



Izabella Almirante Porto Tiburcio Rodrigues

**Desenvolvimento de Método
para Avaliação Ambiental de
Compostos Emergentes e sua
Aplicação em Lagoa Costeira**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre pelo Programa
de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio.

Orientador: Prof. Carlos German Massone

Rio de Janeiro
Abril de 2024

Izabella Almirante Porto Tiburcio Rodrigues

**Desenvolvimento de Método
para Avaliação Ambiental de
Compostos Emergentes e sua
Aplicação em Lagoa Costeira**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Carlos German Massone
Orientador
Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Ricardo Queiroz Aucélio
Departamento de Química - PUC- Rio

Dr. José Antônio Baptista Neto
Universidade Federal Fluminense – UFF

Dr. Cassia de Oliveira Farias
Universidade Estadual do Rio de Janeiro - UERJ

Rio de Janeiro, 25 de Abril de 2024

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Izabella Almirante Porto Tiburcio Rodrigues

Graduou-se em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 2020.

Ficha catalográfica

Rodrigues, Izabella Almirante Porto Tiburcio

Desenvolvimento de método para avaliação ambiental de compostos emergentes e sua aplicação em lagoa costeira / Izabella Almirante Porto Tiburcio Rodrigues ; orientador: Carlos German Massone. – 2024.

118 f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química, 2024.

Inclui bibliografia

1. Química – Teses. 2. Contaminantes emergentes. 3. GC-MS. 4. Lagoas costeiras. 5. Análise traço. I. Massone, Carlos German. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título.

CDD: 540

Ao meu amado amigo Pedro,
cuja memória ficará para
sempre em meu coração.

Agradecimentos

Agradeço de coração a todas as pessoas que tornaram possível a realização desta dissertação de mestrado.

Primeiramente, aos meus amados pais, Márcia e Antônio, por serem o suporte mais irrestrito e maravilhoso que uma pessoa pode ter. Obrigada por me educarem com tanto amor e por continuarem ao meu lado, incentivando-me em cada passo desta jornada.

Ao meu querido marido, Felipe Lopes, o homem mais guerreiro e parceiro que poderia ter ao meu lado. Agradeço por todo o apoio incondicional e por compartilhar comigo cada desafio e conquista.

Agradeço também à minha Anna Gabriela, por viver minhas loucuras comigo e por ser sempre um porto seguro nos momentos de incerteza.

Ao meu orientador, Carlos German Massone, pelo cuidado e dedicação impecáveis ao longo deste trabalho. Agradeço por manter-me tranquila mesmo quando tudo parecia dar errado, por enfrentar as dificuldades ao meu lado e por sempre direcionar-me no caminho certo.

Aos colegas do LABMAM, em especial a Beatriz, Otoniel, Regina, Kamila e Diana, que tanto me ajudaram ao longo deste percurso. Suas contribuições foram inestimáveis e tornaram este trabalho ainda mais enriquecedor.

A todos os professores do Departamento de Química da PUC-Rio, que não apenas me ensinaram, mas também me acolheram de forma calorosa e incentivaram meu crescimento acadêmico e pessoal.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), pela bolsa de isenção de taxas acadêmicas e pela oportunidade de desenvolvimento acadêmico que me foi fornecida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço também à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio concedido no âmbito do Auxílio Básico à Pesquisa (APQ1) em ICTs Sediadas no Estado do Rio De Janeiro – 2021, sob o número do processo SEI-260003/000308/2022 - Ref. Proc. E-26/210.418/2022, que auxiliou no financiamento do projeto “Contaminantes Emergentes: Fármacos em sistemas lagunares urbanos”, ao qual esta dissertação está vinculada.

Por fim, expresso minha gratidão a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para esta conquista. Seja com palavras de incentivo, apoio prático ou simplesmente com sua presença ao longo dessa jornada.

A todos vocês, o meu mais sincero obrigado. Este trabalho não seria possível sem o apoio e colaboração de cada um de vocês.

Resumo

Tiburcio Rodrigues, Izabella A. P.; Massone, C. G. **Desenvolvimento de Método para Avaliação Ambiental de Compostos Emergentes e sua Aplicação em Lagoa Costeira**. Rio de Janeiro, 2024. 118p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Estuários são corpos de água costeiros semi-fechados que servem como receptores finais de matéria orgânica. Os “contaminantes emergentes” correspondem, na maioria dos casos, a contaminantes não regulamentados, que podem ser candidatos a regulamentação futura, dependendo da pesquisa sobre seus efeitos potenciais para a saúde e dados de monitoramento relativos à sua ocorrência. Este é o caso dos produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais (PPCPs) que possuem origem da contaminação antropogênica pela liberação contínua em águas residuárias ou diretamente no meio ambiente (via excreção humana e animal) sendo frequentemente persistentes e bioacumuláveis com difícil avaliação precisa do impacto no meio ambiente pela infinidade de fontes de entrada no ambiente. Este trabalho visa então o monitoramento de PPCPs na Lagoa de Piratininga que se localiza a leste da Baía de Guanabara, a qual passa por um acelerado processo de expansão residencial e comercial. Visando a otimização de tempo e custo, a extração das amostras foi definida com base em testes de diferentes metodologias, como a extração em fase sólida (SPE), etapa necessária para purificação do extrato. A identificação e quantificação foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas em modo de monitoramento seletivo de íons (SIM) por aliar sensibilidade à elevada seletividade. Para análise por cromatografia gasosa ambos os métodos, porém, necessitam de prévia derivatização para formação de composto volátil. Para avaliar a qualidade do método, foi confirmada a linearidade das curvas analíticas pelo valor do coeficiente de determinação (R^2) e pelo teste F na análise da variância (ANOVA) da regressão. A homocedasticidade dos dados foi confirmada pelo teste de Breusch e Pagan. O Limite de Detecção (LD) variou de 0,11 a 0,52 ng g⁻¹. A repetibilidade, expressa através do desvio padrão relativo

(DPR) apresentou valores inferiores a 30 %. A recuperação média dos analitos variou de 60 % a 118 %. O método validado foi aplicado para a análise do sedimento da Lagoa de Piratininga e obteve resultados que indicam uma presença significativa dos fármacos bisfenol A, β -estradiol e ibuprofeno.

Palavras-chave:

Compostos emergentes; Desenvolvimento de método; Lagoas costeiras.

Abstract

Tiburcio Rodrigues, Izabella A. P.; Massone, C. G. **Method Development for Environmental Assessment of Emerging Compounds and Its Application in a Coastal Lagoon.** Rio de Janeiro, 2024. 118p. Master dissertation – Chemistry Department, Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro.

Estuaries are defined as a semi-enclosed water that serve as final receptors of organic matter. “Emerging contaminants” correspond, in most cases, to unregulated contaminants, which may be candidates for future regulation depending on research on their potential health effects and monitoring data regarding their occurrence. This is the case of the pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) which the contamination origin is above all anthropogenic and continuously released in wastewater or directly in the environment (via human and animal excretion). They are more often persistent and bioaccumulable and the accurate assessment of PPCPs impact on the environment is as difficult as there is a multitude of input sources in environment. This work then aims to monitor PPCPs in the Piratininga lagoon which is located east of the Guanabara Bay, that is undergoing an accelerated process of residential and commercial expansion. In order to optimize time and cost, the sample extraction was defined based on tests of different methodologies, such as Solid Phase Extraction (SPE), a necessary step for extract purification. Identification and quantification were performed by gas chromatography coupled with mass spectrometry in Selected Ion Monitoring mode (SIM), combining sensitivity with high selectivity. For gas chromatography analysis, both methods, however, require prior derivatization to form a volatile compound. To assess the quality of the method, the linearity of the analytical curves was confirmed by the coefficient of determination (R^2) value and by the F-test in the analysis of variance (ANOVA) of the regression. The homoscedasticity of the data was confirmed by the Breusch-Pagan test. The Limit of Detection (LOD) ranged from 0.11 to 0.52 ng g⁻¹. Repeatability, expressed

through the relative standard deviation (RSD), showed values below 30%. The average recovery of the analytes ranged from 59,8% to 100,7%. The validated method was applied to analyze sediment from Piratininga Lagoon and obtained results indicating a significant presence of the pharmaceuticals bisphenol A, β -estradiol, and ibuprofen.

Keywords:

Emerging compounds; Method development; Coastal lagoons.

Sumário

1.	Introdução.....	20
2.	Objetivos.....	22
2.1	Objetivos Gerais	22
2.2	Objetivos Específicos	22
3.	Revisão Bibliográfica E Fundamentos Teóricos	23
3.1	Contaminantes Emergentes	23
3.1.1	Ppcps: Definição E Histórico	23
3.1.2	Ppcps: Efeitos Tóxicos Potenciais E Quantificação	24
3.1.3	Ppcps Como Marcadores De Atividade Antrópica	25
3.2	A Lagoa De Piratininga	25
3.3	Metodologia Analítica Para Determinação De Fármacos Em Sedimento	26
3.3.1	Extração Assistida Por Ultrassom (Usae)	27
3.3.2	Extração Em Fase Sólida (Spe)	27
3.3.3	Análise Por Gc/Ms	28
3.3.4	Derivatização Por Sililação	29
4.	Materiais E Métodos.....	30
4.1	Padrões, Reagentes E Solventes	30
4.2	Equipamentos E Acessórios	37
4.3	Implementação Da Metodologia Analítica	37
4.3.1	Preparo Da Curva Analítica	37
4.3.2	Coleta Das Amostras	38
4.3.3	Processamento, Homogeneização E Conservação Das Amostras	40
4.3.4	Extração Em Fase Sólida	44
4.4	Parâmetros De Desempenho Do Método	44
4.4.1	Seletividade	44
4.4.2	Linearidade E Faixa Linear De Trabalho	45
4.4.3	Homodecasticidade	46
4.4.4	Limite De Detecção (Ld) E Limite De Quantificação (Lq)	47
4.4.5	Repetibilidade	48
4.4.6	Precisão Intermediária	49

4.4.7	Ensaio De Recuperação	50
5.	Resultados E Discussão	52
5.1	Otimização Da Derivatização	52
5.2	Otimização Do Sistema Gc-Ms: Parâmetros Cromatográficos	53
5.3	Parâmetro De Qualidade Do Método	54
5.3.1	Seletividade	54
5.3.2	Linearidade E Faixa Linear De Trabalho	55
5.3.3	Homocedasticidade	67
5.3.4	Limite De Detecção (Ld) E Limite De Quantificação (Lq)	71
5.3.5	Repetibilidade	76
5.3.6	Precisão Intermediária	85
5.3.7	Ensaio De Recuperação	91
5.4	Aplicação Do Método	94
6.	Conclusão	108
7.	Referências Bibliográficas	110

Lista de abreviaturas e siglas

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i> (Tradução: Associação Oficial de Químicos Analíticos)
BSTFA	N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamida
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil
CMD	Concentração Média Determinada
CV	Coeficiente de Variação
DP	Desvio Padrão
DPR	Desvio Padrão Relativo
ESI-(QqLIT)	Espectrometria de massas com ionização por electrospray
MS/MS	acoplada a um sistema de análise em tandem com quadrupolo linear de armadilha iônica
ETARs	Estações de Tratamento de Águas Residuais
ETE	Estações de Tratamento de Esgoto
FAPERJ	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FS	<i>Full Scan</i> (Tradução: Varredura Completa)
GC	<i>Gas Chromatography</i> (Tradução: Cromatografia a Gás)
GC-MS	<i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i> (Tradução: Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas)
GC-MS-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Tradução: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
HRMS	<i>High-Resolution Mass Spectrometry</i> (Tradução: Cromatografia Gasosa de Alta Resolução)
ICSC	<i>International Chemical Safety Cards</i> (Tradução: Cartões Internacionais de Segurança Química)

INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LC	<i>Liquid Chromatography</i> (Tradução: Cromatografia Líquida)
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAE	<i>Microwave Assisted Extraction</i> (Tradução: Extração Assistida por Micro-ondas)
MQO	Mínimos Quadrados Ordinários
MQP	Mínimos Quadrados Ponderados
PI	Padrão Interno
PLE	<i>Pressurized Liquid Extraction</i> (Tradução: Extração Líquida Pressurizada)
PPCPs	<i>Pharmaceutical and Personal Care Products</i> (Tradução: Produtos Farmacêuticos e de Cuidados Pessoais)
QGIS	<i>Quantum Geographic Information System</i> (Software)
SIM	<i>Scan Ion Mode</i> (Tradução: Monitoramento Seletivo de Íons)
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> (Tradução: Extração em Fase Sólida)
SPME	<i>Solid Phase Microextraction</i> (Tradução: Microextração em Fase Sólida)
TMCS	Trimetilclorosilano
USAE	Ultrasound-Assisted Extraction (Tradução: Extração Assistida por Ultrassom)

Lista de Figuras

Figura 1: Derivação do ibuprofeno pela reação de silição (Chyc, Marek; Sawczak, Jowita; Wiąckowski, Krzysztof, 2020)	29
Figura 2: Mapa dos pontos de coleta na Lagoa de Piratininga.	40
Figura 3: Cromatograma obtido em FS pela utilização de acetonitrila como solvente para derivatização	52
Figura 4: Cromatograma obtido em FS pela utilização de piridina como solvente para derivatização	53
Figura 5: Curva analítica obtida para o analito β -estradiol	56
Figura 6: Curva analítica obtida para o analito Bisfenol A	57
Figura 7: Curva analítica obtida para o analito Carbamazepina	58
Figura 8: Curva analítica obtida para o analito Diclofenac	59
Figura 9: Curva analítica obtida para o analito Etofibrato	60
Figura 10: Curva analítica obtida para o analito Ibuprofeno	61
Figura 11: Curva analítica obtida para o analito Nadolol	62
Figura 12: Curva analítica obtida para o analito Napropamida	63
Figura 13: Curva analítica obtida para o analito Naproxen	64
Figura 14: Curva analítica obtida para o analito Triclosan	65
Figura 15: Curva analítica ponderada obtida para o analito Naproxen	69
Figura 16: Curva analítica ponderada obtida para o analito Triclosan	70

Figura 17: Mapa de distribuição da contaminação por Bisfenol A na Lagoa de Piratininga.	97
Figura 18: Mapa de distribuição da contaminação por β -Estradiol na Lagoa de Piratininga.	97
Figura 19: Mapa de distribuição da contaminação por Carbamazepina na Lagoa de Piratininga.	98
Figura 20: Mapa de distribuição da contaminação por Ibuprofeno na Lagoa de Piratininga.	98
Figura 21: Mapa de distribuição da contaminação por Triclosan na Lagoa de Piratininga.	99
Figura 22: Mapa de distribuição do percentual de Carbono Orgânico na Lagoa de Piratininga.	100
Figura 23: Mapa de distribuição do percentual de Nitrogênio Orgânico na Lagoa de Piratininga.	101
Figura 24: Razão C/N	101
Figura 25: Mapa de distribuição razão C/N na Lagoa de Piratininga.	102
Figura 26: Matriz de correlação dos dados de sedimentos da Lagoa de Piratininga	103
Figura 27: Resultado da análise de cluster (Agrupamento)	104
Figura 28: Grupos em função das variáveis de entrada	105
Figura 29: Mapa de distribuição dos Grupos na análise Cluster	106

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Fármacos e demais Compostos emergentes de interesse	33
Tabela 2: Pontos de coleta (coordenadas)	39
Tabela 3: Revisão bibliográfica – Solventes de Extração	42
Tabela 4: Critério de aceitação para repetibilidade (AOAC, 2016; INMETRO, 2020)	49
Tabela 5: Critério de aceitação para recuperação (AOAC, 2016; INMETRO, 2020)	51
Tabela 6: Condições Instrumentais do GC-MS	53
Tabela 7: Tempos de Retenção, íons precursores e íons de confirmação	54
Tabela 8: ANOVA Test para o analito β -estradiol	56
Tabela 9: ANOVA Test para o analito Bisfenol A	57
Tabela 10: ANOVA Test para o analito Carbamazepina	58
Tabela 11: ANOVA Test para o analito Diclofenac	59
Tabela 12: ANOVA Test para o analito Etofibrato	60
Tabela 13: ANOVA Test para o analito Ibuprofeno	61
Tabela 14: ANOVA Test para o analito Nadolol	62
Tabela 15: ANOVA Test para o analito Napropamida	63
Tabela 16: ANOVA Test para o analito Naproxen	64

Tabela 17: ANOVA Test para o analito Triclosan	65
Tabela 18: Resultado BP Test para análise de Homocedasticidade. Valores não ideais em destaque	67
Tabela 19: ANOVA Test para os analitos Naproxen e Triclosan	70
Tabela 20: Limites de Detecção e Limites de Quantificação para os fármacos analisados	72
Tabela 21 – Revisão bibliográfica – Limites de Detecção e Limites de Quantificação	73
Tabela 22: Análise de repetibilidade – β -Estradiol	76
Tabela 23: Análise de repetibilidade – Bisfenol A	77
Tabela 24: Análise de repetibilidade – Carbamazepina	78
Tabela 25: Análise de repetibilidade – Diclofenac	79
Tabela 26: Análise de repetibilidade – Etofibrato	80
Tabela 27: Análise de repetibilidade – Ibuprofeno	81
Tabela 28: Análise de repetibilidade – Nadolol	82
Tabela 29: Análise de repetibilidade – Napropamida	83
Tabela 30: Análise de repetibilidade – Naproxen	84
Tabela 31: Análise de repetibilidade – Triclosan	85
Tabela 32: Precisão Intermediária β -Estradiol	86
Tabela 33: Precisão Intermediária Bisfenol A	86
Tabela 34: Precisão Intermediária Carbamazepina	87
Tabela 35: Precisão Intermediária Diclofenac	87

Tabela 36: Precisão Intermediária Etofibrato	88
Tabela 37: Precisão Intermediária Ibuprofeno	88
Tabela 38: Precisão Intermediária Nadolol	89
Tabela 39: Precisão Intermediária Napropamida	89
Tabela 40: Precisão Intermediária Naproxen	90
Tabela 41: Precisão Intermediária Triclosan	90
Tabela 42: Resultado Ensaio de Recuperação	91
Tabela 43- Revisão bibliográfica – Ensaio de Recuperação	92
Tabela 44: Resultados analíticos em ng/g de concentração de fármacos na Lagoa de Piratininga	95

1. Introdução

O monitoramento de fármacos residuais no meio ambiente vem ganhando grande interesse devido ao fato de muitas dessas substâncias serem freqüentemente encontradas em efluentes de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e águas naturais, em concentrações na faixa de $\mu\text{g/L}$ e ng/L . (Billa e Dezotti, 2003).

