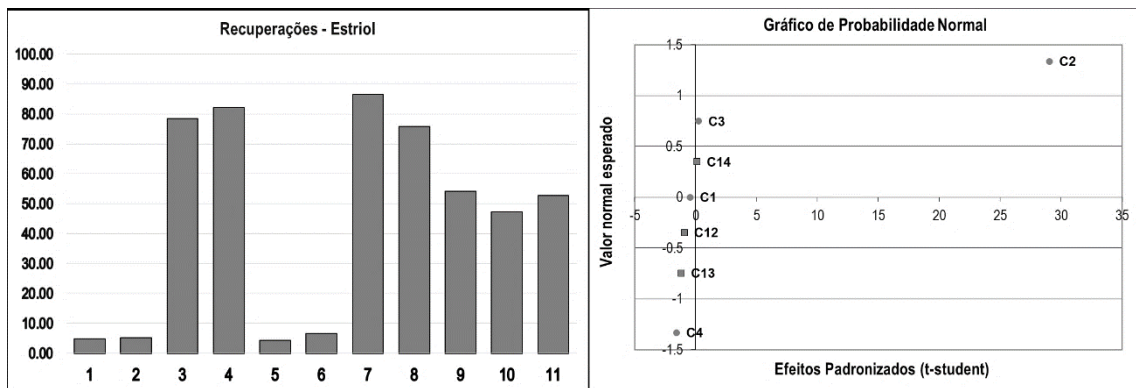


Figura AI-29. Recuperações obtidas para E3 e o gráfico de probabilidade Normal

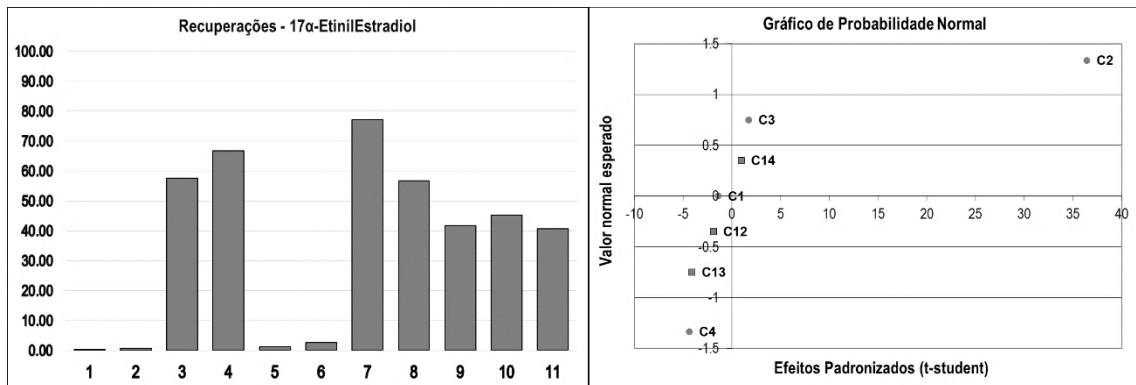


Figura AI-30. Recuperações obtidas para EE2 e o gráfico de probabilidade Normal

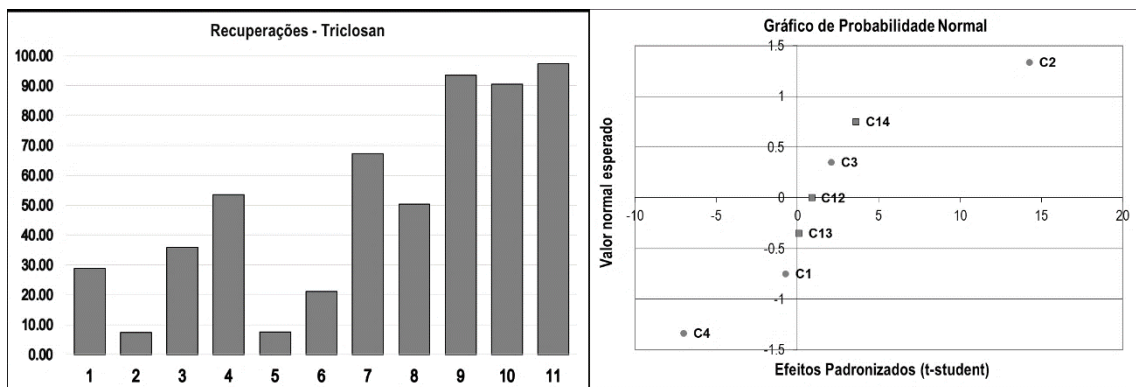


Figura AI-31. Recuperações obtidas para TCS e o gráfico de probabilidade Normal

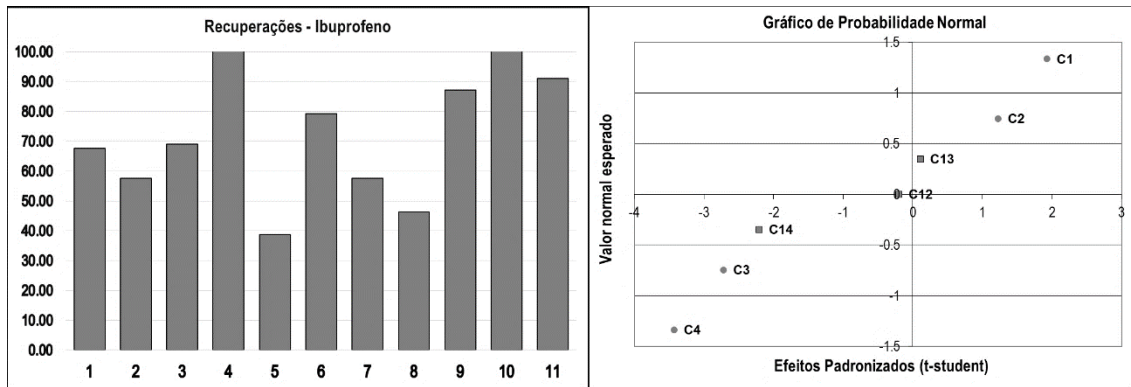


Figura AI-32. Recuperações obtidas para IBU e o gráfico de probabilidade Normal

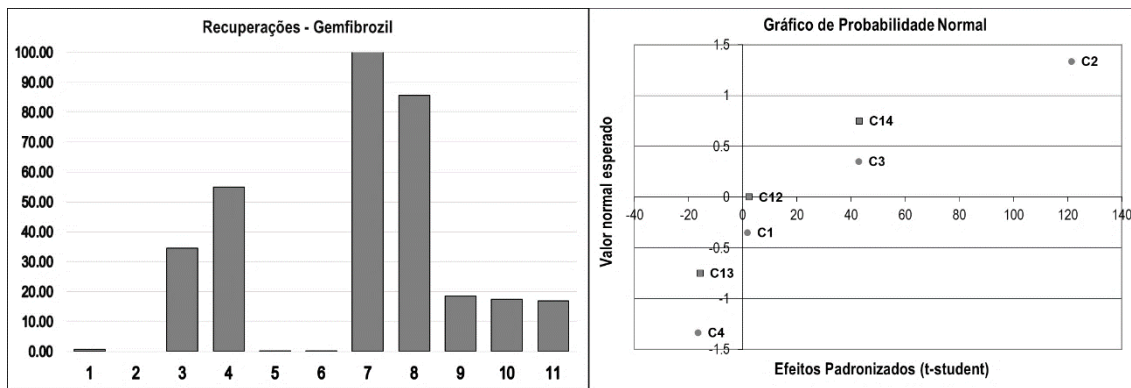


Figura AI-33. Recuperações obtidas para GFB e o gráfico de probabilidade Normal

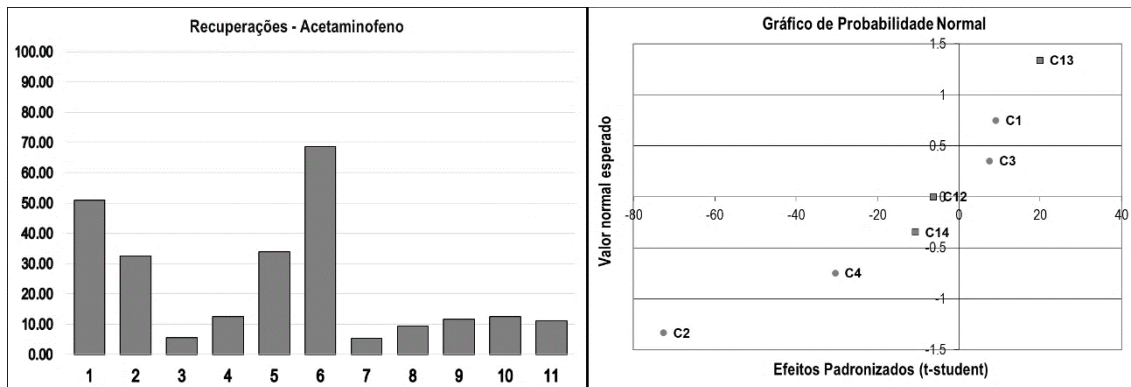


Figura AI-34. Recuperações obtidas para ACT e o gráfico de probabilidade Normal

ANEXO-II

Anexo II – Espectros de Massas das substâncias alvo.