Após a administração, uma parte significativa dos fármacos é excretada por humanos no esgoto doméstico. Estudos demonstram que várias dessas substâncias parecem ser persistentes no meio ambiente e não são completamente removidas nas ETEs. Sendo assim, muitos fármacos residuais resistem a vários processos de tratamento convencional de água (Billa e Dezotti, 2003).

Os “contaminantes emergentes” correspondem, na maioria dos casos, a contaminantes não regulamentados, que podem ser candidatos a regulamentação futura, dependendo da pesquisa sobre seus efeitos potenciais para a saúde e dados de monitoramento relativos à sua ocorrência (Barceló, 2003).

Buscando compreender o impacto ambiental do consumo de fármacos, este estudo avaliou a contaminação ambiental por 10 produtos de larga utilização e com diferentes propriedades, são eles: Napropamida, Diclofenac, Naproxen, Triclosan, Ibuprofeno, β -estradiol, Bisfenol A, Nadolol, Etofibrato e Carbamazepina.

O local escolhido para esta análise foi a Lagoa de Piratininga. Com projeto de revitalização iniciado, a Lagoa vem passando por um acelerado processo de expansão residencial e comercial desde a década de 70, com a inauguração da ponte Rio-Niterói e a entrada de grandes agentes imobiliários e de financiamento público de habitação e infraestrutura como implantação de sistemas de engenharia para estabilização hídrica e de sucessivos aterros para ganho de áreas edificáveis que já ocorriam desde os anos 1940 (Palmeira, 2012; Fontenelle e Corrêa, 2014).

Este estudo faz parte do Projeto “Contaminantes Emergentes: Fármacos em sistemas lagunares urbanos” financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) no âmbito do Auxílio Básico à Pesquisa

(APQ1) em ICTs Sediadas no Estado do Rio De Janeiro – 2021, sob o número do processo SEI-260003/000308/2022 - Ref. Proc. E-26/210.418/2022.

2. Objetivos

2.1 Objetivos Gerais

O objetivo geral deste trabalho consistiu em desenvolver e implementar uma metodologia de caracterização ambiental de fármacos em sedimentos lagunares, seguido pela sua aplicação como traçadores de contaminação antrópica na Lagoa de Piratininga.

2.2 Objetivos Específicos

Como objetivos específicos destacam-se:

(i) Otimização do processo de extração de amostras por Extração Assistida por Ultrassom, com a finalidade de minimizar a manipulação do extrato;

(ii) Desenvolvimento de método específico para a análise destes poluentes por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS);

(iii) Otimizar o procedimento experimental de Extração em fase Sólida (SPE) para sua aplicação em determinação de fármacos em fontes ambientais, como sedimentos lagunares, e;

(iv) Pretende-se, a partir dos dados obtidos, realizar a avaliação ambiental da Lagoa de Piratininga a fim de compreender e relacionar a sua dinâmica ambiental com a ocupação urbana circundante, identificando possíveis fontes de contaminação.

3. Revisão Bibliográfica e Fundamentos Teóricos

3.1 Contaminantes Emergentes

Os “contaminantes emergentes” correspondem, na maioria dos casos, a contaminantes não regulamentados, que podem ser candidatos a regulamentação futura, dependendo da pesquisa sobre seus efeitos potenciais para a saúde e dados de monitoramento relativos à sua ocorrência. Exemplos de compostos que surgiram recentemente como particularmente relevantes são surfactantes, produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais (PPCPs) e aditivos para gasolina (Barceló, 2003).

A característica desses grupos de contaminantes é que eles não precisam persistir no meio ambiente para causar efeitos negativos, uma vez que suas altas taxas de transformação/remoção podem ser compensadas por sua introdução contínua no meio ambiente. Para a maioria desses contaminantes emergentes, a ocorrência, avaliação de risco e dados ecotoxicológicos não estão disponíveis, então é difícil prever quais efeitos à saúde eles podem ter em humanos e organismos aquáticos (Barceló, 2003).

3.1.1 PPCPs: Definição e Histórico

Os PPCPs, como a maioria dos micropoluentes orgânicos, possuem origem da contaminação antropogênica pela liberação contínua em águas residuárias ou diretamente no meio ambiente (via excreção humana e animal), por isso chamaram a atenção da comunidade científica por não resultarem principalmente da fabricação, mas do uso contínuo e difundido na prática clínica humana e veterinária. São substâncias mais frequentemente persistentes e bioacumuláveis e a avaliação precisa do impacto dos PPCPs no meio ambiente é difícil, pois há uma infinidade de fontes de entrada no ambiente sem dados quantitativos evidentes disponíveis sobre a distribuição de todas as fontes de emissão (Perez Solsona e Barceló, 2007; Mompelat et al, 2009).

Estudos de monitoramento no meio ambiente têm demonstrado a descarga de produtos farmacêuticos e seus metabólitos por meio de estações de tratamento de

águas residuais municipais (ETARs). Embora drogas inalteradas possam sofrer transformações bioquímicas durante o tratamento de esgoto, alguns estudos indicam que a ausência de fármacos na água tratada não implica necessariamente em sua remoção completa. Na maioria dos casos, as drogas para uso humano são metabolizadas no corpo em compostos mais polares que são mais propensos a passar pelo tratamento de esgoto (Perez Solsona e Barceló, 2007).

3.1.2 PPCPs: Efeitos tóxicos potenciais e quantificação

A descarga descontrolada de compostos orgânicos nos meios ambientais levou à sua acumulação em sedimentos e solo, tornando-os a fonte secundária de poluição com potencialmente prejudicial efeito para a saúde humana e ecossistemas (Radović, et al, 2015). Porém, a característica desses grupos de contaminantes é que não precisam persistir no ambiente para causar efeitos negativos, uma vez que suas altas taxas de transformação e remoção podem ser compensadas por sua contínua introdução no ambiente (Barceló, 2003).

Além de serem um reservatório de poluentes, os sedimentos são uma fonte de contaminação quando ocorrem alterações na composição química da fase aquosa, perturbações antropogênicas ou atividade biológica que remobilizam os poluentes. Adicionalmente, a biota aquática está exposta aos poluentes acumulados nos sedimentos e pode transferir concentrações potencialmente tóxicas através da cadeia alimentar para os seres humanos (Radović, et al, 2015).

Muitos acreditam que, entre todos os contaminantes emergentes, os antibióticos são de maior preocupação; no entanto, outros compostos, especialmente os metabólitos polares e as misturas complexas (coquetéis químicos), apresentam grandes desafios para os toxicologistas. A metodologia analítica para diferentes grupos de contaminantes emergentes ainda é insuficiente e, embora existam métodos para analisar cada um desses compostos individualmente, a questão-chave é desenvolver métodos de multi-resíduos nos quais diferentes classes de compostos possam ser determinadas por uma única análise rápida (Barceló, 2003).

3.1.3 PPCPs como marcadores de atividade antrópica

Segundo Azzouz e Ballesteros, 2012, anualmente, toneladas de substâncias farmacêuticas são utilizadas na medicina humana para diagnóstico, tratamento ou prevenção. Por exemplo, a criação de animais e peixes depende amplamente de medicamentos, principalmente administrados como aditivos alimentares para prevenir doenças, promover o crescimento ou combater parasitas. Medicamentos humanos e veterinários são continuamente liberados no meio ambiente principalmente como resultado de processos de fabricação, descarte de produtos não utilizados ou expirados e excreções.

3.2 A lagoa de Piratininga

Estuários são corpos de água costeiros semi-fechados que tem uma ligação livre com o mar e nos quais a água do mar se dilui de forma mensurável, com água doce proveniente da drenagem terrestre (Cameron e Pritchard, 1963) e servem como receptores finais de matéria orgânica natural e antropogênica derivada da terra e transportada pelo rio e pela atmosfera (Gagosian e Peltzer, 1986).

A matéria orgânica presente nos corpos d'água e nos esgotos é uma característica de primordial importância. Os principais componentes orgânicos são os compostos de proteína, os carboidratos, a gordura e os óleos, além da uréia, surfactantes, fenóis, pesticidas e outros em menor quantidade. Essa matéria é então dividida nas seguintes frações: não biodegradável e biodegradável que se apresentam em suspensão ou dissolvidas (von Sperling, 2005).

Localizada na Região Oceânica de Niterói, a Lagoa de Piratininga apresenta uma área de 3,16 km² em dados de 2011 sendo associada ao sistema lagunar Piratininga – Itaipu, que localiza-se na costa leste da Baía de Guanabara. São as primeiras lagoas, de uma série de quinze compreendidas entre Niterói e Cabo Frio, situando-se a cerca de 40 Km do centro da cidade do Rio de Janeiro, e seus principais contribuintes fluviais são o Rio Jacaré e o Córrego do Arrozal, ambos de pequeno porte e localizados em áreas cobertas por florestas em bom estado de

conservação. Os percursos naturais dos rios e córregos que a integram foram alterados e canalizados, o que contribuiu para a deterioração da Lagoa e sua borda (Knoppers et al., 1991; de Aquino, 2019).

A Lagoa está passando por um acelerado processo de expansão residencial e comercial desde a década de 70, com a inauguração da ponte Rio-Niterói e a entrada de grandes agentes imobiliários e de financiamento público de habitação e infraestrutura como implantação de sistemas de engenharia para estabilização hídrica e de sucessivos aterros para ganho de áreas edificáveis que já ocorriam desde os anos 1940. A orla da Lagoa de Piratininga foi ocupada por uma população de baixa renda, ao longo dos anos; na maioria pescadores que tiram da Lagoa a sua fonte de renda e por trabalhadores do setor terciário. Esses moradores são carentes de espaços públicos voltados ao lazer e precisam também melhorar as condições de acesso às moradias e à própria Lagoa (Palmeira, 2012; Fontenelle e Corrêa, 2014).

Sua ligação com o Oceano Atlântico é feita pelo canal do Tibau, um túnel artificial de 988 m de comprimento escavado no costão rochoso de Piratininga ligando esta lagoa permanentemente ao mar, e permitindo a entrada de água devido ao movimento das marés. Um sistema de comportas impede o retorno da água pelo canal do Tibau, forçando sua saída pelo canal de Camboatá na outra extremidade, garantindo a circulação e a manutenção de uma profundidade mínima adequada (Palmeira, 2012). Atualmente, depois da abertura do Canal do Tibau, não se tem registro da amplitude de maré, em Piratininga e o tempo de residência da água é de aproximadamente 39 dias (3º Relatório Parcial do Inventário da Biota, 2019).

3.3 Metodologia Analítica para Determinação de Fármacos em Sedimento

Os potenciais riscos ecológicos e para a saúde humana associados à presença de produtos farmacêuticos e de cuidados pessoais, hormônios e compostos desreguladores endócrinos em matrizes sólidas exigem o desenvolvimento de

métodos analíticos rápidos, sensíveis e diretos para apoiar a investigação das suas ocorrências e comportamento ambiental (Xu et al., 2008).

3.3.1 Extração Assistida por Ultrassom (USAE)

Diferentes técnicas têm sido utilizadas para extrair contaminantes de amostras sólidas, sendo a maioria dos métodos disponíveis geralmente baseada em ultrassom (Darwano, et al., 2014).

A relevância da extração assistida por ultrassom para a investigação de contaminantes emergentes em matrizes sólidas ambientais (por exemplo, sedimentos, solo e lodo) tem ganhado atenção, conforme revelado nos diversos estudos baseados nessa técnica publicados nos últimos tempos (Ohoro, et al, 2019).

A extração assistida por ultrassom (USAE) é uma alternativa barata, eficiente e de fácil operação quando comparada às técnicas clássicas. Seus tempos de extração mais curtos (5–45 min) e menor consumo de solvente são as principais vantagens associadas à essa técnica (Díaz e Peña-Alvarez, 2017).

3.3.2 Extração em fase Sólida (SPE)

A limpeza da amostra antes da separação cromatográfica se mostra essencial para melhorar a sensibilidade e a qualidade geral da análise de produtos farmacêuticos (Zhou e Broodbank, 2014). Em estudos ambientais, a extração em fase sólida é amplamente utilizada para extrair produtos farmacêuticos de matrizes aquosas (Togola e Budzinski, 2007)

O experimento de Zhou e Broodbank, 2014, comparou técnicas como SPE e coluna de sílica/alumina. SPE superou as colunas de sílica/alumina com recuperações mais altas. Ainda segundo o estudo, produtos farmacêuticos poderiam ter interagido de maneira diferente com as colunas de sílica/alumina e o sorvente SPE, levando a uma disparidade nas recuperações.

Resumindo, as descobertas apresentadas na bibliografia apoiam a conclusão de que o SPE é o método preferido de limpeza para múltiplas classes de produtos farmacêuticos porque produziu as melhores recuperações para a maioria dos compostos.

3.3.3 Análise por GC/MS

Embora, em combinação com cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) com detecção espectrométrica leve a métodos rápidos e reprodutíveis, os métodos são menos sensíveis (faixa $\mu\text{g/L}$) e, na maioria das vezes, são específicos para um composto ou para vários com estruturas químicas semelhantes (Togola e Budzinski, 2007).

A principal vantagem do GC-MS é a sua alta seletividade e a capacidade de fragmentar poluentes em matrizes complexas. Assim, isto torna a biblioteca de espectrometria de massa muito útil na identificação destes compostos no meio ambiente (Gumbi, 2017).

Novos detectores espectrométricos, por exemplo MS/MS com LC ou GC são mais sensíveis e permitem a redução dos limites de detecção para abaixo da faixa de ng/L . No entanto, compostos interferentes e interferências de matriz podem reduzir a aplicabilidade desses métodos a amostras de água complexas, como águas residuais afluentes ou efluentes. Outras desvantagens são que estes equipamentos são caros e os métodos podem ser complexos de desenvolver (Togola e Budzinski, 2007).

Segundo Togola e Budzinski, 2007, a aplicação de GC-MS pode superar esses problemas e reduzir o custo da análise. O GC-MS permite análises rápidas e é mais fácil de desenvolver e gerenciar. Quando comparada com as diversas técnicas cromatográficas disponíveis, a técnica de GC-MS oferece alta seletividade com menor custo associado, o que implica em uma metodologia analítica mais reprodutível.

3.3.4 Derivatização por Sililação

Os PPCPs frequentemente são submetidos à derivatização antes da análise por GC-MS devido à sua não detecção e/ou baixa volatilidade. Este procedimento é crucial para alcançar a máxima sensibilidade dos compostos alvo. Existem diversas metodologias de derivatização, como acilação, alquilação e sililação, que têm sido utilizadas para melhorar a detecção de compostos farmacologicamente ativos por GC-MS (Ademoyegun, 2020; Blau, K.; Halket, J. M, 1993).

Dentre as técnicas disponíveis, e com base na revisão bibliográfica realizada, optou-se pela otimização de metodologia baseada na utilização da técnica de sililação, que possui vasta aplicação na análise de produtos farmacêuticos. A figura 1 apresenta a reação de sililação para o composto ibuprofeno.

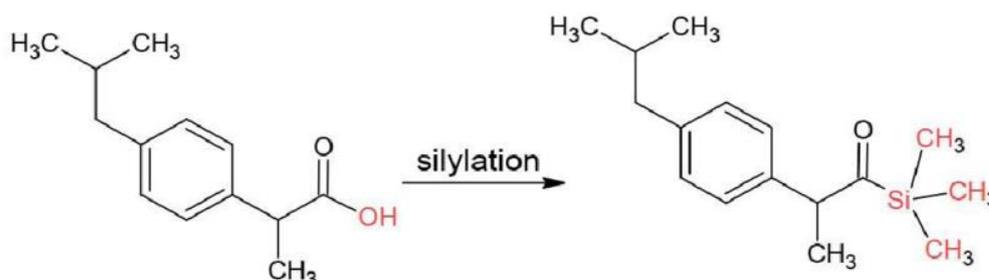


Figura 1: Derivação do ibuprofeno pela reação de sililação (Chyc, Marek; Sawczak, Jowita; Wiąckowski, Krzysztof, 2020)

Com o objetivo de otimizar a derivatização dos compostos, foram avaliadas diferentes condições experimentais. Foram variadas a temperatura de reação (Temperatura ambiente, 50 °C e 80 °C), o tempo (1 h, pernoite) e as quantidades de reagentes (100 µL de BSTFA-TMCS e 250 µL de acetonitrila, 200 µL de BSTFA-TMCS e 250 µL de acetonitrila, 100 µL de BSTFA-TMCS e 200 µL de acetonitrila).

4. Materiais e Métodos

4.1 Padrões, Reagentes e Solventes

Para este trabalho, foi escolhida uma gama de diferentes compostos, com aplicações diversas e de larga utilização como forma de realizar um paralelo com a atividade antrópica. Os padrões analíticos utilizados foram adquiridos junto à Merck Sigma-Aldrich (napropamida, diclofenac, trifenílfosfato (PI), naproxen, triclosan, ibuprofeno, β -estradiol, bisfenol A) e à Conquest (nadolol, etofibrato, carbamazepina).