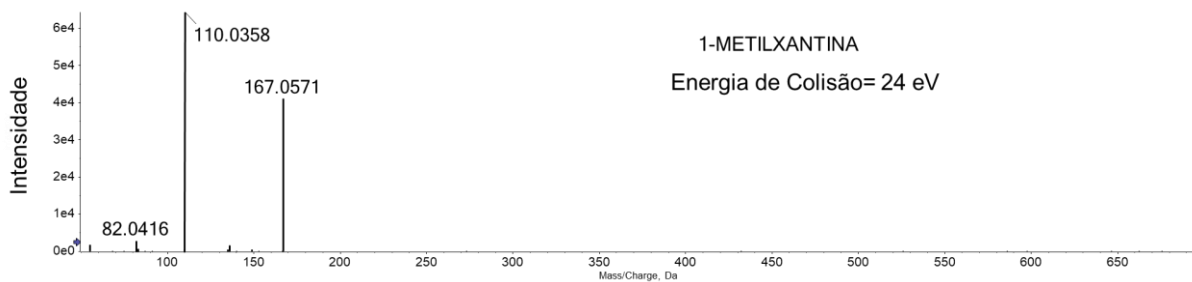


Figura AII-1. Espectro de Massas: 1-Metilxantina

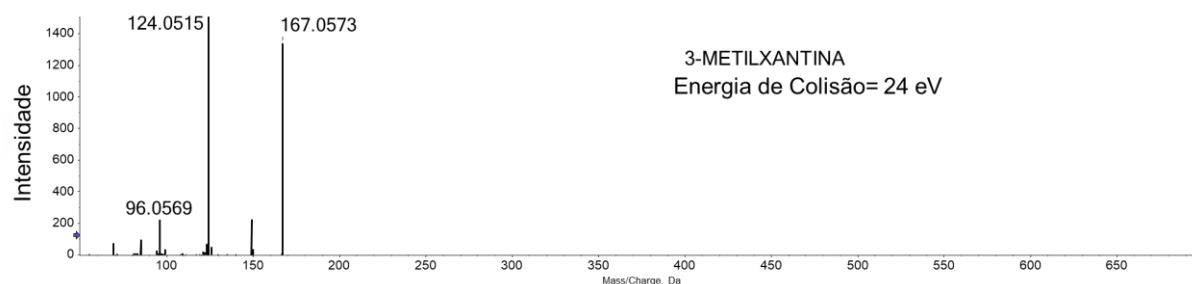


Figura AII-2. Espectro de Massas: 3-Metilxantina

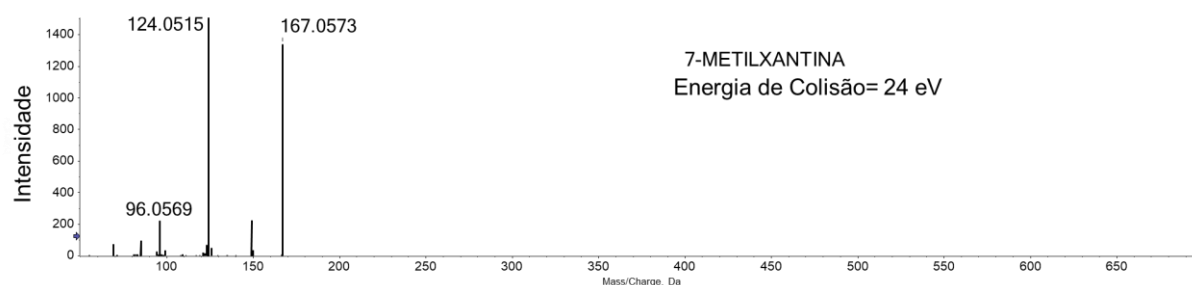


Figura AII-3. Espectro de Massas: 7-Metilxantina

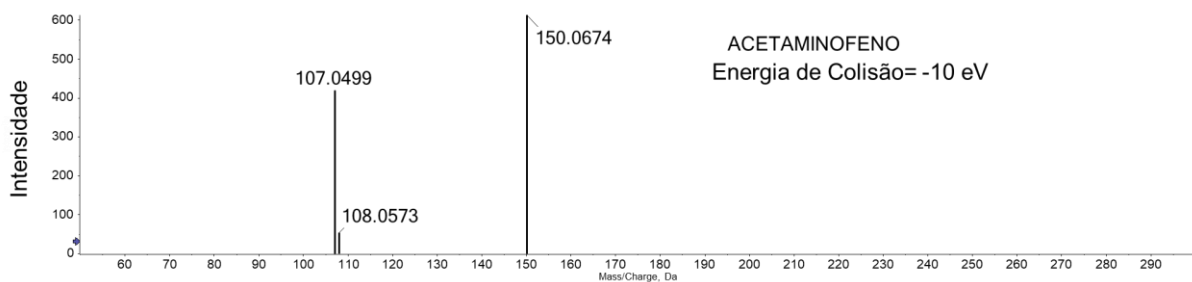


Figura AII-4. Espectro de Massas: Acetaminofeno

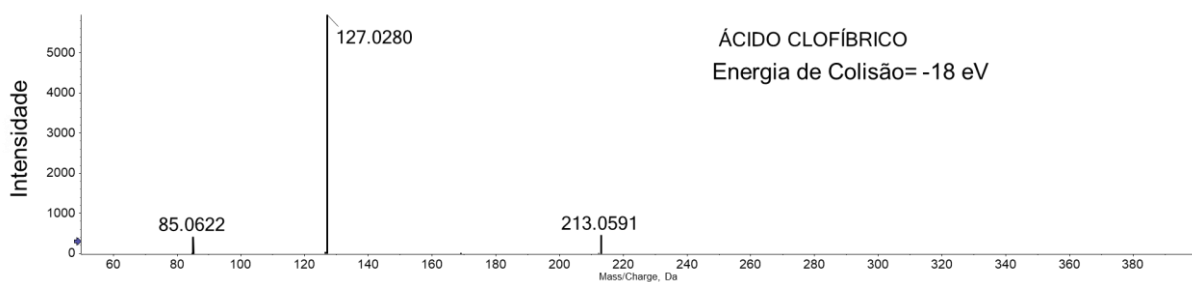


Figura AII-5. Espectro de Massas: Ácido Clofíbrico

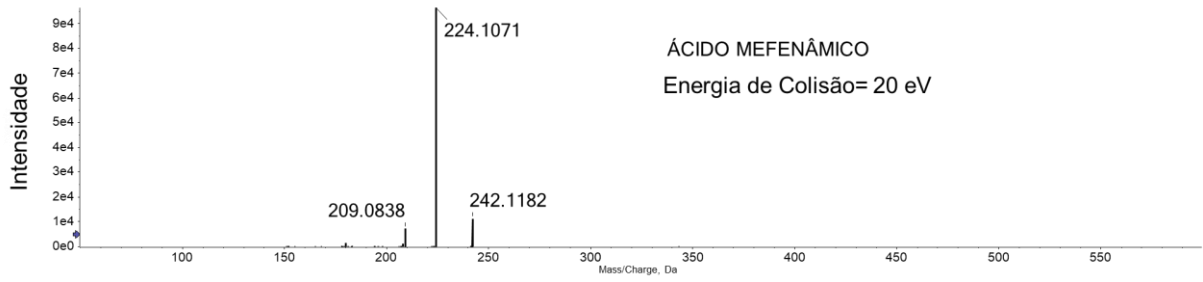