O ibuprofeno surgiu como uma alternativa segura e eficaz para o tratamento de inflamações e dores. Originado na década de 1960, após a retirada do mercado do ibufenaco devido à sua hepatotoxicidade, o ibuprofeno foi introduzido na Inglaterra em 1967 e nos Estados Unidos em 1974. Pertencente à classe dos ácidos propiônicos, juntamente com fenoprofeno e naproxeno, o ibuprofeno demonstrou não apenas um efeito anti-inflamatório comprovado, mas também uma tolerância gastrointestinal relativa em comparação com outros medicamentos (Kantor, 1979). O ibuprofeno destaca-se como uma opção confiável e amplamente utilizada devido à sua eficácia, segurança e longa história de uso clínico. Durante a pandemia de covid, o ibuprofeno continuou a ser empregado como analgésico e redutor de febre, apesar da especulação inicial de que poderia piorar a condição dos pacientes com covid, demonstrando assim sua versatilidade e importância na prática clínica (Tsetskhladze, 2023).

O Naproxen é um medicamento anti-inflamatório não esteroide (AINE) recomendado para uso em condições dolorosas e inflamatórias reumáticas e em certas condições não reumáticas (Todd, 1990). O Naproxen foi introduzido no mercado pela Syntex em 1976 e sua patente expirou em dezembro de 1993. Em 1991, antes da expiração da patente, Naproxen ocupava o quarto lugar em vendas de produtos farmacêuticos opticamente puros (Harrington e Lodewijk, 1997).

O Triclosan, originário da empresa Ciba-Geigy, na Suíça, na década de 1960, é um ingrediente amplamente utilizado em produtos para cuidados com a pele há mais de 60 anos, oferecendo uma atividade antimicrobiana imediata e de amplo espectro em preparações tópicas apropriadas. Utilizado nos Estados Unidos desde a década de

1960 em desodorantes e sabonetes desodorantes, foi introduzido na indústria de saúde em 1972 como parte de esfregaços cirúrgicos e, posteriormente, em 1985, em pastas de dentes na Europa. Atualmente, é encontrado em uma variedade de produtos de consumo e profissionais em todo o mundo, incluindo sabonetes líquidos, géis de banho, cremes para as mãos e pastas de dentes (Jones et al, 2000).

A Napropamida pertence à família de herbicidas amidas, sendo um dos herbicidas pré-emergentes mais comumente usados para frutas, vegetais e culturas para controlar ervas daninhas de folhas largas. A napropamida é polar e ligeiramente solúvel em água. A napropamida comercial pode penetrar facilmente nos tecidos de organismos e na camada de solo (Qi et al, 2015).

O Bisfenol A (BPA) é um monômero inicialmente desenvolvido como um estrogênio sintético na década de 1890 e mostrou eficácia semelhante ao estrona na estimulação do sistema reprodutivo feminino em ratos na década de 1930. Desde então, o BPA tem sido amplamente utilizado em diversos produtos de consumo, como plásticos (especificamente policarbonato), PVC, embalagens de alimentos, selantes dentários e recibos térmicos. A produção de BPA tem aumentado significativamente ao longo do tempo, com 2,8 milhões de toneladas métricas produzidas em 2002 e uma estimativa de 5,5 milhões de toneladas métricas em 2011 (Rochester, 2013).

A carbamazepina é um derivado de iminostilbeno quimicamente relacionado aos medicamentos antidepressivos tricíclicos. Originalmente, foi comercializada na Europa como um anticonvulsivante. Em 1968, a carbamazepina foi aprovada pela Food and Drug Administration apenas para o tratamento da dor associada à neuralgia trigeminal e neuralgia glossofaríngea (Crill, 1973). Este composto é tipicamente usado para o tratamento de distúrbios epilépticos e dor neuropática. É usado ainda como tratamento de segunda linha para transtorno bipolar e em combinação com um antipsicótico em alguns casos de esquizofrenia quando o tratamento apenas com antipsicótico convencional falhou (Alrashood, 2016).

O Diclofenac é classificado como um medicamento anti-inflamatório não esteroide frequentemente prescrito para o tratamento de artrite, espondilite anquilosante e dor muscular aguda (Tang, 2003). Este fármaco é amplamente prescrito como um anti-

inflamatório não esteroide (AINE) em nível global. Desde sua entrada no mercado dos Estados Unidos na década de 1990, várias formulações de diclofenac foram comercializadas ou submetidas a estudos clínicos. Em dados de 2010, o diclofenac foi utilizado por mais de 1 bilhão de pacientes desde sua introdução comercial e era classificado como o oitavo medicamento mais vendido do mundo (Gan, 2010).

Nadolol é um agente antiarrítmico β -bloqueador sintetizado, testado e desenvolvido nos laboratórios do Squibb Institute for Medical Research (Slusarek e Florey, 1981).

Os fibratos e a niacina têm sido utilizados com sucesso para reduzir a concentração plasmática de triglicerídeos. Esses dois medicamentos têm efeitos sinérgicos sobre os triglicerídeos e a lipoproteína de alta densidade (HDL), com uma ação considerável na redução do colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL). Além disso, observou-se que a combinação desses dois medicamentos resulta em uma redução substancial nos eventos de doença arterial coronariana. As vantagens dessa combinação de medicamentos levaram ao desenvolvimento do etofibrato, no qual o clofibrato e a niacina são ligados covalentemente. (Spósito et al., 2001). Nos Estados Unidos, o número de prescrições de fibratos aumentou de 336 prescrições por 100.000 habitantes em janeiro de 2002 para 730 prescrições por 100.000 habitantes em dezembro de 2009, um aumento de 117,1% (Jackevicius et al., 2011).

Os estrogênios são comumente encontrados em diversos corpos d'água e no solo, representando um potencial risco à saúde para organismos aquáticos e seres humanos, mesmo em níveis tão baixos quanto ng/L. A nocividade e a ampla presença dos estrogênios têm despertado cada vez mais atenção para a biodegradação dessas substâncias em diferentes tipos de corpos d'água, especialmente em águas residuais. Estrogênios naturais, como estrona (E1) e 17 β -estradiol (E2), e estrogênios sintéticos, como o 17 α -etinilestradiol (EE2) proveniente de medicamentos orais, entram nos sistemas de águas residuais municipais por meio dos excrementos humanos e animais (Zhao et al., 2020).

A tabela 1, apresenta informações sobre os compostos escolhidos para a realização deste estudo, como código CAS, peso molecular, fórmula e estrutura químicas, além do uso terapêutico.

Tabela 1 – Fármacos e demais Compostos emergentes de interesse

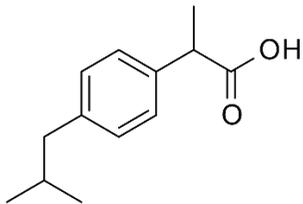
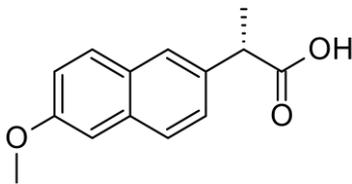
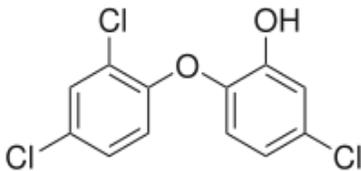
Composto	CAS	Peso Molecular	Fórmula Química	Estrutura Química	Uso Terapêutico
Ibuprofeno	15687-27-1	206.28	$C_{13}H_{18}O_2$		Anti-inflamatório não esteróide (AINE)
Naproxen	22204-53-1	230.26	$CH_3OC_{10}H_6CH(CH_3)CO_2H$		Anti-inflamatório não esteróide (AINE)
Triclosan	3380-34-5	289.54	$C_{12}H_7Cl_3O_2$		Anti-séptico

Tabela 1 – Fármacos e demais Compostos emergentes de interesse

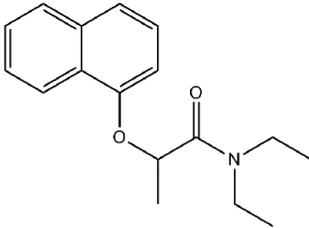
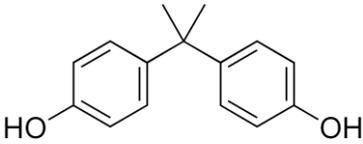
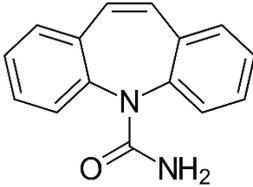
Composto	CAS	Peso Molecular	Fórmula Química	Estrutura Química	Uso Terapêutico
Napropamida	15299-99-7	271.35	$C_{10}H_{17}OCH(CH_3)CON(CH_2CH_3)_2$		Herbicida
Bisfenol A	80-05-7	228.29	$(CH_3)_2C(C_6H_4OH)_2$		Plastificante
Carbamazepina	298-46-4	236.27	$C_{15}H_{12}N_2O$		Anticonvulsivante

Tabela 1 – Fármacos e demais Compostos emergentes de interesse

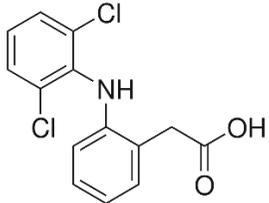
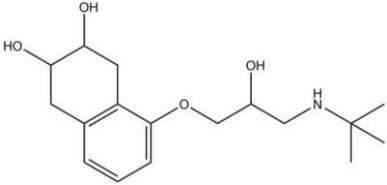
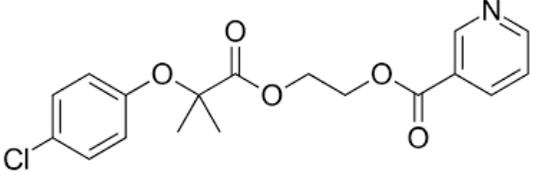
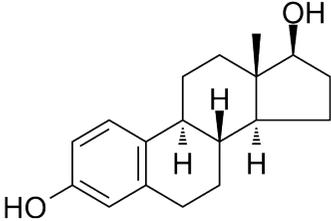
Composto	CAS	Peso Molecular	Fórmula Química	Estrutura Química	Uso Terapêutico
Diclofenac	15307-86-5	296.15	$C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$		Anti-inflamatório não esteróide (AINE)
Nadolol	42200-33-9	309.40	$C_{17}H_{27}NO_4$		Beta-bloqueador
Etofibrato	31637-97-5	363.77	$C_{18}H_{18}ClNO_5$		Fibrato (colesterol)

Tabela 1 – Fármacos e demais Compostos emergentes de interesse

Composto	CAS	Peso Molecular	Fórmula Química	Estrutura Química	Uso Terapêutico
B-Estradiol	50-28-2	272.38	$C_{18}H_{24}O_2$		Esteróide

4.2 Equipamentos e Acessórios

Neste estudo, foi utilizado um cromatógrafo a gás da marca Thermo Scientific, modelo TraceCC, acoplado a um espectrômetro de massas ISQ, também da Thermo Scientific. Este conjunto foi operado com o software XCalibur.

Para a extração em fase sólida, foi utilizado um dispositivo do tipo manifold com câmara de vácuo da marca Varian. Foi empregado um liofilizador modelo ModulyoD da marca Thermo Scientific.

Para as medições de massa, foram utilizadas a balança microanalítica, modelo MX5 da marca Mettler Toledo que possui uma precisão nominal de 1 µg além de duas balanças analíticas: o modelo AS200S da marca OHAUS e o modelo AT 261 DeltaRange da marca Mettler Toledo.

Durante o processo de concentração de amostras, foram utilizados dois evaporadores distintos: o modelo TurboVap® LV da marca Caliper e o modelo Rotavapor® R-215 da marca Buchi.

Por fim, foi também utilizado o purificador de água Milli-Q, modelo Integral 5, da marca Merck Millipore.

4.3 Implementação da metodologia analítica

4.3.1 Preparo da curva analítica

Para a construção da curva analítica, inicialmente foi realizada a injeção de cada padrão separadamente no modo Full Scan (FS), permitindo a análise abrangente dos íons presentes em cada padrão. As informações sobre os íons mais abundantes foram obtidas por meio de revisão da literatura juntamente com o monitoramento das respostas espectrométricas durante a análise.

Após a identificação dos íons de interesse, a otimização da rampa do método SIM (Scan Ion Mode) foi conduzida para garantir a separação eficiente dos compostos. Essa otimização visou assegurar uma quantificação precisa dos compostos, mesmo na ausência de sobreposição inicial entre os picos cromatográficos.

Depois de determinadas as condições ajustadas do procedimento, uma solução contendo todos os compostos de interesse, juntamente com Trifenilfosfato, utilizado como padrão interno (PI), foi preparada. A preparação da curva analítica foi realizada utilizando 14 pontos de concentrações variando de 0,5 a 400 ng/mL. Dada a variabilidade das características dos analitos escolhidos, espera-se uma ampla diferença de resposta no espectrômetro de massas. Mesmo com o suporte de diversos estudos (Ademoyegun, Okoh, Okoh, 2020; Andersen et al., 2005; Antonic, Heath, 2007; Díaz, Peña-Alvarez, 2017; Pérez Solsona, Barceló, 2007) não era possível determinar com certeza qual seria a resposta no aparelho. Desta forma, foram selecionados 14 pontos com ampla faixa de variação a fim de contemplar ao menos 5 pontos de concentração para cada composto.

Um padrão interno, se escolhido e utilizado corretamente, pode compensar diversos erros, tanto aleatórios quanto sistemáticos. Deste modo, se os sinais do analito e do padrão interno responderem proporcionalmente às flutuações instrumentais e metodológicas aleatórias, a proporção desses sinais é independente de tais flutuações. Se os dois sinais forem influenciados da mesma maneira pelos efeitos da matriz, a compensação desses efeitos também ocorre. Nos casos em que o padrão interno é um componente importante das amostras e dos padrões, a compensação de erros que surgem na preparação da amostra, solução e limpeza também pode ocorrer (Skoog, 2007).

4.3.2 Coleta das amostras

Quando se busca realizar análises qualitativas ou quantitativas de forma satisfatória, para além da seleção apropriada da técnica analítica a ser empregada, é fundamental que se conduza as etapas de amostragem, transporte e armazenamento da amostra de forma precisa. Para além disso, a etapa de preparo da amostra, que geralmente é o ponto de partida de uma análise química, merece grande atenção, de forma a otimizar a remoção de impurezas ou interferentes. Especialmente, a extração e separação dos analitos de interesse representam etapas críticas na avaliação de misturas em matrizes complexas, uma vez que estão suscetíveis a uma variedade de

erros, como perdas do analito, contaminação ambiental e extração incompleta dos analitos da amostra (Lanças, 2004; Strelau, 2013).

As coletas das amostras de sedimento foram realizadas na lagoa de Piratininga, datadas do dia 04 de março de 2023, e foram conduzidas mediante a aplicação de rigorosos protocolos científicos. Empregando um amostrador do tipo Van Veen, as amostras foram obtidas, e armazenadas em latas previamente descontaminadas. A seleção dos locais de coleta foi conduzida de forma a obter uma visão geral da contaminação por fármacos em toda a extensão da Lagoa de Piratininga, com cada ponto sendo registrado para assegurar a precisão espacial das amostragens. Essa abordagem metodológica estruturada é essencial para fornecer uma base sólida para as análises subsequentes, promovendo a confiabilidade e a validade dos dados obtidos no contexto deste estudo científico. A disposição dos pontos de coleta é detalhada na tabela 2, onde cada ponto é expresso em coordenada WGS84 (latitude e longitude).

Tabela 2: Pontos de coleta (coordenadas)

Pontos	Coordenadas WGS84	
	Latitude	Longitude
P1	-22,94912	-43,09285
P2	-22,94732	-43,08978
P3	-22,94738	-43,08613
P4	-22,95029	-43,08076
P5	-22,94648	-43,08188
P6	-22,94332	-43,0815
P7	-22,94612	-43,07456
P8	-22,94982	-43,07542
P9	-22,9412	-43,07441
P10	-22,94269	-43,0694
P11	-22,94634	-43,06881
P12	-22,95056	-43,06965
P13	-22,94664	-43,06528

Como forma de facilitar a visualização da distribuição espacial das amostras, é apresentado na figura 2 um mapa construído no Software QGIS que utiliza informações geográficas para construir mapas georreferenciados.

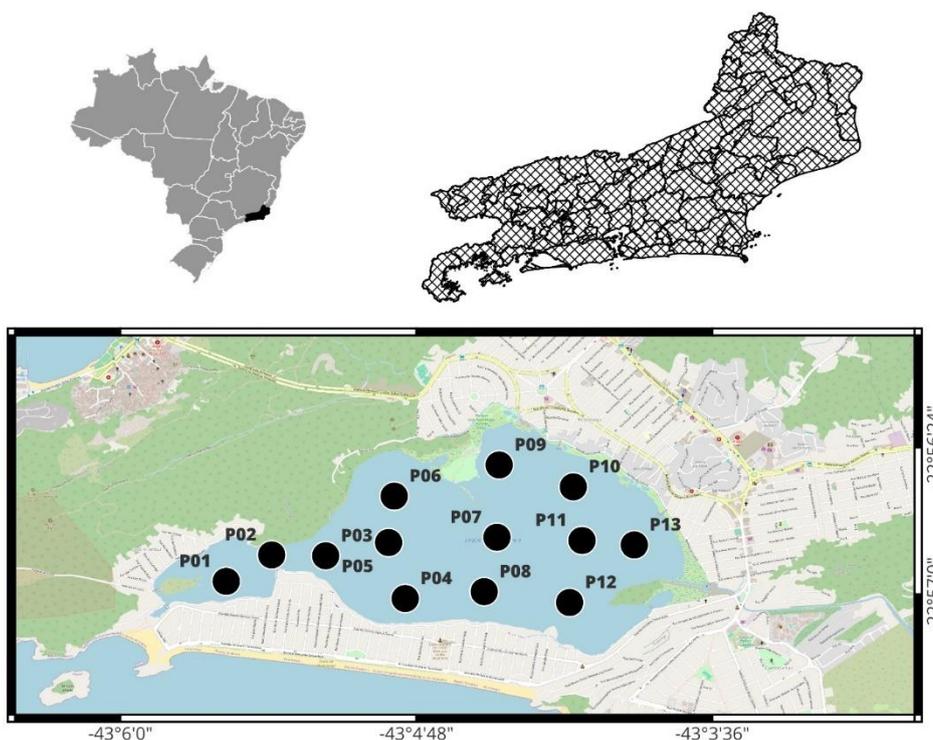


Figura 2: Mapa dos pontos de coleta na Lagoa de Piratininga.

As amostras foram mantidas refrigeradas durante toda a coleta e então transportadas ao laboratório onde foram então congeladas para posterior liofilização.

4.3.3 Processamento, homogeneização e conservação das amostras

Após a liofilização das amostras, estas foram submetidas à trituração com o auxílio de um pilão até atingirem uma consistência fina e homogênea. As amostras processadas foram então armazenadas fechadas em um ambiente seco e arejado, aguardando a etapa subsequente de análise.

O procedimento analítico teve início com a pesagem das amostras em duas massas distintas, 3 g e 6 g, respectivamente, com o objetivo de garantir a linearidade na extração bem como avaliar o efeito de matriz. Em seguida, as amostras foram submetidas à extração utilizando a técnica, de extração assistida por ultrassom. Para essa finalidade, foram realizadas três extrações consecutivas, empregando 5mL de solvente em cada extração. Os solventes utilizados foram metanol e diclorometano na proporção de 1:1 v/v (em duas extrações), seguido pela mistura de metanol e

acetona na proporção de 3:1 v/v (em uma extração). Optou-se por este procedimento como uma combinação de diferentes parâmetros otimizados na literatura conforme apresentado na tabela 3. Como diferentes estudos apresentavam recuperações ideais para alguns fármacos, decidiu-se pela adoção de uma abordagem integrada desses métodos. Após cada extração, os extratos foram submetidos à centrifugação para separação do sedimento.

Os três extratos obtidos foram combinados e filtrados utilizando algodão descontaminado, o qual foi previamente condicionado com metanol. Posteriormente, o filtrado foi submetido à secagem com o auxílio de um rotaevaporador e fluxo de nitrogênio até atingir um volume final de 3 mL. Este processo de preparação do extrato visou concentrar as substâncias de interesse para as análises subsequentes.

Para cada batelada, foi conduzida uma análise de branco (utilizando um frasco vazio) seguindo o mesmo procedimento aplicado às amostras. Embora alguns estudos empreguem padrões substitutos ou outros compostos de referência para avaliar a eficiência de recuperação do método, não se mostrou adequado selecionar apenas um composto (ou classe) para generalizar a eficiência para todos os analitos, dada a diversidade da natureza dos mesmos. A abordagem mais pertinente seria a utilização de analitos fortificados com deutérios (compostos deuterados), os quais são seletivos devido a apresentarem tempos de retenção e massas (m/z) distintas em relação aos compostos originais. Além disso, representam de forma mais precisa a recuperação dos compostos originais não deuterados. No entanto, a aquisição de uma grande quantidade desses padrões de deutérios representaria grande custo, impossibilitando a ampla replicabilidade da metodologia proposta. Portanto, optou-se por realizar, em cada batelada, uma extração de amostra fortificada para assegurar a recuperação de todos os compostos de interesse.

Tabela 3: Revisão bibliográfica – Solventes de Extração (Destacados os compostos de interesse)

Analito	Amostra	Técnica de Extração	Solvente extração	Ref.
acetaminofeno, diclofenaco , ibuprofeno , ceto- profeno, naproxeno , ácido salicílico, sulfameto- xazol, trimetoprim, carbamazepina , propranolol, 17 α -etinilestradiol, 17β-estradiol , estriol, es- trona, ácido clofíbrico, metabólito do clofibrato e gemfibrozil	Lodo de Esgoto, Composto e Sedi- mentos	USAE / SPE	Metanol/Acetona	Martín, et al., 2010
Ampicilina, amoxicilina, sulfametoxazol, trime- toprim, eritromicina, azitromicina, diazepam, bromazepam, lorazepam, carbamazepina , diclofenaco , dipirona, 4-formilaminoantipirina (4-FAA), 4-acetilaminoantipirina (4-AAA), di- metoato, malationa, imidacloprida, acetamiprida, carbofurano, carbarila e tebufenozida, carbenda- zim, simazina, atrazina e propazina.	Sedimento, Água Superficial, Água Subterrânea	Água- SPE Sedimento - USAE	Metanol/Ace- tona/Acetato de Etila	Radovic, et al., 2015
estrona, 17β-estradiol , 17 α -etinilestradiol	Sedimento	MAE	Metanol/Acetona	Andersen, et al., 2005
Ibuprofeno, Naproxen, Ketoprofeno, Diclofenac	Sedimento	MAE/SPE	Metanol	Antonic, Ester, 2007

Tabela 3: Revisão bibliográfica – Solventes de Extração (Destacados os compostos de interesse)

Analito	Amostra	Técnica de Extração	Solvente extração	Ref.
cetoprofeno, Naproxeno, ibuprofeno , indometacina, acetaminofeno, ácido salicílico, diclofenaco , fenazona, propifenazona, oxycodona, codeína, bezafibrato, gemfibrozila, pravastatina, carbamazepina , acridona, citalopram, fluoxetina, diazepam, alprazolam, lorazepam, desloratadina, ranitidina, famotidina, cimetidina, atenolol, sotalol, propranolol, nadolol, carazolol, hidroclorotiazida, furosemida, glibenclamida, losartan, clopidogrel, tamsulosina, salbutamol, varfarina, albendazol, tiabendazol, levamisol, dexametasona, azaperona, azaperol, eritromicina, azitromicina, claritromicina, sulfametoxazol, trimetoprima, metronidazol, dimetridazol, ronidazol, diltiazem, xilazina e norverapamil, fluvastatina, atorvastatina, metoprolol, irbesartana, trazodona, valsartana, olanzapina e verapamil, sertralina, paroxetina, loratadina, torasemida, amlodipina	Água do Mar, Sedimento	SPE/ PLE	Metanol/água	Moreno-González, et al., 2015
Ibuprofeno , 2-benzil-4-clorofenol, naproxeno, triclosan, cetoprofeno, diclofenaco, bisfenol A e estrona	Sedimento	USAE/SPME	Metanol/água	Díaz, Peña-Alvarez, 2017
Aspirina, Codeína, Diclofenaco, Ibuprofeno , Paracetamol, Cloranfenicol, Doxiciclina, Trimetoprim, Cafeína, Carbamazepina , Diazepam, DEET, Triclosan	Lodo de Esgoto	MAE-SPE	Metanol	Ademoyegun, Okoh, Okoh, 2020

4.3.4 Extração em Fase Sólida

Com objetivo de realizar a purificação das amostras (Clean up), foi realizada a Extração em Fase Sólida (SPE). Para isso cartuchos C18 foram rinsados com Metanol e condicionados com uma mistura de Acetonitrila e Água (7:3 v/v). As amostras foram então adicionadas e eluídas com o mesmo solvente de condicionamento.

Neste ponto foi adicionado o PI antes da secura das amostras em fluxo de N₂. As amostras secas foram então derivatizadas e analisadas em GC-MS.

4.4 Parâmetros de desempenho do método

Visando avaliar a qualidade do método aplicado, realizou-se a análise de diferentes parâmetros: Seletividade, Linearidade e Faixa Linear de Trabalho, Homocedasticidade, Limite de Detecção (LD), Limite de Quantificação (LQ), Repetibilidade, Reprodutibilidade e Ensaio de Recuperação.

4.4.1 Seletividade

Segundo definição fornecida na Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos DOQ-CGCRE-008 (INMETRO, 2020), Seletividade é o grau em que o método pode quantificar o analito na presença de outros analitos, matrizes ou de outro material potencialmente interferente (AOAC, 2002).

Ou seja, um método seletivo é aquele que mesmo produzindo respostas para vários analitos, pode distinguir a resposta de um analito da de outros, de forma inequívoca, em uma amostra complexa. (Ribani et al., 2004)

Experimentos para avaliação da seletividade descritos na literatura sobre validação de métodos analíticos envolvem ensaios com padrões ou materiais de referência, amostras com e sem o analito, além da avaliação da capacidade de identificação do analito de interesse na presença de interferentes. Se a seletividade não for

assegurada, a linearidade, a tendência e a precisão estarão seriamente comprometidas (INMETRO, 2020).

4.4.2 Linearidade e Faixa Linear de Trabalho

A Linearidade de um método é definida como a sua habilidade, dentro de uma dada faixa de trabalho, em obter resultados os quais são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra (ICH, 2005).

A relação matemática entre o sinal e a concentração deve ser expressa como uma equação de reta e, na maior parte dos casos, deve ser determinada empiricamente, a partir de sinais medidos para massas ou concentrações conhecidas do analito (Ribani et al., 2004).

Em qualquer técnica instrumental, a relação linear é descrita pela equação:

$$y = ax + b$$

Sendo a e b, coeficientes de regressão linear.

Além dos coeficientes de regressão a e b, também é possível calcular, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de correlação r. O coeficiente de correlação é o parâmetro que permite uma estimativa da qualidade da curva obtida e apresenta uma faixa de magnitude entre $-1 \leq r \leq 1$, sendo que quanto mais próximo de 1 ou -1, menor será o erro em y e, portanto, melhor será o ajuste da função matemática escolhida à curva de calibração. (Ribeiro et al., 2008)

O INMETRO recomenda coeficientes de correlação maiores que 0.9, já a ANVISA afirma que o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser igual a 0,99.

Com a finalidade de determinar o tamanho ou magnitude da relação entre duas variáveis, é habitual calcular o quadrado do coeficiente de correlação. Este indicador, denominado por Guilford (1936) de coeficiente de determinação, é

interpretado como a proporção da variância em uma variável que é prevista ou explicada pela outra (Ozer, 1985).

Todo experimento de determinação da faixa de trabalho é iniciado pela escolha de uma faixa preliminar. A faixa de trabalho deve cobrir a faixa de aplicação para a qual o ensaio vai ser usado e a concentração mais esperada da amostra deve, sempre que possível, se situar no centro da faixa de trabalho. A Faixa Linear de Trabalho é definida como o intervalo compreendido entre o limite inferior e o limite superior da faixa avaliada. Sempre que possível, se situar no meio da faixa de trabalho (INMETRO, 2020).

Conforme apresentado anteriormente, a curva foi construída através de injeções de soluções padrão preparadas em metanol, em triplicata, na faixa de 0,5 a 400 ng/mL, contendo o padrão interno na concentração de 100 ng/mL. As injeções foram realizadas em ordem crescente de concentração, sendo que o método da padronização interna foi escolhido com a utilização de Trifenilfosfato como padrão interno.

4.4.3 Homocedasticidade

A hipótese de homogeneidade das variâncias é dita Homocedasticidade. É bem sabido que quando as suposições do modelo de regressão linear estão corretas, os mínimos quadrados ordinários (MQO) fornecem estimativas eficientes e imparciais dos parâmetros. A heterocedasticidade ocorre quando a variância dos erros varia entre as observações. Se os erros forem heterocedásticos, o estimador MQO permanece imparcial, mas torna-se ineficiente. Mais importante ainda, as estimativas dos erros padrão são inconsistentes. Os erros padrão estimados podem ser muito grandes ou muito pequenos, resultando em inferências incorretas em ambos os casos (Long e Ervin, 1998)

Dado que a heterocedasticidade é um problema comum na análise de dados transversais, muitos testes populares examinam se os resíduos estimados estão correlacionados com algumas covariáveis ou quaisquer variáveis auxiliares que seriam úteis para explicar a falta de homocedasticidade, como por exemplo Breusch

e Pagan (1979), White (1980), Cook e Weisberg (1983), Azzalini e Bowman (1993), Diblasi e Bowman (1997), e Su e Ullah (2013) (Li e Yao, 2019).

Assim, se a hipótese de homocedasticidade for rejeitada, abordagem tradicional para melhorar o MQO é modelar parametricamente a variância condicional, $\text{Var}(u/x)$, e aplicar mínimos quadrados ponderados (MQP) (Lu e Wooldridge, 2020). Este trabalho utilizou $1/x$ em massa para ponderar os resultados.

4.4.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Limite de detecção (LD) de um procedimento analítico individual é a menor quantidade de analito na amostra que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições estabelecidas para o ensaio (ICH, 2005; Nata, 2013).

Quando são realizadas medidas em amostras com baixos níveis do analito ou de uma propriedade, como, por exemplo, análise de traços, é importante saber qual o menor valor de concentração do analito ou da propriedade que pode ser detectado pelo método (INMETRO, 2008).

Segundo Ribani et al, 2004, o Limite de Detecção (LD) pode ser estimado de três maneiras diferentes: método visual, método relação sinal-ruído e pelo método baseado em parâmetros da curva analítica.

O limite de quantificação (LQ) de um método analítico específico representa a quantidade mínima do analito presente na amostra que pode ser determinada de forma precisa e exata, de acordo com os critérios estabelecidos (ICH, 2005).

Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco). Esse limite, após ter sido determinado, deve ser testado com amostras independentes no mesmo nível de concentração/propriedade do LQ, para averiguar se a recuperação/tendência e a precisão conseguidas são satisfatórias. O limite de quantificação é importante para métodos quantitativos (INMETRO, 2008).

O Limite de Quantificação (LQ) também pode ser estimado utilizando o método visual, a relação sinal-ruído ou a relação entre a estimativa do desvio padrão da resposta e a inclinação da curva analítica.

4.4.5 Repetibilidade

Nas Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos (INMETRO, 2020) são definidos os Parâmetros de Desempenho entre eles a Precisão, normalmente determinada para circunstâncias específicas de medição e as três maneiras mais comuns de expressá-la são por meio da repetibilidade, precisão intermediária e da reprodutibilidade, sendo usualmente expressas pelo desvio padrão e coeficiente de variação.

Segundo o Vocabulário internacional de Metrologia, (INMETRO, 2008), repetitividade (ou repetibilidade) é a precisão de medição sob um conjunto de condições de repetibilidade, isto é, a condição de medição num conjunto de condições, as quais compreendem o mesmo procedimento de medição, os mesmos operadores, o mesmo sistema de medição, as mesmas condições de operação e o mesmo local, assim como medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares durante um curto período.

Por orientação do INMETRO, o coeficiente de variação (CV, %), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), é calculado da seguinte forma:

$$CV = DPR = \left(\frac{DP}{CMD} \right) \times 100,$$

Onde DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada

Na mencionada orientação, o INMETRO aponta que é crucial que os laboratórios definam padrões de aceitabilidade para o desvio padrão relativo (DPR) obtido em condições de repetição, idealmente em conformidade com as diretrizes normativas estabelecidas pela legislação relevante para os setores de atuação, como, por exemplo, o meio ambiente.

Geralmente, esses padrões estão vinculados aos níveis de concentração conforme Tabela 4 que apresenta os critérios de aceitação de repetibilidade e é reproduzida da AOAC de 2016.

Tabela 4: Critério de aceitação para repetibilidade (AOAC, 2016; INMETRO, 2020)

Analito %	Fração Mássica (C)	Unidade	DPR, %
100	1	100%	1,3
10	10-1	10%	1,9
1	10-2	1%	2,7
0,1	10-3	0,1%	3,7
0,01	10-4	100 ppm (mg/kg)	5,3
0,001	10-5	10 ppm (mg/kg)	7,3
0,0001	10-6	1 ppm (mg/kg)	11
0,00001	10-7	100 ppb (µg/kg)	15
0,000001	10-8	10 ppb (µg/kg)	21
0,0000001	10-9	1 ppb (µg/kg)	30

Com o intuito de avaliar a repetibilidade do procedimento proposto, foram conduzidas múltiplas medições utilizando amostras preparadas com concentração conhecida e idêntica ao longo de 3 consecutivos.

4.4.6 Precisão Intermediária

Ainda segundo o Vocabulário internacional de Metrologia, (INMETRO, 2008), precisão intermediária é a precisão avaliada em condição de medição ou conjunto de condições, as quais compreendem o mesmo procedimento de medição, o mesmo local e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares, ao longo de um período extenso de tempo, mas pode incluir outras condições que envolvam mudanças.

A Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos revisada pelo INMETRO em junho de 2020, destaca que, para a análise de precisão intermediária, o estudo deve definir exatamente quais condições serão variadas (uma ou mais), tais como:

- diferentes analistas;
- diferentes equipamentos;

- diferentes tempos.

Esta medida de precisão representa a variabilidade dos resultados em um laboratório.

Na maioria dos casos, o valor de precisão intermediária é função do nível de concentração do ensaio e o seu cálculo é efetuado, preferencialmente, a partir dos resultados obtidos, após eliminação dos resultados discrepantes (INMETRO, 2020).

A avaliação da precisão intermediária deste sistema foi conduzida mediante a variação da concentração da amostra, que foi alterada ao longo de dias consecutivos. Nesse contexto, foi incumbido ao aluno de Iniciação Científica realizar a medição das mesmas amostras, seguindo estritamente o mesmo procedimento experimental.

4.4.7 Ensaio de Recuperação

Tipicamente, tais métodos de análise baseiam-se na transferência do analito da matriz complexa para uma solução muito mais simples que é usada para apresentar o analito para determinação instrumental. No entanto, o procedimento de transferência resulta na perda do analito. Muito frequentemente, em tais procedimentos, uma proporção substancial do analito permanece na matriz após a extração, de modo que a transferência é incompleta e a medição subsequente dá um valor inferior à verdadeira concentração no material de teste original (Thompson et al., 1999).