Figura AII-6. Espectro de Massas: Ácido Mefenâmico

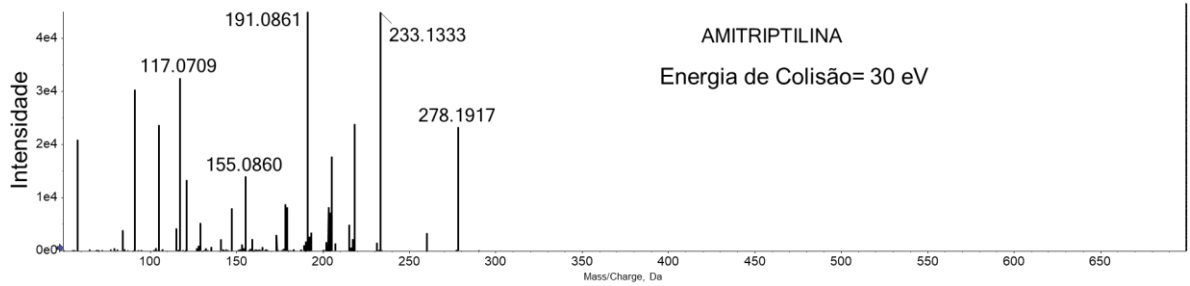


Figura AII-7. Espectro de Massas: Amitriptilina

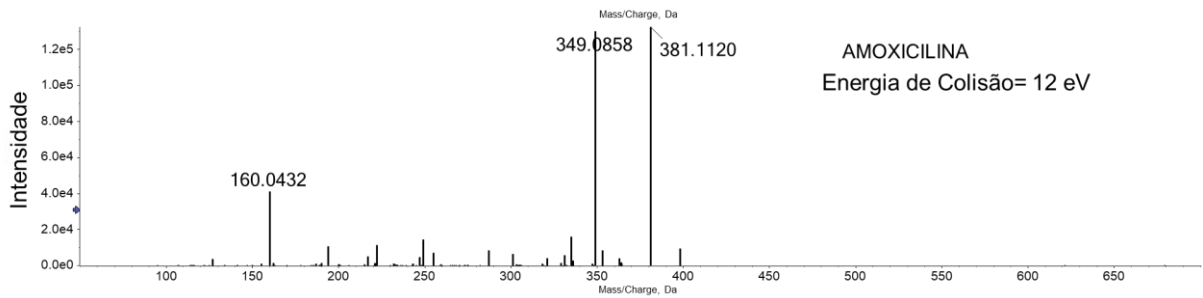


Figura AII-8. Espectro de Massas: Amoxicilina

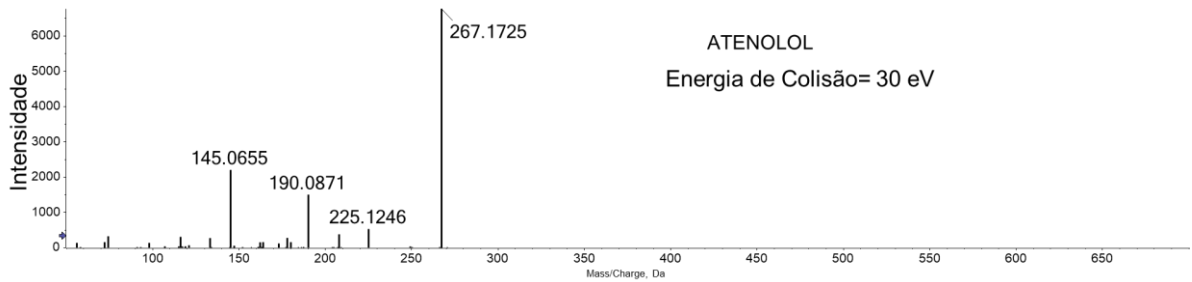


Figura AII-9. Espectro de Massas: Atenolol

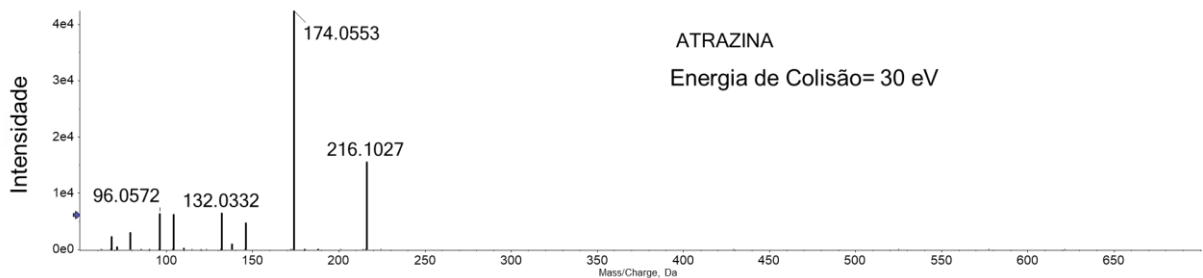


Figura AII-10. Espectro de Massas: Atrazina

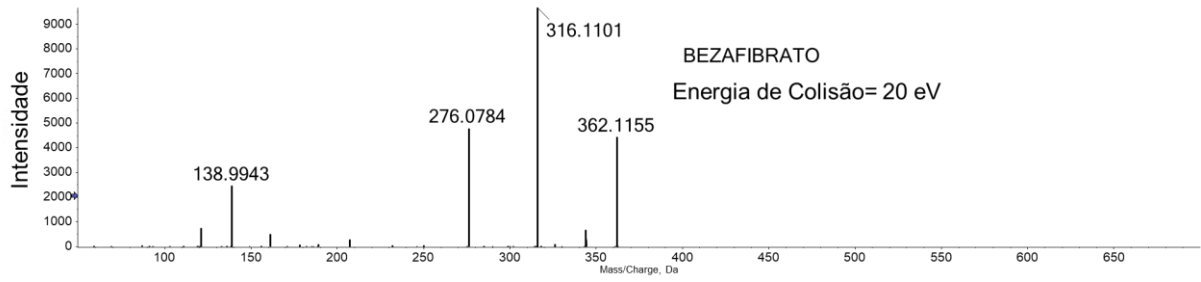


Figura AII-11. Espectro de Massas: Bezafibrato

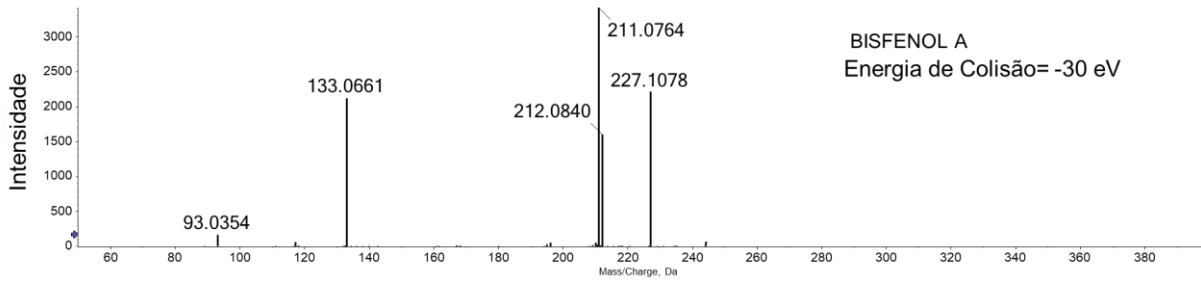


Figura AII-12. Espectro de Massas: Bisfenol A

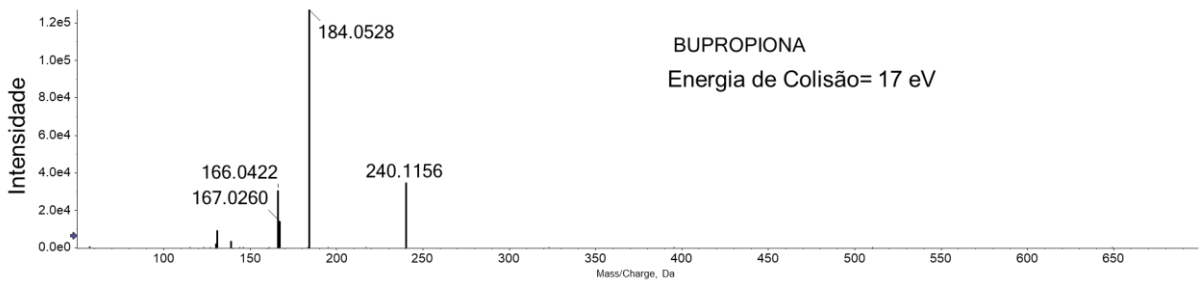


Figura AII-13. Espectro de Massas: Bupropiona

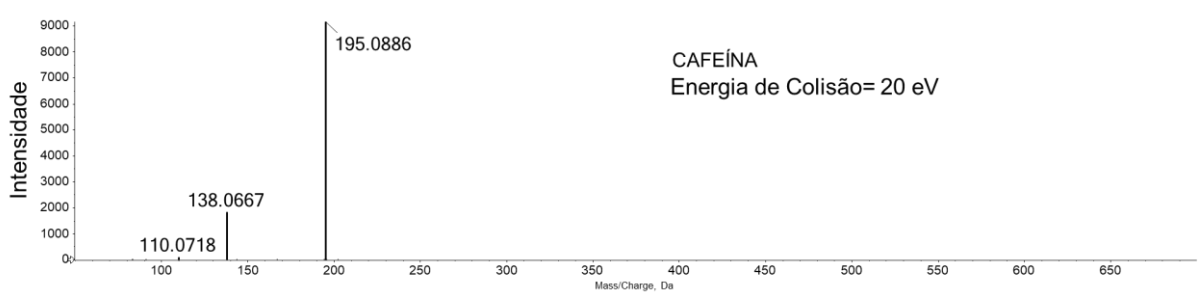


Figura AII-14. Espectro de Massas: Cafeína

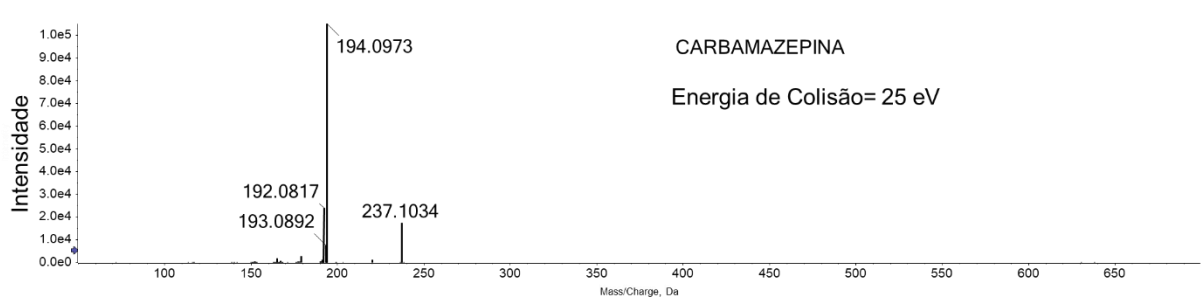


Figura AII-15. Espectro de Massas: Carbamazepina

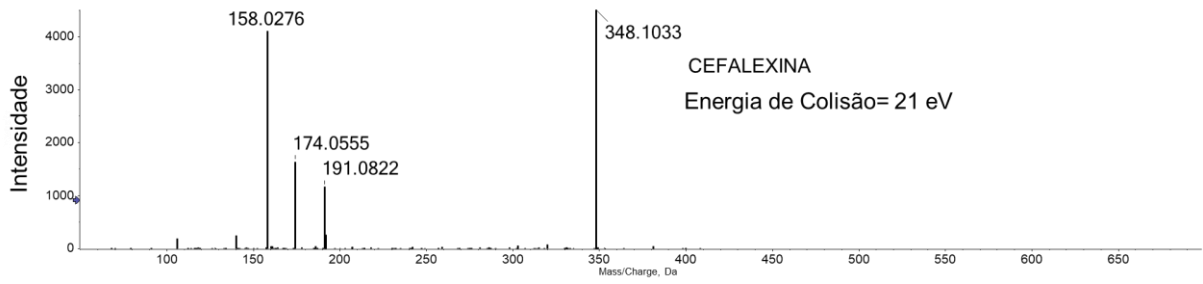


Figura AII-16. Espectro de Massas: Cefalexina

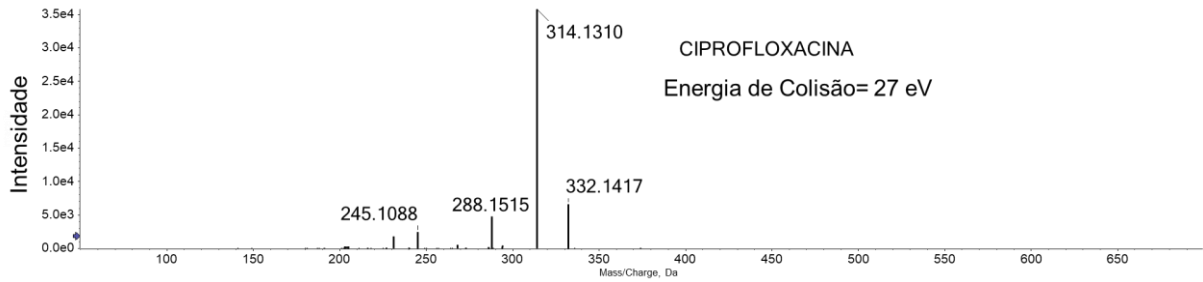