A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas do mesmo (spike). As amostras podem ser fortificadas com o analito em pelo menos três diferentes concentrações (baixa, média e alta) da faixa de uso do método (INMETRO, 2008).

A recuperação é calculada segundo a equação:

$$Recuperação(\%) = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

Onde C_1 é a concentração do analito na amostra fortificada, C_2 é a concentração do analito na amostra não fortificada e C_3 é a concentração do analito adicionada à amostra fortificada (INMETRO, 2008).

No desenvolvimento deste método analítico, é crucial considerar a diversidade de analitos, cada um com suas próprias propriedades físico-químicas. Neste caso, seria inviável selecionar um ou dois padrões sub-rogados que representassem todos os compostos.

Uma alternativa seria o uso de compostos deuterados que, embora ofereçam vantagens em termos de marcação isotópica, impossibilitam a replicabilidade do método, objetivo deste estudo, por terem alto custo.

Diante dessa realidade, uma alternativa viável foi a extração de uma solução fortificada contendo todos os compostos de interesse para validar o processo de extração das amostras. Essas soluções fortificadas foram preparadas em cada lote de amostras, juntamente com um controle em branco, como parte do protocolo experimental. Essa abordagem permite uma avaliação mais abrangente da eficácia da extração, garantindo resultados confiáveis e robustos, mesmo diante da complexidade da matriz da amostra.

Como forma de definir se a recuperação encontrada para o estudo é adequada, é realizada a análise em relação à concentração do Analito, conforme Tabela 5 que apresenta os critérios de aceitação de recuperação e é reproduzida da AOAC de 2016.

Tabela 5: Critério de aceitação para recuperação (AOAC, 2016; INMETRO, 2020)

Analito %	Fração Mássica (C)	Unidade	Recuperação Média, %
100	1	100%	98 - 102
10	10-1	10%	98 - 102
1	10-2	1%	97 - 103
0,1	10-3	0,1%	95 - 105
0,01	10-4	100 ppm (mg/kg)	90 - 107
0,001	10-5	10 ppm (mg/kg)	80 - 110
0,0001	10-6	1 ppm (mg/kg)	80 - 110
0,00001	10-7	100 ppb (µg/kg)	80 - 110
0,000001	10-8	10 ppb (µg/kg)	60 - 115
0,0000001	10-9	1 ppb (µg/kg)	40 - 120

Como as análises realizadas estão na faixa de 10^{-9} (ng/g), resultados entre 40 e 120% de recuperação média, estão dentro do critério de aceitação.

5. Resultados e discussão

5.1 Otimização da Derivatização

Os testes iniciais de tempo e temperatura de derivatização já sinalizavam grande impacto da temperatura sem melhores eficiências com tempos de reação mais longos ou maiores volumes de reagentes.

Os valores de área dos analitos e do padrão interno (PI) foram menores em temperaturas mais baixas. Isso indica que a variação dos valores de área pode ser mascarada, tornando inviável a utilização da razão de área como método de análise.

Avaliou-se a viabilidade da piridina como solvente para a derivatização dos analitos. Embora a piridina tenha demonstrado maior eficiência, o risco associado à sua toxicidade (ICSC: 0323) foi considerado. Portanto, foram avaliadas as perdas de eficiência decorrentes do uso de acetonitrila como alternativa. Embora a acetonitrila não seja o solvente ótimo, ainda proporcionou resultados satisfatórios.

Os cromatogramas obtidos na análise em Full Scan (FS) pela utilização de acetonitrila e piridina como solventes para a derivatização são apresentados nas Figuras 3 e 4, respectivamente. Nessas figuras podemos observar melhores abundâncias relativas com a utilização de piridina, mas ainda se obtém boa separação de picos e abundância relativa para a acetonitrila como solvente.

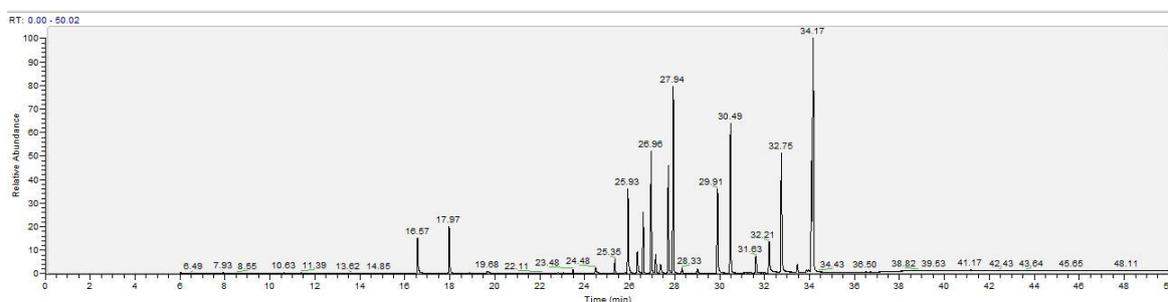


Figura 3: Cromatograma obtido em FS pela utilização de acetonitrila como solvente para derivatização

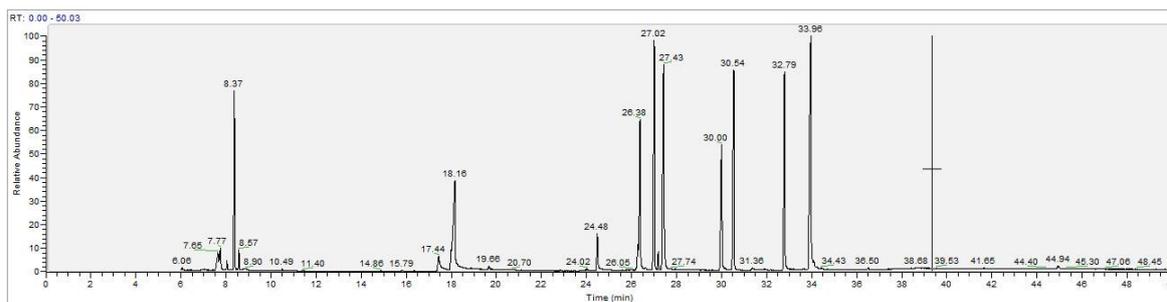


Figura 4: Cromatograma obtido em FS pela utilização de piridina como solvente para derivatização

Considerando os resultados obtidos, as amostras foram avaliadas pela utilização de 200 μ L de acetonitrila e 100 μ L de BSTFA-TCMS, a 80 $^{\circ}$ C por 1 h.

5.2 Otimização do sistema GC-MS: parâmetros cromatográficos

Para determinar os parâmetros cromatográficos ótimos para a análise dos compostos em estudo, uma série de testes foi conduzida em amostras fortificadas com tais compostos. O objetivo primordial consistiu em assegurar a obtenção de picos cromatográficos com características desejáveis, incluindo clareza, boa resolução e baixa interferência de ruído de fundo. As condições instrumentais definidas e aplicadas às amostras são apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6: Condições Instrumentais do GC-MS

Instrumentação	Condições Experimentais
Injetor	Split/splitless, 250 $^{\circ}$ C, 0,38 min splitless (sem divisão de fluxo).
Gás de Arraste	He, fluxo constante, 1,0 mL/min
Temperatura Programada	50 $^{\circ}$ C, 2min 50 $^{\circ}$ C/min, 80 $^{\circ}$ C 8 $^{\circ}$ C/min, 280 $^{\circ}$ C 10 $^{\circ}$ C/min, 300 $^{\circ}$ C

Tempo Total de Corrida	35 min
Transfer Line	290 ° C
Volume de Injeção	3 µL
Temperatura da Fonte	250 ° C

5.3 Parâmetro de Qualidade do Método

5.3.1 Seletividade

Após a obtenção das condições cromatográficas ideais, procedemos com a análise em full scan de cada analito de forma individualizada. Este procedimento permitiu a identificação dos tempos de retenção, bem como dos íons precursores e de confirmação associados a cada composto.

Os tempos de retenção representam a medida em que os analitos interagem com a fase estacionária, sendo essencial para distinguir entre diferentes componentes de uma amostra. A seletividade adequada assegura que os picos de eluição correspondentes a cada componente sejam distintos o suficiente para uma identificação confiável. Métodos analíticos devem ser projetados levando em conta a especificidade requerida para a análise em questão, garantindo que os tempos de retenção sejam suficientemente distintos para evitar sobreposição de picos e interpretações equivocadas.

Os resultados de tempo de retenção, íons precursores e íons de confirmação obtidos são apresentados na Tabela 7. Estes foram os tempos e os íons considerados para a construção da curva analítica, bem como para a análise das amostras.

Tabela 7: Tempos de Retenção, íons precursores e íons de confirmação

Composto	Tr	Íon precursor	Íons de confirmação
Diclofenac	17,83	242	179
Estradiol	22,88	416	285
Napropamida	15,85	128	102
Ibuprofeno	8,44	160	145
Bisfenol	16,84	357	191
Naproxen	14,9	185	152

Triclosan	15,54	345	200
Carbamazepina	18,65	193	165
Nadolol	20,48	86	57
Etofibrato	21,45	236	106

5.3.2 Linearidade e Faixa Linear de Trabalho

Para avaliar a linearidade das curvas analíticas, utilizou-se o método de mínimos quadrados para calcular os coeficientes de regressão (r) associados a cada curva. Esse método permite estimar a relação linear entre as variáveis dependentes e independentes, fornecendo uma medida da qualidade do ajuste da curva aos dados experimentais.

Além disso, foi realizado o teste ANOVA (Análise de Variância) para avaliar a significância estatística das diferenças entre as médias dos grupos de dados, proporcionando uma compreensão mais robusta da variabilidade presente nos resultados. Os resultados obtidos desses testes estão separados por analitos e apresentados nas Figuras 5 a 14 e nas Tabelas 8 a 17.

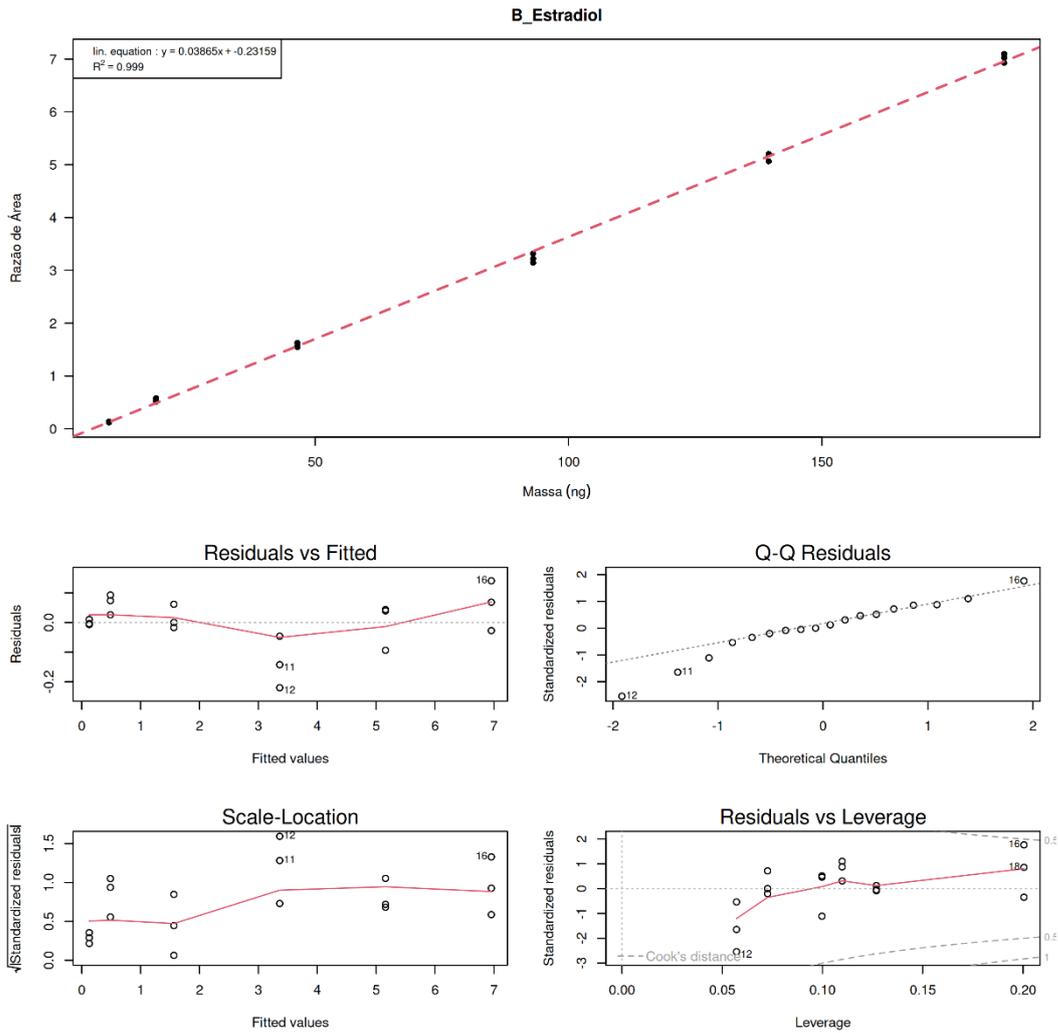


Figura 5: Curva analítica obtida para o analito β-estradiol

Tabela 8: ANOVA Test para o analito β-estradiol

FONTE	Graus de Li- berdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	111,15	111,15	13993	<2e-16
Erro	16	0,13	0,01		

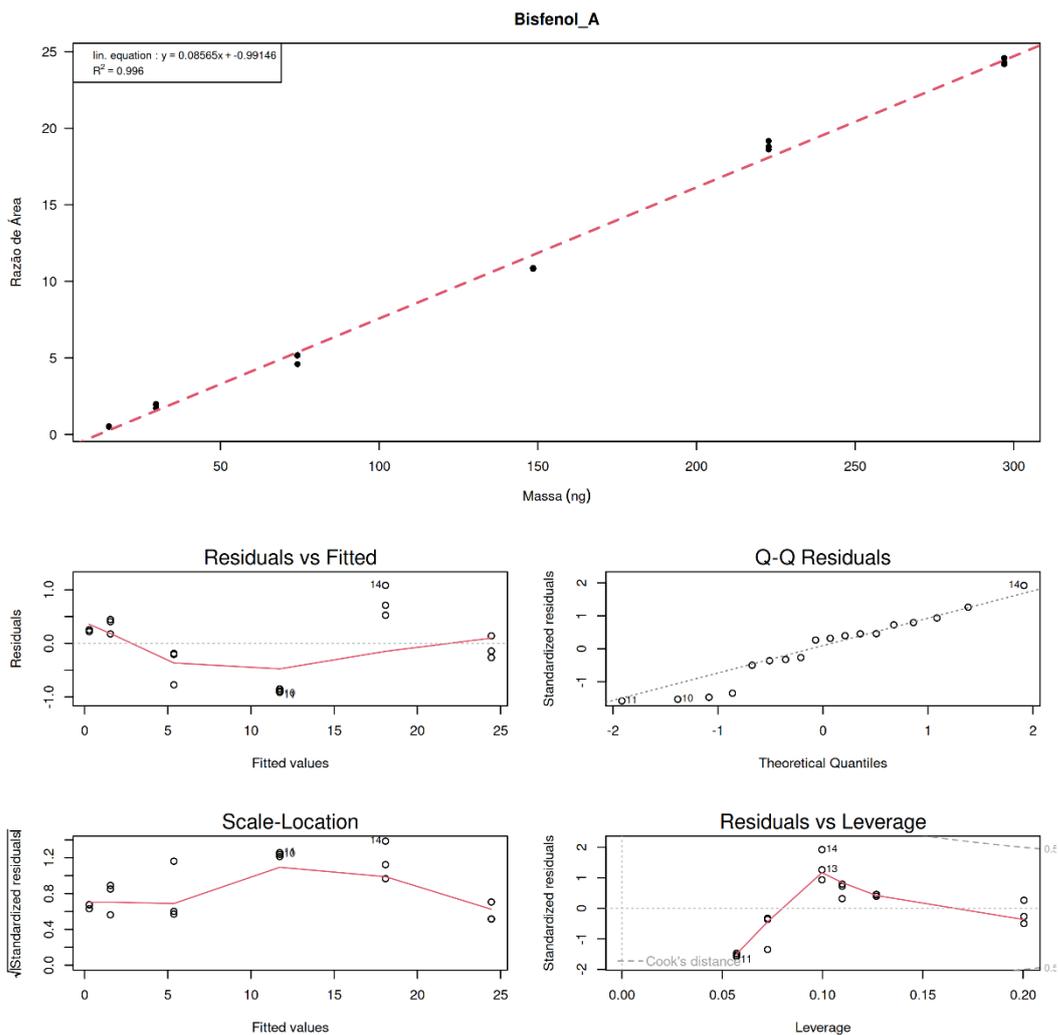


Figura 6: Curva analítica obtida para o analito Bisfenol A

Tabela 9: ANOVA Test para o analito Bisfenol A

FONTE	Graus de Li- berdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	1392,1	1392,1	3941	<2e-16
Erro	16	5,7	0,4		