Figura AII-17. Espectro de Massas: Ciprofloxacina

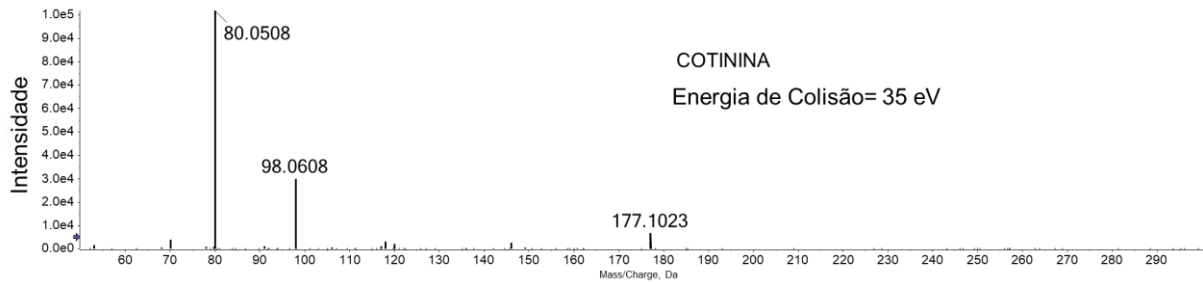


Figura AII-18. Espectro de Massas: Cotinina

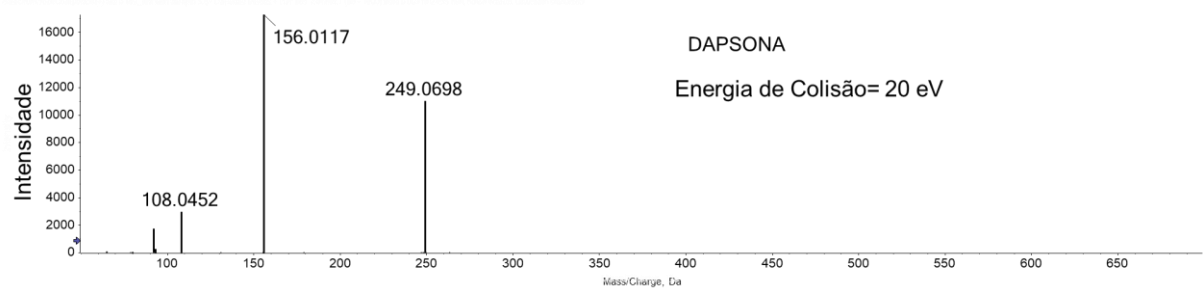


Figura AII-19. Espectro de Massas: Dapsona

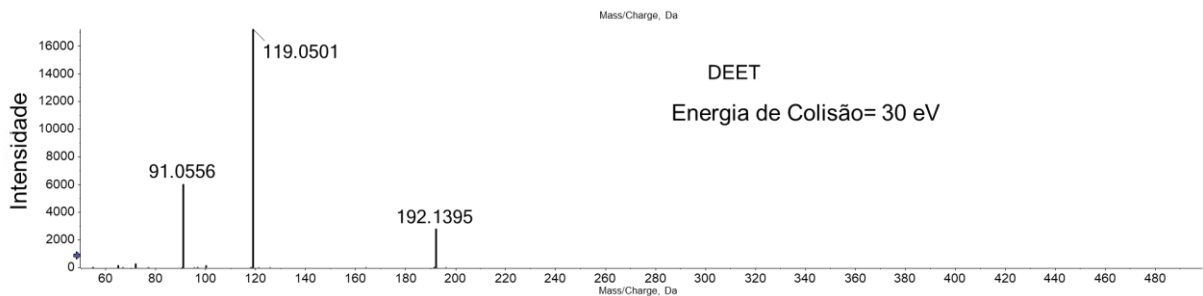


Figura AII-20. Espectro de Massas: DEET

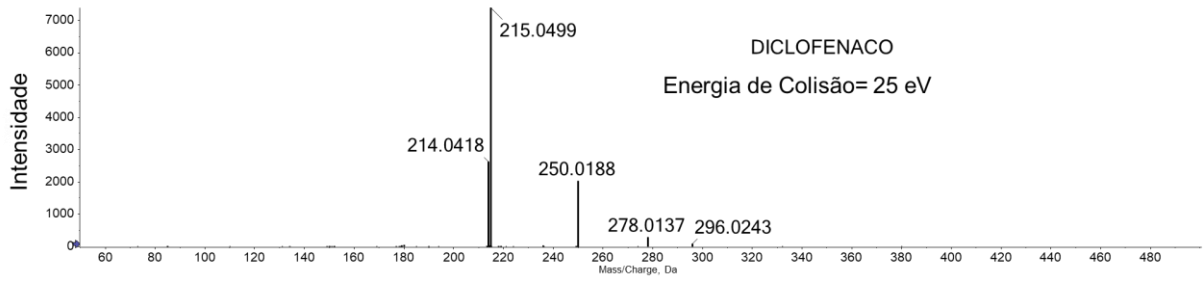


Figura AII-21. Espectro de Massas: Diclofenaco

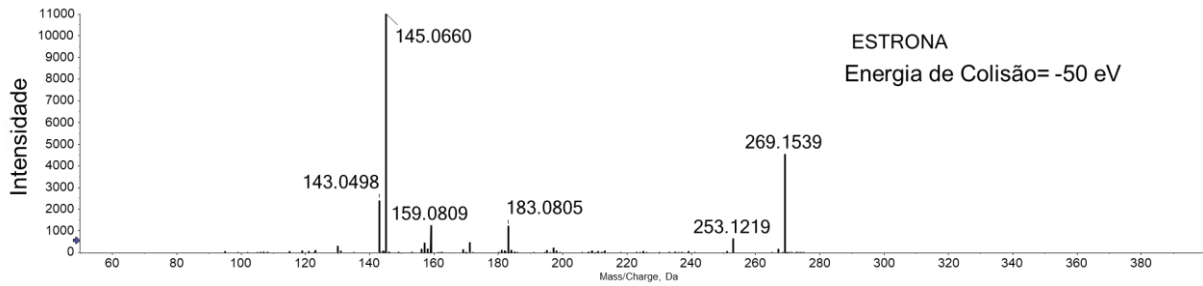


Figura AII-22. Espectro de Massas: Estrona

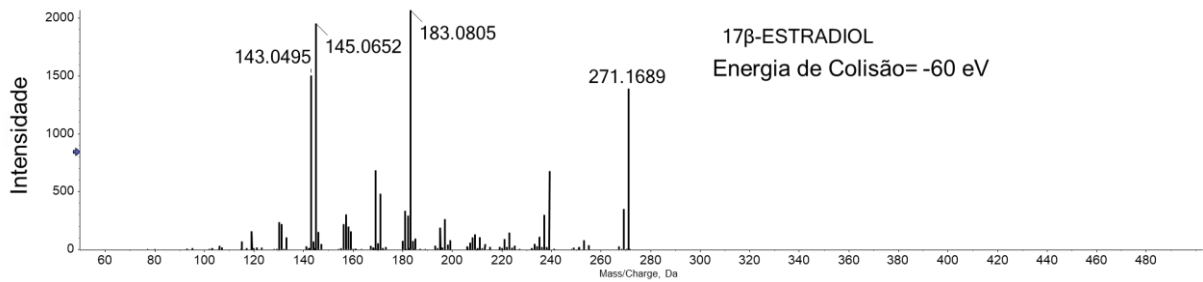