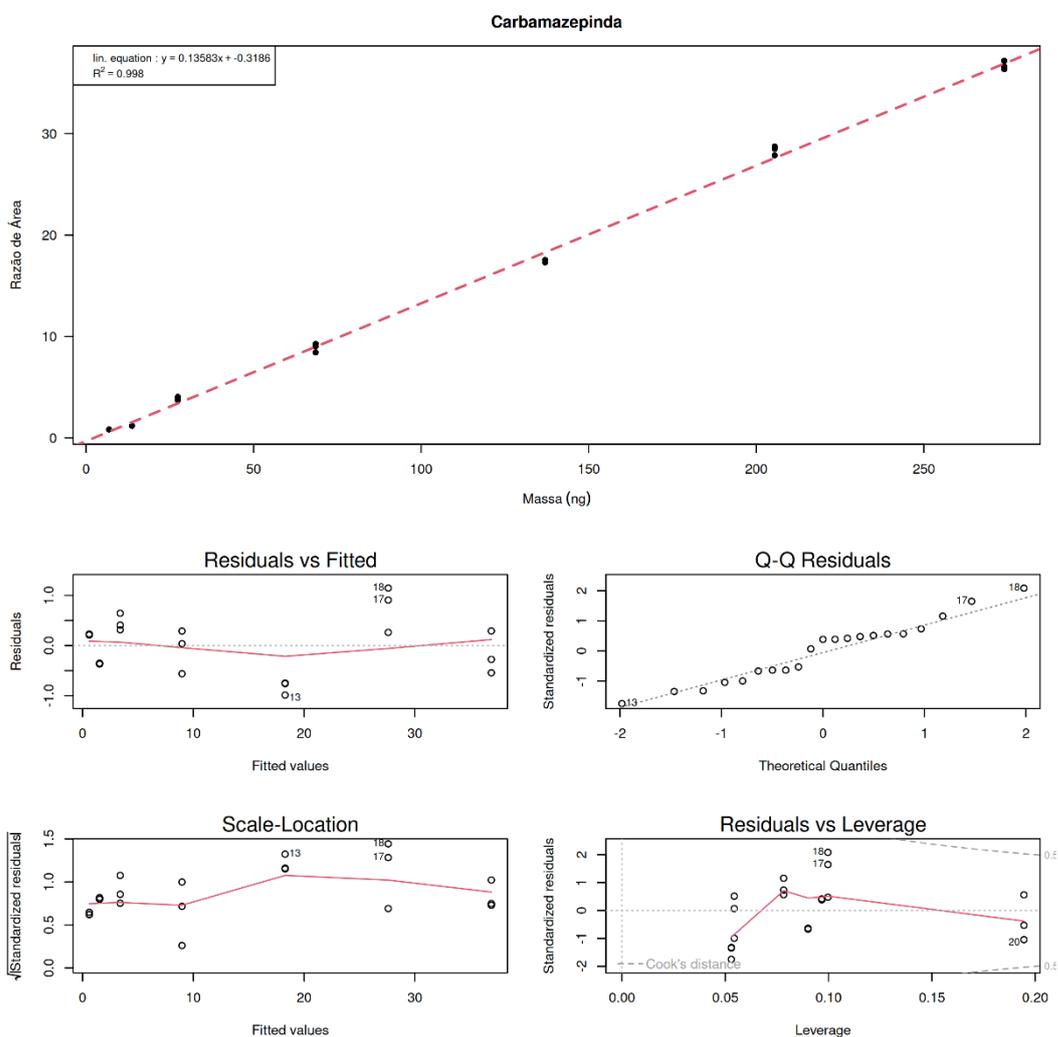


Figura 7: Curva analítica obtida para o analito Carbamazepina

Tabela 10: ANOVA Test para o analito Carbamazepina

FONTE	Graus de Li- berdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	3598	3598	10715	<2e-16
Erro	19	6	0		

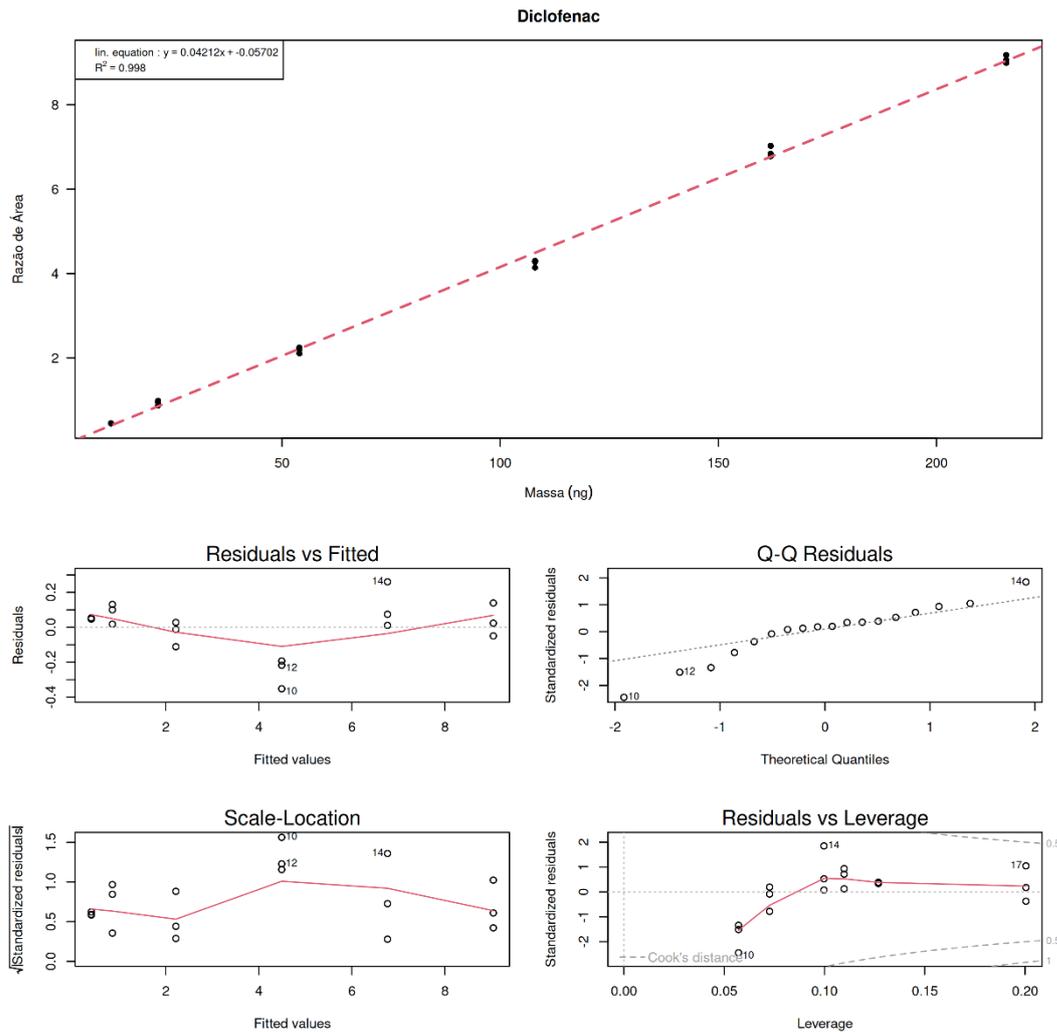


Figura 8: Curva analítica obtida para o analito Diclofenac

Tabela 11: ANOVA Test para o analito Diclofenac

FONTE	Graus de Li- berdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	178,05	178,05	8092	<2e-16
Erro	16	0,35	0,02		

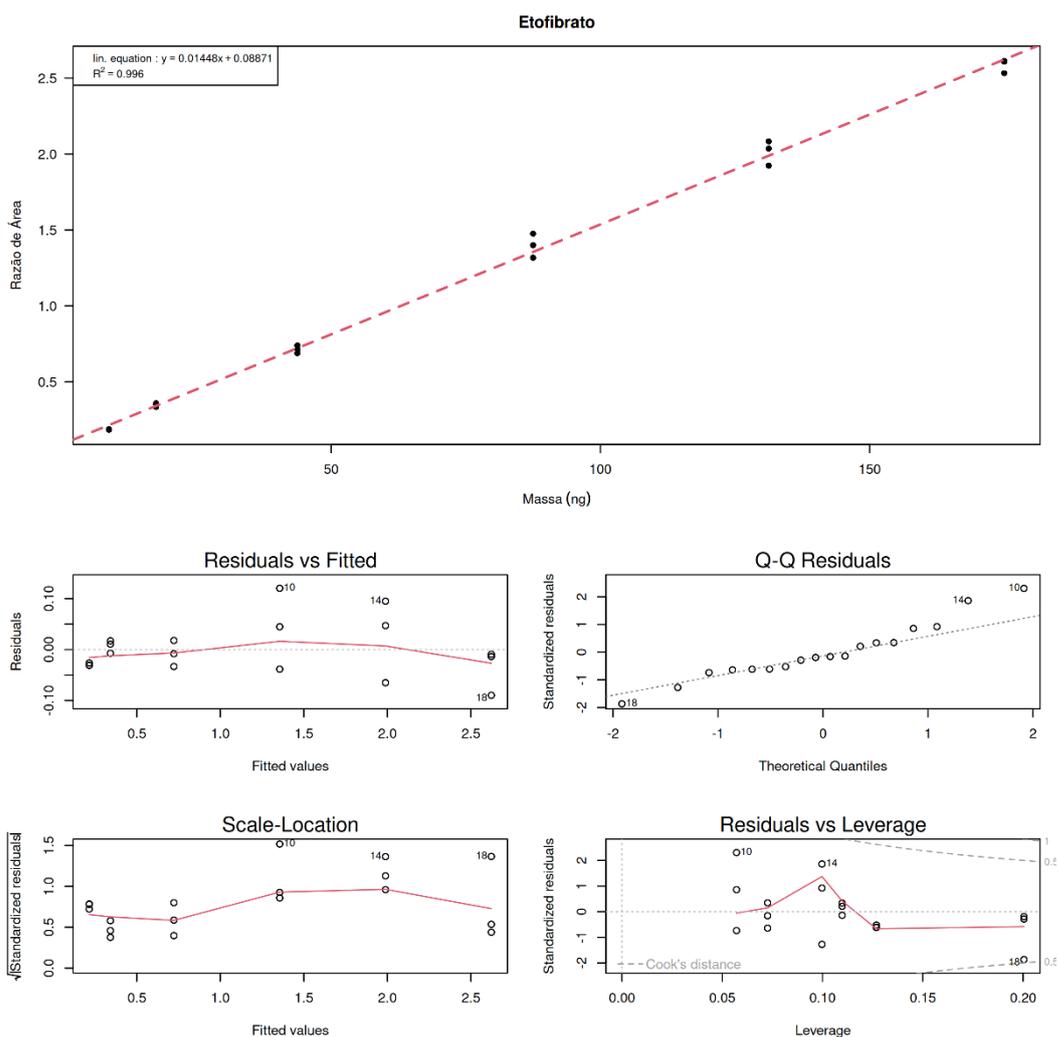


Figura 9: Curva analítica obtida para o analito Etofibrato

Tabela 12: ANOVA Test para o analito Etofibrato

FONTE	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	13,81	13,81	4779	<2e-16
Erro	16	0,046	0,003		

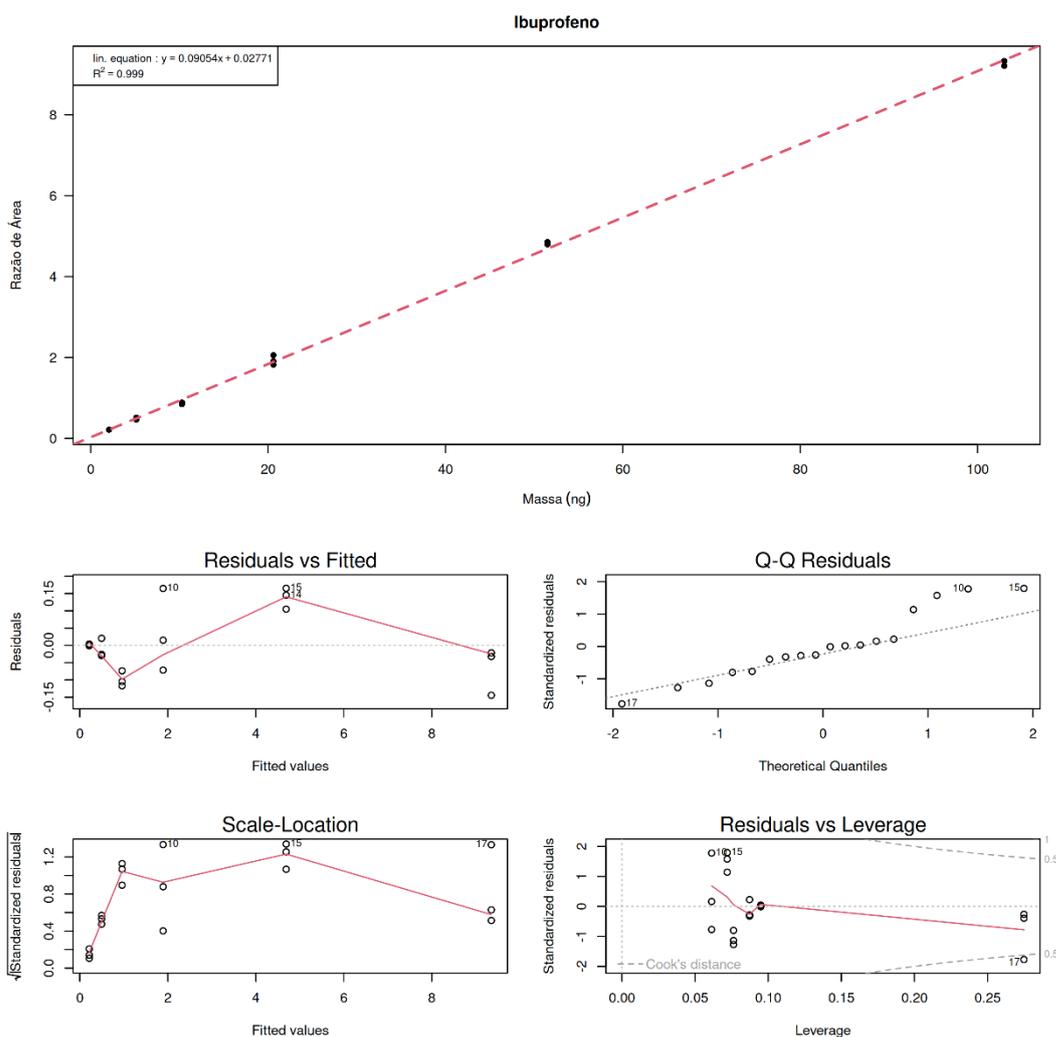


Figura 10: Curva analítica obtida para o analito Ibuprofeno

Tabela 13: ANOVA Test para o analito Ibuprofeno

FONTE	Graus de Li-berdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	187,86	187,86	20540	<2e-16
Erro	16	0,15	0,01		

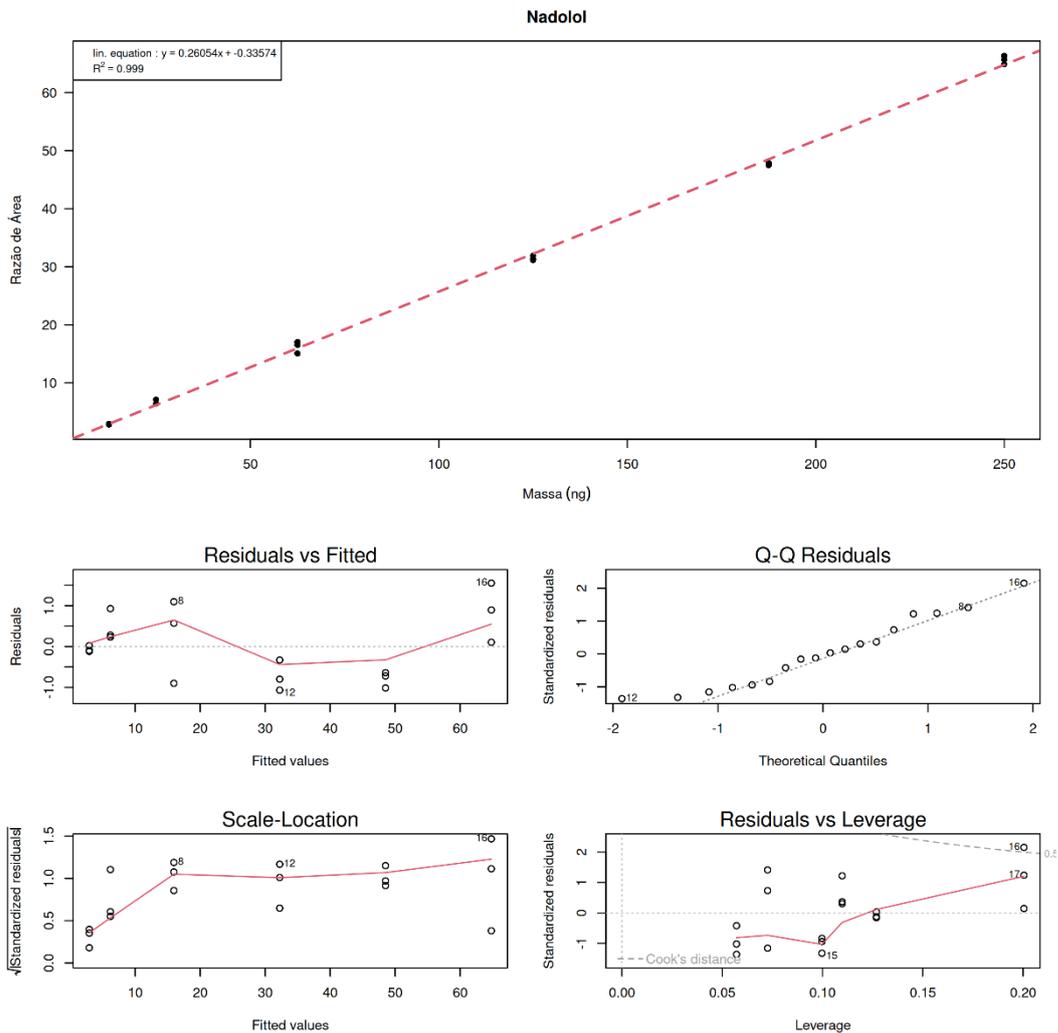


Figura 11: Curva analítica obtida para o analito Nadolol

Tabela 14: ANOVA Test para o analito Nadolol

FONTE	Graus de Li- berdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	9127	9127	14000	<2e-16
Erro	16	10	1		