Figura AII-23. Espectro de Massas: 17β-Estradiol

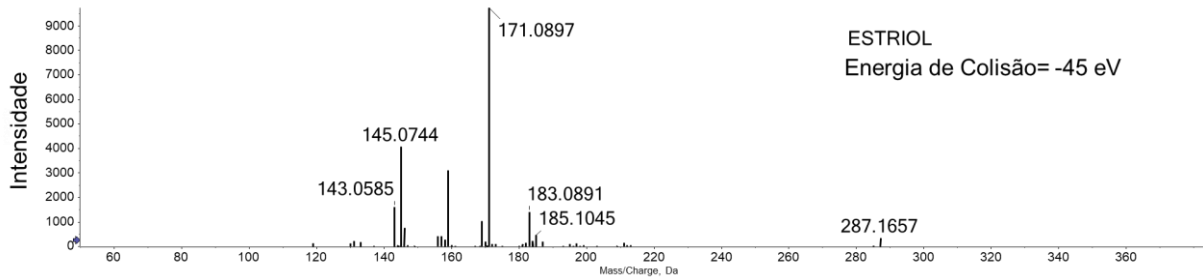


Figura AII-24. Espectro de Massas: Estriol

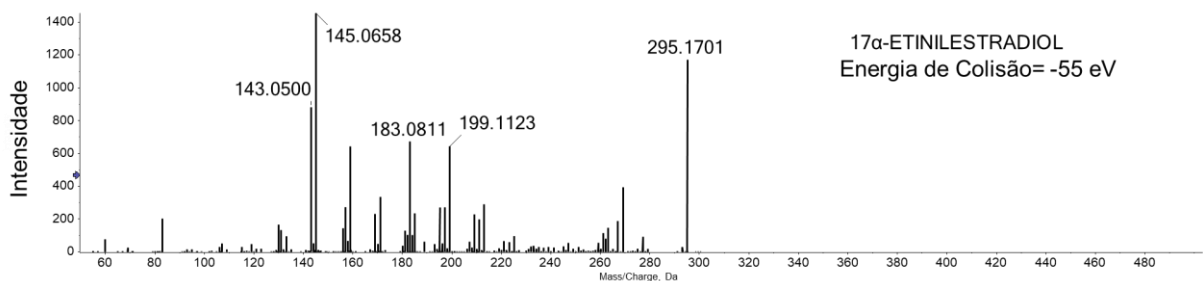


Figura AII-25. Espectro de Massas: 17α-Etinilestradiol

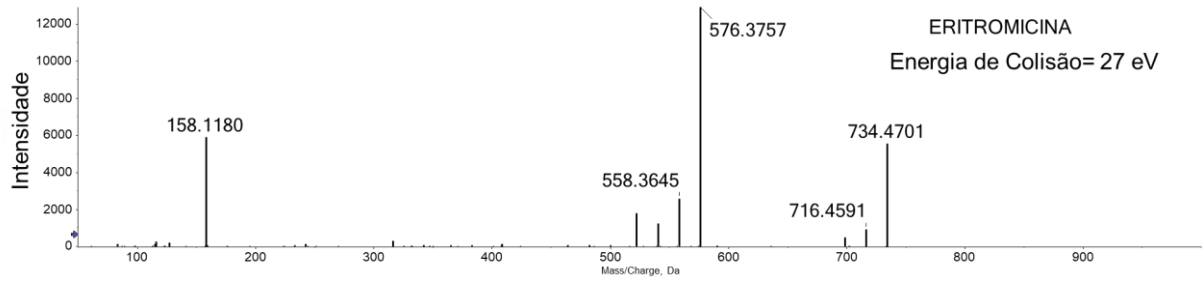


Figura AII-26. Espectro de Massas: Eritromicina

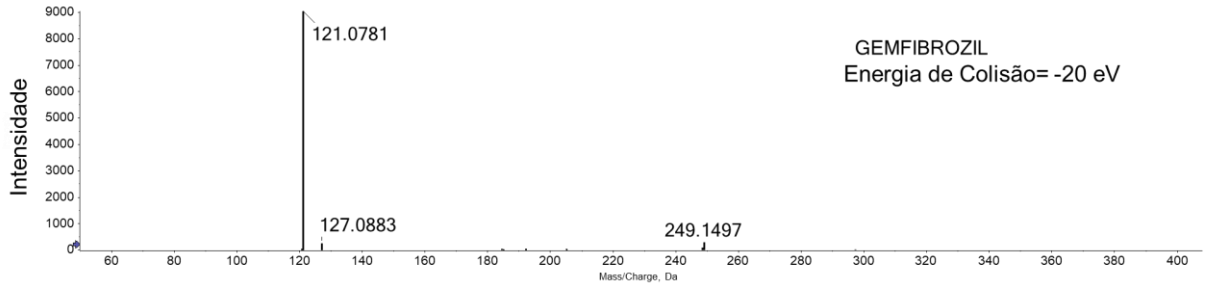


Figura AII-27. Espectro de Massas: Gemfibrozil

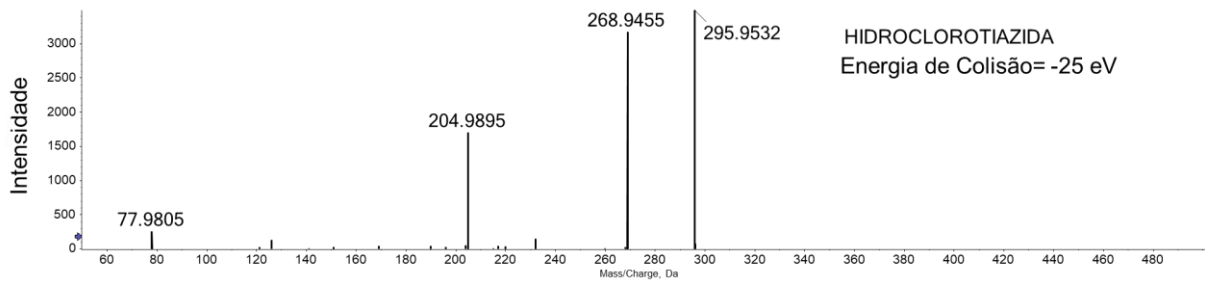


Figura AII-28. Espectro de Massas: Hidroclorotiazida