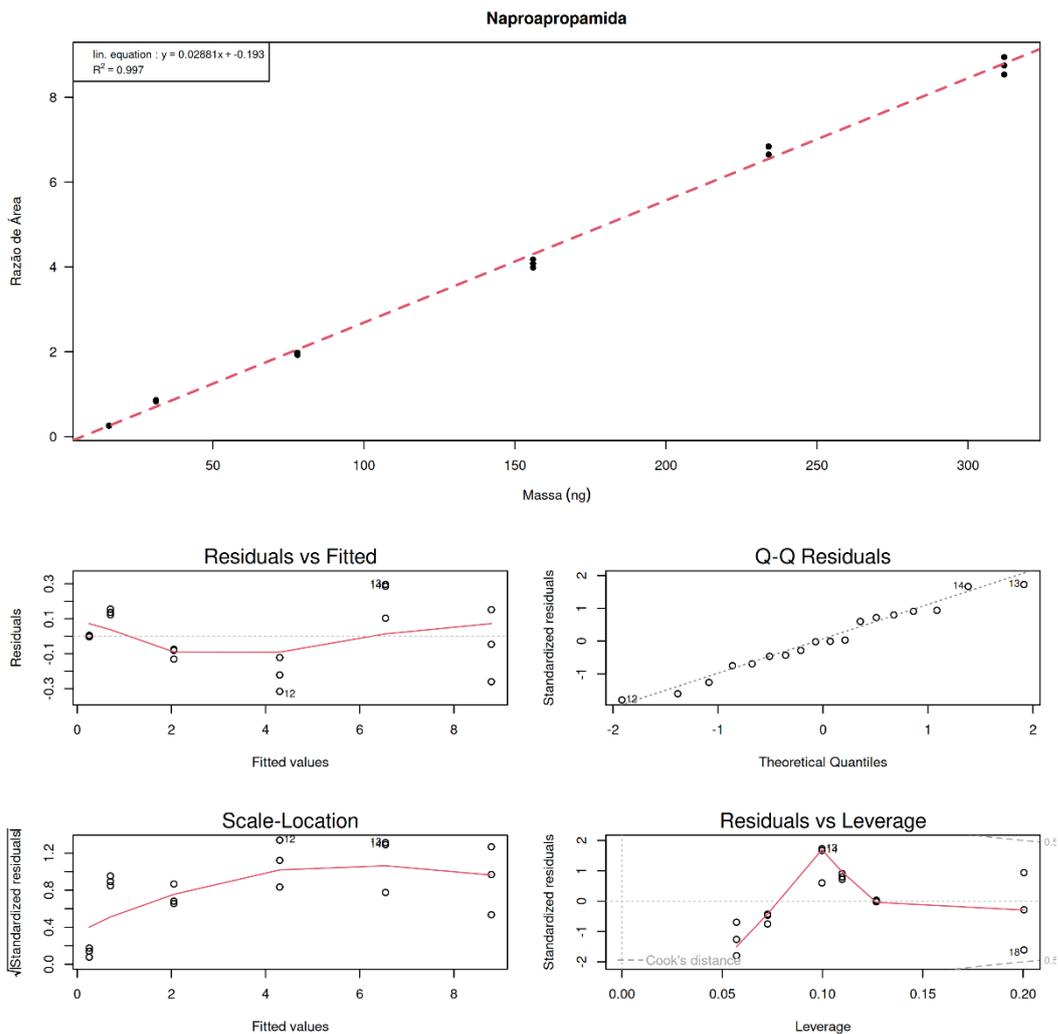


Figura 12: Curva analítica obtida para o analito Napropamida

Tabela 15: ANOVA Test para o analito Napropamida

FONTE	Graus de Li-berdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	173,80	173,80	5305	<2e-16
Erro	16	0,52	0,03		

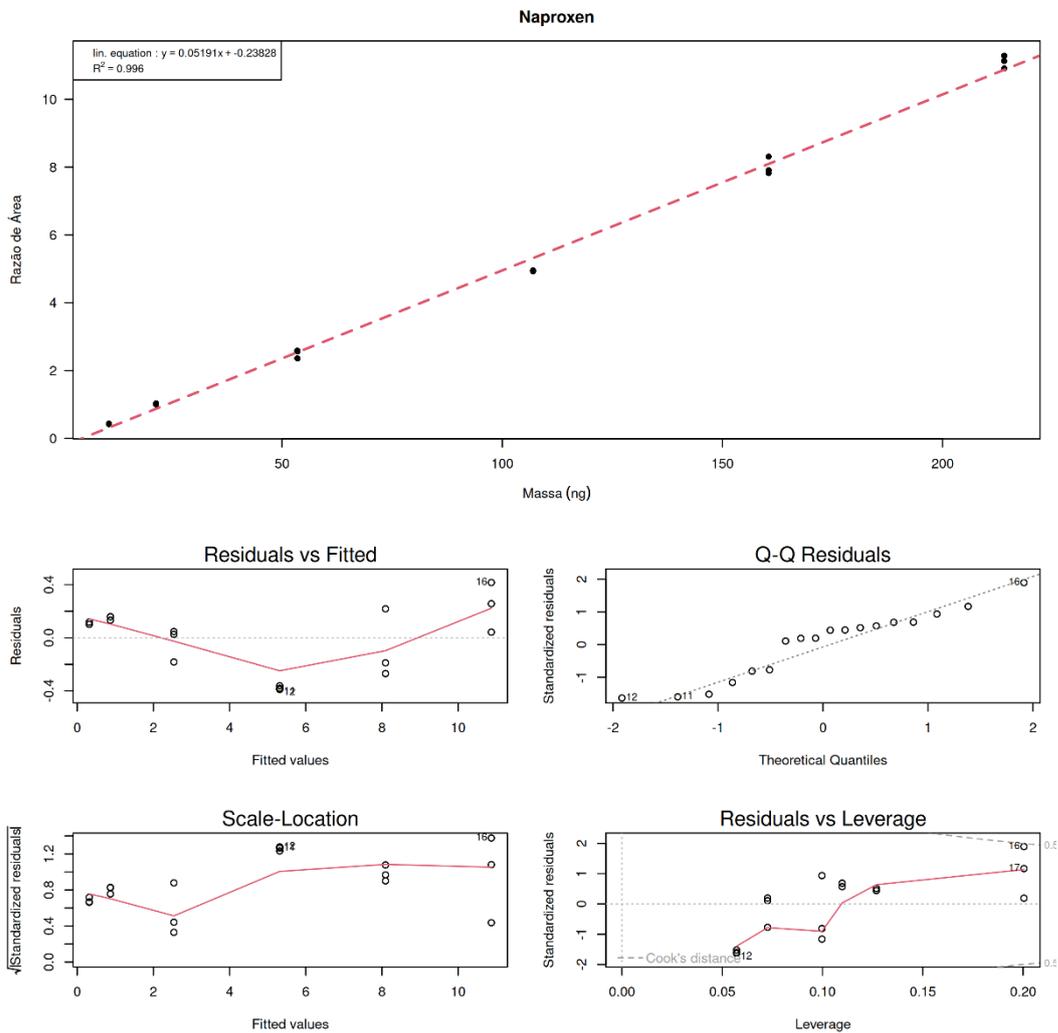


Figura 13: Curva analítica obtida para o analito Naproxen

Tabela 16: ANOVA Test para o analito Naproxen

FONTE	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	265,48	265,48	4414	<2e-16
Erro	16	0,96	0,06		

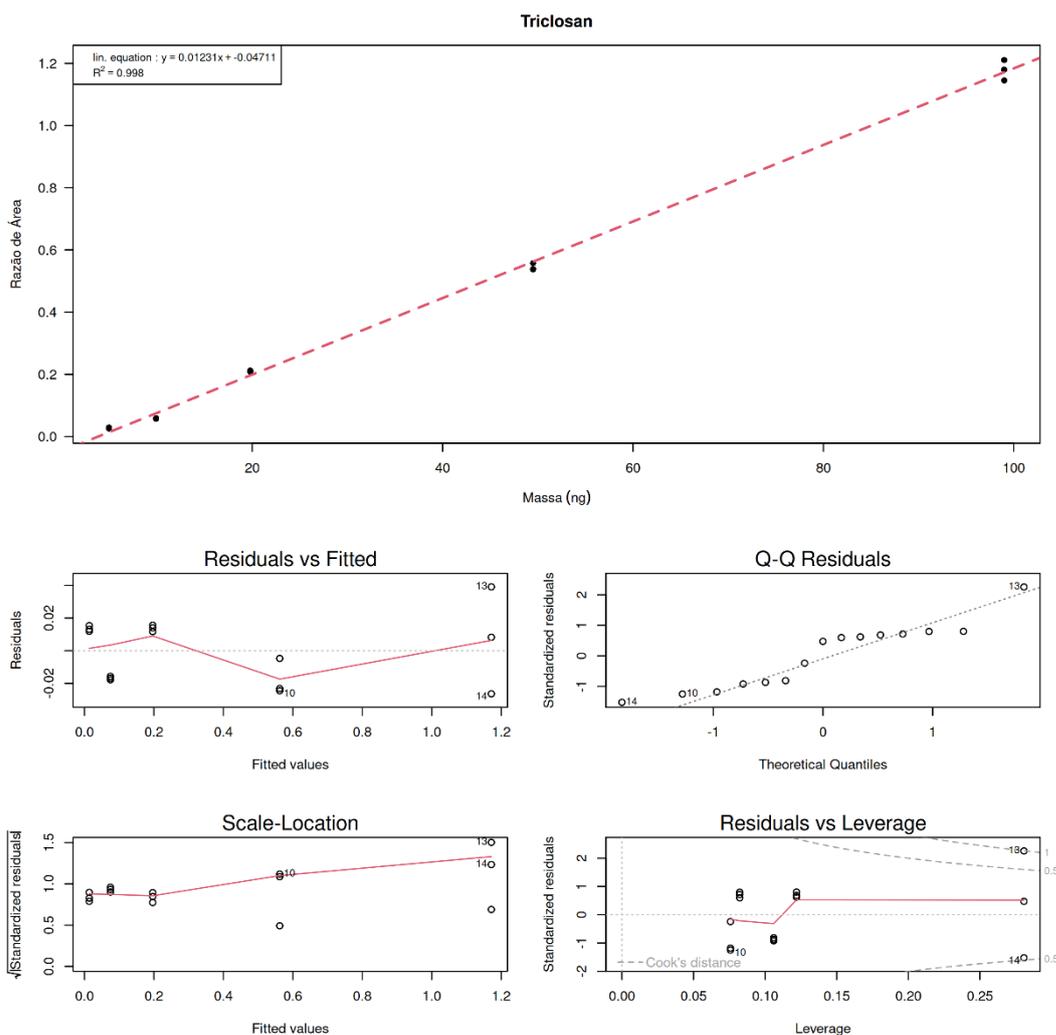


Figura 14: Curva analítica obtida para o analito Triclosan

Tabela 17: ANOVA Test para o analito Triclosan

FONTE	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Média dos Quadrados	Valor F	Valor-p
Amostra	1	2,7536	2,7536	6584	<2e-16
Erro	13	0,0054	0,0004		

Com base nos critérios estabelecidos pelo INMETRO e pela ANVISA, a linearidade das curvas dos 10 analitos estudados pode ser considerada altamente satisfatória. O fato de terem sido obtidos coeficientes de correlação (r) superiores a 0,99 para todos os analitos indica uma relação linear robusta entre a concentração

do analito e o sinal analítico em toda a faixa de concentração estudada. Esses resultados sugerem uma alta precisão e confiabilidade do método analítico empregado, uma vez que atende aos requisitos mínimos estabelecidos pelas agências reguladoras.

A obtenção de valores de r consistentemente acima de 0,99 também reforça a capacidade do método em quantificar com precisão os níveis de concentração dos analitos em amostras complexas, fornecendo resultados confiáveis para aplicações analíticas e regulatórias. Essa alta linearidade das curvas é fundamental para garantir a exatidão das medidas e a interpretação correta dos resultados obtidos.

Não é incomum ver um valor de F e um valor de P relatados como parte de uma tabela ANOVA. Sendo uma ferramenta essencial que estatísticos usam para testar cientificamente e rigorosamente se há diferença entre grupos, o teste F desempenha um papel central no modelo linear geral (Ip, 2007).

A premissa central do teste F é a comparação direta entre a variabilidade do sinal e a do ruído. Caso a variação no sinal, avaliada pelo quadrado médio do efeito, seja reduzida em relação à variação no ruído, o teste F indicaria ao pesquisador que a divergência na variação do grupo pode ser atribuída principalmente à aleatoriedade. Em contrapartida, se o valor do quadrado médio do sinal for substancialmente superior à variação do ruído, o teste F apontaria que a diferença é muito provavelmente legítima (Ip, 2007).

Obter um valor p tão baixo quanto $2,2 \times 10^{-16}$, como observado para todos os analitos, é altamente significativo em análises estatísticas. Na prática, isso fortalece a confiança nas conclusões do teste de hipótese pois os valores ideais de p são menores que 0,05 (Ip, 2007). A obtenção de valores tão baixos do p -valor (menor que $2,2 \times 10^{-16}$) indicam que há uma variação real nos dados que não pode ser atribuída ao acaso. Adicionalmente, Anova do modelo de regressão apresentou resultado estatisticamente significativo com valores de F significativamente grande.

5.3.3 Homocedasticidade

Para avaliar a Homocedasticidade das curvas analíticas obtidas, foi realizado o teste de Breusch e Pagan (BP Test) e o resultado obtido se encontra na Tabela 18, onde os valores p obtidos acima de 0,05 se encontram em destaque.

Tabela 18: Resultado BP Test para análise de Homocedasticidade. Valores não ideais em destaque

Composto	BP	df	p-valor
Ibuprofeno	1,2946	1	0,2552
Naproxen	4,0081	1	0,04528
Triclosan	4,8886	1	0,02703
Napropamida	3,8043	1	0,05112
BisfenolA	0,83071	1	0,3621
Carbamazepina	2,6839	1	0,1014
Diclofenac	0,4972	1	0,4807
Nadolol	3,7356	1	0,05327
Etofibrato	2,5201	1	0,1124
B-Estradiol	0,87868	1	0,3486

Para avaliar quais compostos são homocedásticos (variância constante dos erros) e quais são heterocedásticos (variância dos erros varia), podemos olhar para os valores p (p-valor) associados aos testes de Breusch-Pagan (BP). Se o valor-p for maior que um nível de significância pré-estabelecido (como 0,05), então não há evidência estatística para rejeitar a hipótese nula de homocedasticidade. Caso contrário, se o valor-p for menor que 0,05, há evidência estatística para rejeitar a hipótese nula, indicando heterocedasticidade.

Os compostos Naproxen e Triclosan apresentaram valores p menores que 0,05 (valor de referência), ou seja, no intervalo de concentração da faixa de trabalho, os diversos níveis de concentração não exibem variação uniforme. Devido à ausência de homocedasticidade, não é apropriado adotar o modelo de Mínimos Quadrados Ordinários (MQO) para a análise dos dados desses dois compostos, mesmo que esse modelo seja mais simples para a obtenção de parâmetros de regressão e linearidade.

Conforme apresentado anteriormente, uma vez que a homocedasticidade não foi confirmada, os erros padrões dos coeficientes linear e angular calculados pelo

Método dos Mínimos Quadrados tornam-se imprecisos e, para lidar com a heterocedasticidade no modelo de regressão linear, é recomendado utilizar o Modelo de Mínimos Quadrados Ponderados para estimar os coeficientes de regressão. A ponderação é crucial porque a heterocedasticidade indica que diferentes "pesos" influenciam os erros em concentrações distintas dentro da faixa linear do método.

Na prática, há várias abordagens para determinar os pesos a serem aplicados na utilização do Mínimos Quadrados Ponderados, se a variância for proporcional à variável independente, pode-se utilizar $1/x$ como peso. Tratando-se de uma estratégia regular, foi realizada tal ponderação, seguida dos testes necessários para validar a nova hipótese.

O resultado da aplicação dos mínimos quadrados ponderados para os analitos Naproxen e Triclosan é apresentado nas Figuras 15 e 16 e na Tabela 19.