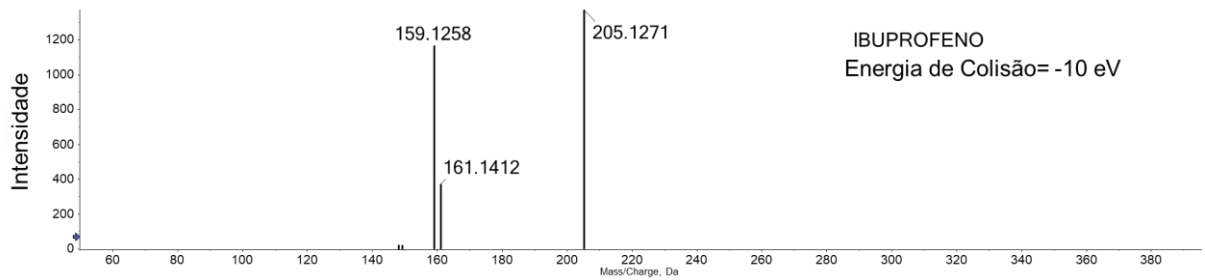


Figura AII-29. Espectro de Massas: Ibuprofeno

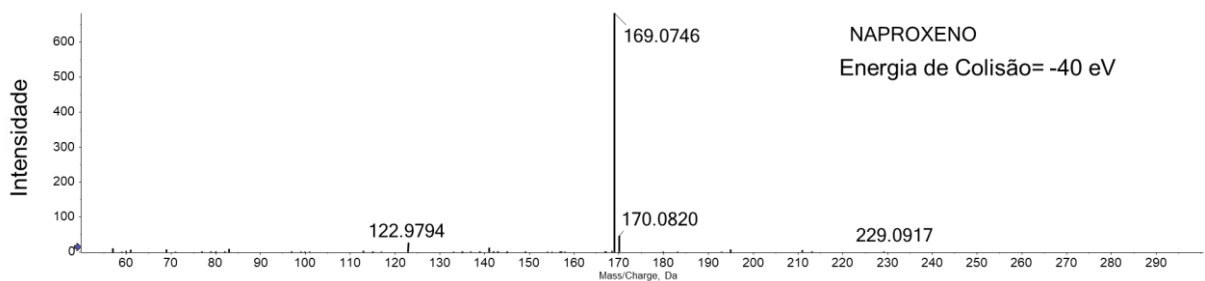


Figura AII-30. Espectro de Massas: Naproxeno

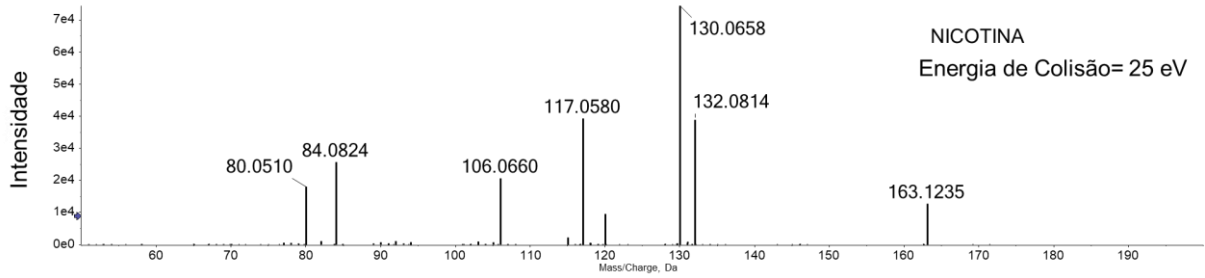


Figura AII-31. Espectro de Massas: Nicotina

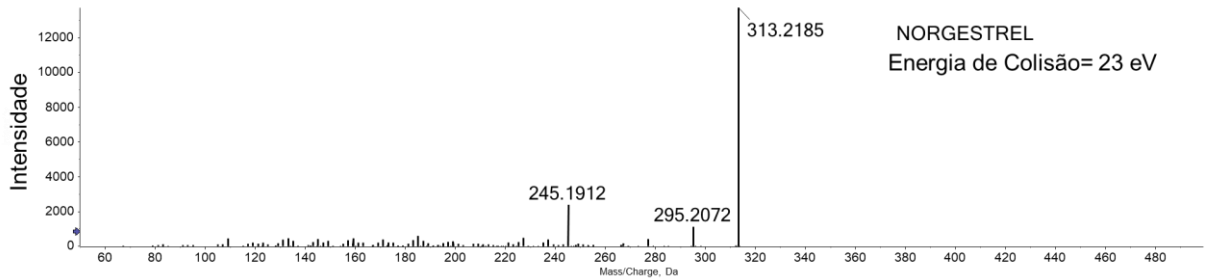


Figura AII-32. Espectro de Massas: Norgestrel

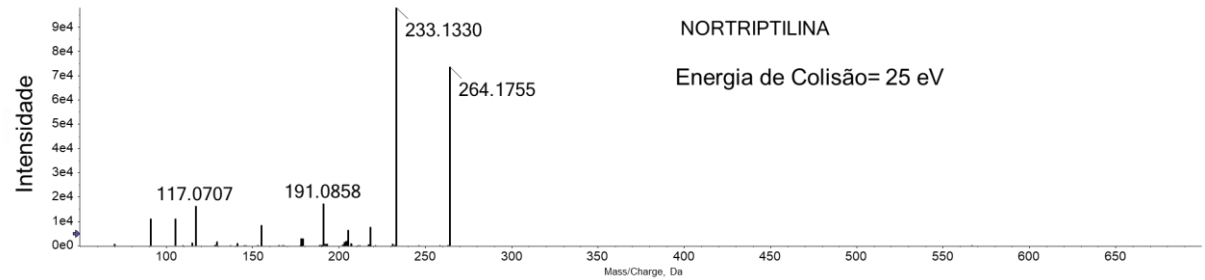


Figura AII-33. Espectro de Massas: Nortriptilina

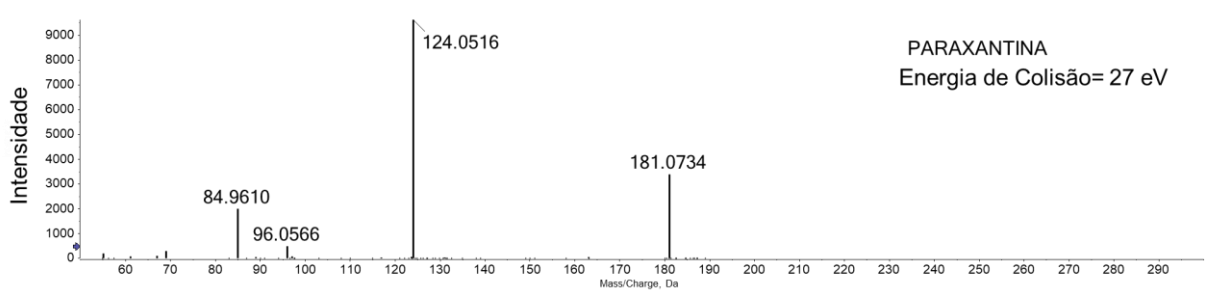


Figura AII-34. Espectro de Massas: Paraxantina

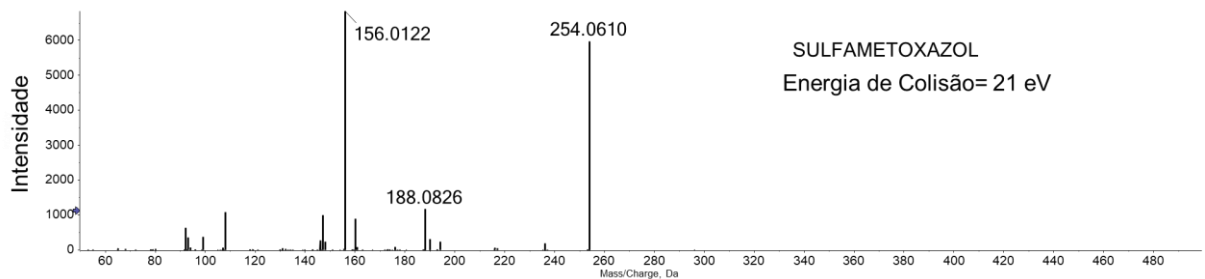


Figura AII-35. Espectro de Massas: Sulfametoxazol

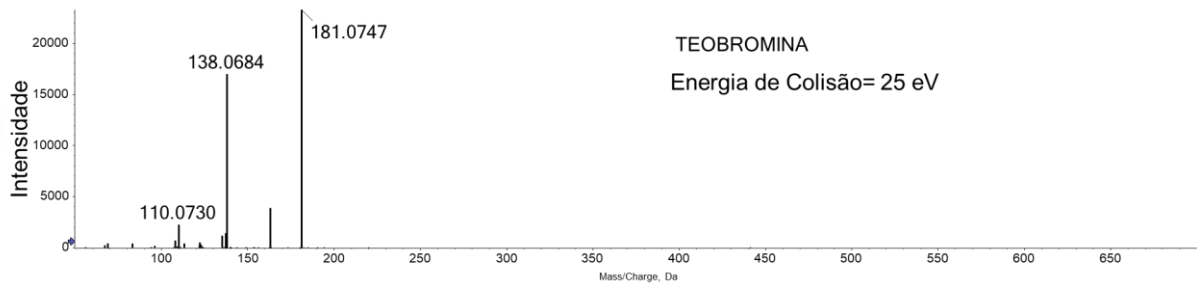


Figura AII-36. Espectro de Massas: Teobromina

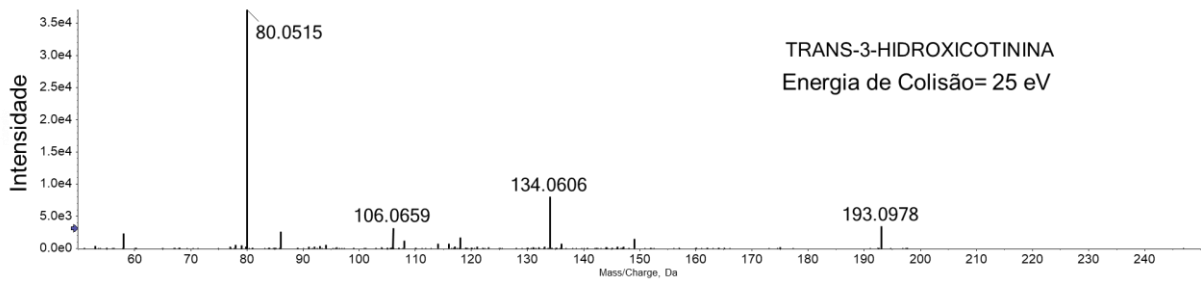


Figura AII-37. Espectro de Massas: Trans-3-hidroxicotina

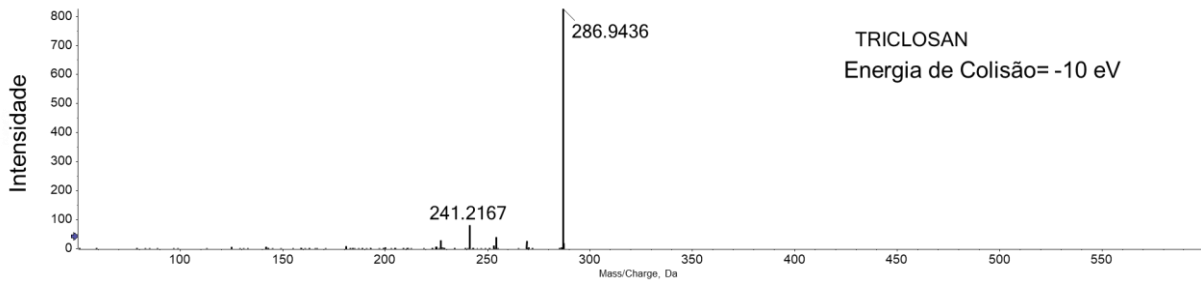


Figura AII-38. Espectro de Massas: Triclosan

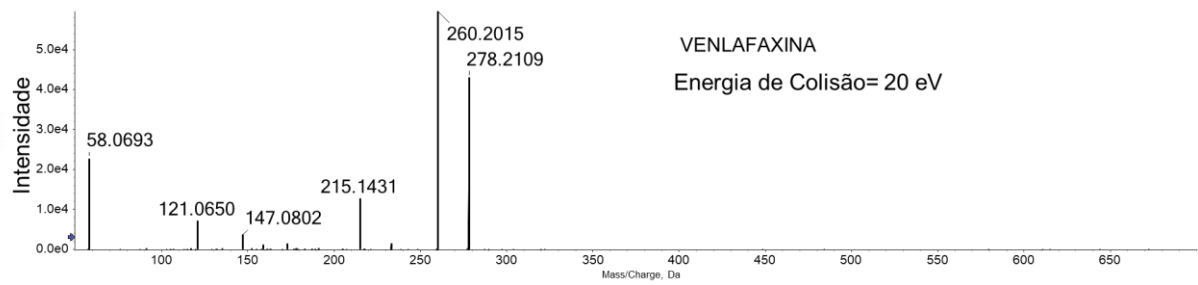


Figura AII-39. Espectro de Massas: Venlafaxina