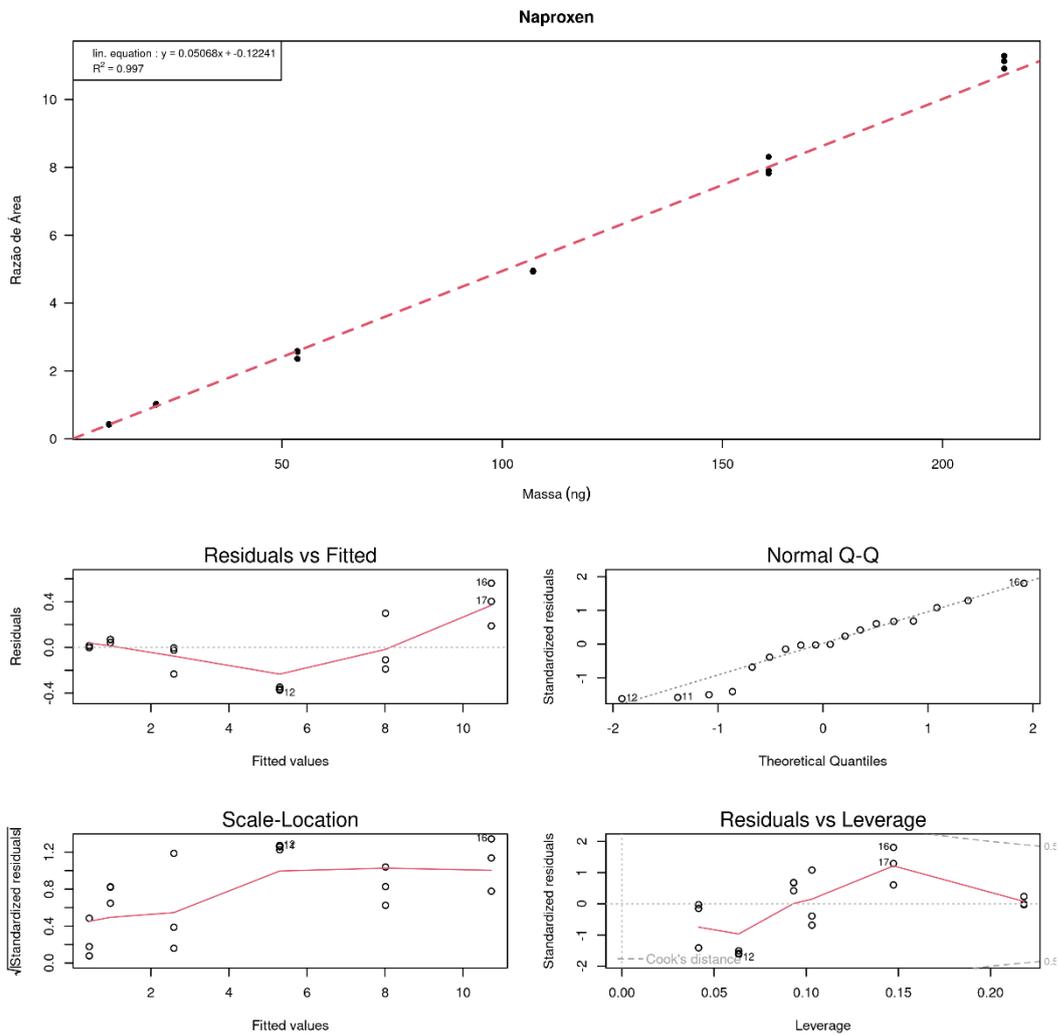


Figura 15: Curva analítica ponderada obtida para o analito Naproxen

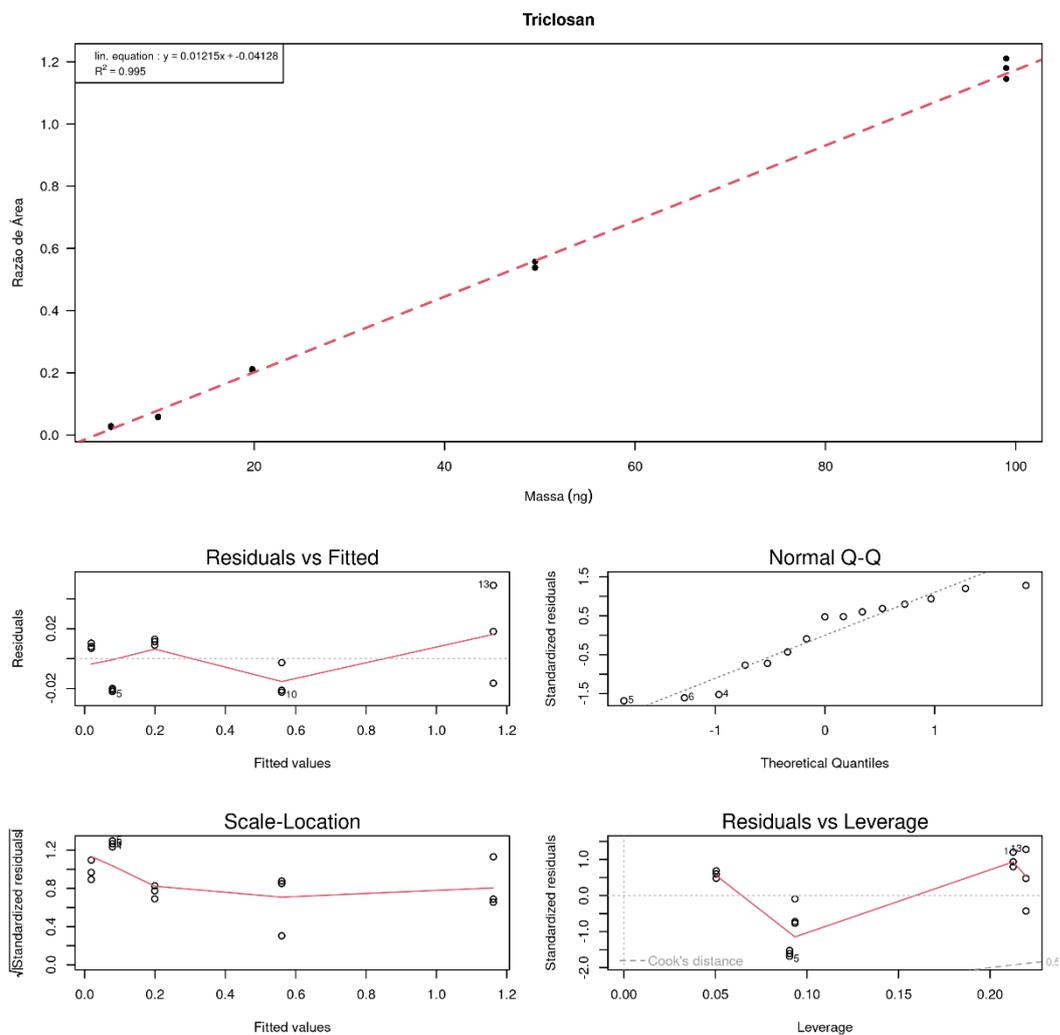


Figura 16: Curva analítica ponderada obtida para o analito Triclosan

Com o ajuste da curva foram coletados os dados para realizar nova avaliação de linearidade e Homocedasticidade:

Tabela 19: ANOVA Test para os analitos Naproxen e Triclosan

Composto	r	Valor-p ANOVA	BP	df	Valor-p BP
Naproxen	0,997	<2e-16	0,070548	1	0,7905
Triclosan	0,995	<2e-16	0,14226	1	0,706

Os valores-p ANOVA abaixo de $2,2 \times 10^{-16}$ para Naproxen e Triclosan indicam uma forte relação entre as variáveis independentes e dependentes. Ao avaliarmos os valores-p do teste de Breusch-Pagan, estes sugerem que não há evidência estatística para rejeitar a hipótese nula de homocedasticidade após a aplicação do método de mínimos quadrados ponderados. Sendo assim, podemos inferir que a ponderação foi acertada fornecendo uma curva com bom ajuste linear e homocedástica.

5.3.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Os limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ) foram determinados por meio da análise dos parâmetros da curva analítica, conforme descrito previamente no procedimento. A estratégia de estimativa de LQ e LD considera a quantidade de amostra extraída ou o extrato, porém é importante notar que esses limites podem variar dependendo do volume injetado no espectrômetro de massas.

O limite de quantificação representa uma avaliação da capacidade do equipamento de detectar de forma precisa e confiável, considerando o método empregado. Se a concentração mínima detectável em um extrato de 1 mL injetado é de 0,5 ng/mL, e este extrato é derivado de 10 g de amostra, o limite de quantificação é estabelecido em 0,05 ng/g. Suponha que o método utilize a injeção de 1 μ L, correspondendo a 1/1000 do extrato total, resultando na detecção e quantificação de 0,5 pg do analito pelo detector de massas. Caso seja viável aumentar o volume de injeção para 2 μ L, considerando fatores como volume do liner e temperatura, e mantendo-se a estabilidade da matriz, a menor concentração detectável/quantificável seria de 0,25 ng/mL. Isso ocorre porque a mesma quantidade de 0,5 pg alcançaria o detector.

Os limites quantitativos citados na literatura são frequentemente apresentados considerando fatores como divisão do extrato, massa da amostra, volume injetado, entre outros parâmetros, englobando o processo analítico como um todo. Embora essa seja a abordagem adequada para análises científicas, ela demanda do leitor uma consideração detalhada dos procedimentos de cada método. Uma abordagem complementar e de grande relevância para pesquisadores é o limite de detecção instrumental em massa. Esse valor auxilia na tomada de decisões rápidas durante o

desenvolvimento de métodos, permitindo a determinação da massa a ser extraída, o manejo do extrato, escolha do método de injeção (split/splitless), volume a ser injetado, entre outros parâmetros. Este conceito é discutido no trabalho de Togola e Budzinski, 2007.

Os resultados obtidos para este estudo se encontram apresentados na tabela 20.

Tabela 20: Limites de Detecção e Limites de Quantificação para os fármacos analisados

Composto	Extrato		Amostra			Massas Espectrômetro
	LD (ng)	LQ (ng)	LD (ng/g)	LQ (ng/g)	LQ_curva (ng/g)	Massa (pg)
Ibuprofeno	0,63	2,10	0,11	0,32	0,34	6
Naproxen	2,14	7,13	0,36	1,07	1,78	32
Triclosan	0,99	3,30	0,17	0,49	0,83	15
Napropamida	3,12	10,4	0,52	1,56	2,6	47
BisfenolA	2,97	9,90	0,5	1,49	2,48	45
Carbamazepina	1,57	5,23	0,26	0,79	1,14	21
Diclofenac	2,16	7,20	0,36	1,08	1,8	32
Nadolol	2,5	8,33	0,42	1,25	2,08	38
Etofibrato	1,75	5,83	0,29	0,88	1,46	26
B-Estradiol	1,86	6,20	0,31	0,93	1,55	28

Os resultados obtidos para os limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ), conforme apresentados na tabela anterior, se mostraram em consonância com as referências consultadas e são consistentes com os dados encontrados em estudos semelhantes e apresentados na Tabela 21. É notável destacar que os valores obtidos para LD e LQ se situam na faixa de ng/g.

A importância desses valores reside no fato de que, quanto mais baixos os limites de detecção e quantificação, maior é a sensibilidade analítica do método empregado. Isso significa que o método é capaz de detectar e quantificar até mesmo pequenas quantidades da substância em estudo, mesmo em concentrações extremamente reduzidas, o que é fundamental em aplicações onde a precisão e a sensibilidade são essenciais, como em análises ambientais, farmacêuticas e de segurança alimentar (Nielsen, 2017).

Tabela 21 – Revisão bibliográfica – Limites de Detecção e Limites de Quantificação

Analito	Matriz	Método	Instrumento analítico	LQ	LD	Ref.
Ácido acetilsalicílico, codeína, diclofenaco, ibuprofeno, paracetamol, cloranfenicol, doxiciclina, trimetoprim, cafeína, carbamazepina, diazepam, DEET, triclosan	Lodo de esgoto	MAE, SPE	GC-MS	0,3 – 5,1 ng/g	0,1 – 1,7 ng/g	Ademoyegun, Okoh, Okoh, 2020
Anti-inflamatórios	Sedimento	MAE	GC-MS	12 – 15 ng/g	3,7 – 4,4 ng/g	Andersen et al., 2005
AINEs	Sedimento	MAE, SPE	GC-MSD	0,15 – 0,25 µg/g	0,03 – 0,08 µg/g	Antonic, Heath, 2007
Estimulantes, opioides e derivados de morfina	Solo e matéria suspensa em águas residuais	PLE e SPE	UPLC-MS/MS	0,6 – 154,2 ng/L	0,1 – 23,1 ng/L	Baker, Kasprzyk-Hordern, 2011
Cocaína, cetamina, MDMA, METH, metedrona	Matéria suspensa em águas residuais e sedimento	UAE e SPE	UHPLC-HRMS	1,0 – 347 ng/g	0,3 – 104 ng/g	Comtois-Marotte et al., 2017

Tabela 21 – Revisão bibliográfica – Limites de Detecção e Limites de Quantificação

Analito	Matriz	Método	Instrumento analítico	LQ	LD	Ref.
Ibuprofeno, 2-benzil-4-clorofenol, naproxeno, triclosan, cetoprofeno, diclofenaco, bisfenol A e estrona	Sedimento	UAE, SPME	GC-MS	0,1 – 0,8 ng/g	0,04 – 0,25 ng/g	Díaz, Peña-Alvarez, 2017
AMP, METH, MDMA, MDA	Lodo de esgoto	MAE e SPE	HPLC-MS/MS	2,4 – 17 ng/g	0.73-5.15 ng/g	Evans et al., 2015
THC, canabidiol e canabinol	Matrizes sólidas como saco plástico, papel de escritório e pano	SPME	nanoLC	8 – 15 ng/ml	2-5 ng/ml	Jornet-Martínez et al., 2018
Benzoilecgonina, MDMA, mefedrona, metilefedrina, cocaína	Lodo de esgoto	PLE e SPE	LC-ESI-(QqLIT)MS/MS	0,3 – 22,5 ng/g	0,1 – 6,4 ng/g	Mastroianni et al., 2013
20 fármacos em água do mar e 14 em sedimentos	Água do mar, sedimento	SPE/PLE (ASE300)	ESI-(QqLIT)MS/MS	0,04 – 5,6 ng/g	0,01 -3,6 ng/g	Moreno-González et al., 2015

Tabela 21 – Revisão bibliográfica – Limites de Detecção e Limites de Quantificação

Analito	Matriz	Método	Instrumento analítico	LQ	LD	Ref.
Anti-inflamatórios, analgésicos e reguladores de lipídios sanguíneos	Águas residuais e água do mar	SPE	GC-MS	0,24–0,69 ng/L	0,06 – 0,5 ng/L	Pérez Solsona, Barceló, 2007

5.3.5 Repetibilidade

Para se realizar o estudo de repetibilidade do método, todos os fármacos foram adicionados em um branco de amostra para 10 réplicas que foram submetidas a todo o processamento da amostra exigido pelo método. O critério de aceitação estabelecido para o coeficiente de variação (CV), seguindo as recomendações do item 4.5.5, foi alcançado para todas as amostras conforme Tabelas 22 a 31 apresentadas abaixo com a resultados de repetibilidade para cada composto. Assim sendo, pela análise de repetibilidade o método pode ser avaliado como preciso.

Tabela 22: Análise de repetibilidade – β -Estradiol

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
B_Estra- diol	20,30	18,64	1,20	6,46
	18,18			
	19,30			
	17,54			
	18,01			
	19,70			
	17,40			
	16,88			
	20,11			
	18,99			
B_Estra- diol	45,43	46,49	1,28	2,75
	47,57			
	44,98			
	47,83			
	47,68			
	46,00			
	44,91			
	46,56			
	45,60			
	48,32			
B_Estra- diol	205,8	191,6	10,78	5,63
	187,3			
	191,3			
	187,2			
	170,2			
	197,6			
	202,0			
	190,6			
	182,0			
	202,0			

Tabela 23: Análise de repetibilidade – Bisfenol A

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Bisfenol_A	28,88	29,65	0,69	2,33
	30,66			
	29,31			
	30,58			
	29,40			
	30,19			
	29,63			
	28,71			
	29,08			
	30,01			
Bisfenol_A	74,90	73,92	0,83	1,13
	72,38			
	74,08			
	73,97			
	75,24			
	73,72			
	73,58			
	74,50			
	73,72			
	73,14			
Bisfenol_A	147,5	147,0	1,17	0,80
	146,9			
	145,9			
	146,1			
	145,7			
	149,1			
	147,0			
	147,2			
	145,6			
	148,4			

Tabela 24: Análise de repetibilidade – Carbamazepina

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Carbamazepina	14,34	13,75	0,72	5,22
	12,77			
	14,49			
	14,19			
	13,11			
	12,82			
	14,49			
	14,20			
	14,00			
	13,04			
Carbamazepina	69,43	68,56	1,25	1,83
	67,83			
	69,39			
	68,25			
	66,57			
	70,05			
	68,58			
	70,48			
	67,63			
	67,41			
Carbamazepina	134,6	137,2	1,85	1,35
	135,9			
	140,4			
	138,8			
	135,5			
	137,9			
	135,4			
	136,7			
	138,7			
	137,9			

Tabela 25: Análise de repetibilidade – Diclofenac

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Diclofenac	22,31	21,79	1,02	4,69
	21,30			
	20,26			
	20,88			
	22,67			
	22,48			
	21,83			
	22,71			
	23,05			
	20,36			
Diclofenac	106,6	108,3	6,03	5,57
	113,6			
	115,2			
	114,3			
	112,7			
	103,9			
	113,1			
	101,9			
	99,2			
	102,9			
Diclofenac	217,8	220,4	4,97	2,25
	221,4			
	211,6			
	218,6			
	224,9			
	225,9			
	225,5			
	222,2			
	222,6			
	213,3			

Tabela 26: Análise de repetibilidade – Etofibrato

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Etofibrato	18,10	18,35	0,80	4,37
	19,60			
	17,92			
	17,22			
	17,24			
	17,93			
	19,04			
	18,55			
	18,89			
	19,05			
Etofibrato	41,39	43,58	2,12	4,87
	42,23			
	46,61			
	45,77			
	42,26			
	40,79			
	42,25			
	43,92			
	44,07			
	46,46			
Etofibrato	171,6	178,0	9,15	5,14
	178,9			
	180,6			
	168,3			
	187,5			
	186,7			
	174,9			
	161,0			
	189,8			
	180,9			

Tabela 27: Análise de repetibilidade – Ibuprofeno

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Ibuprofeno	2,23	2,10	0,14	6,80
	1,86			
	2,26			
	2,23			
	2,25			
	2,07			
	2,13			
	1,97			
	2,01			
	1,97			
Ibuprofeno	5,14	5,11	0,12	2,35
	5,32			
	5,07			
	4,95			
	5,23			
	5,01			
	5,01			
	5,05			
	5,04			
	5,23			
Ibuprofeno	20,5	20,4	0,18	0,87
	20,2			
	20,7			
	20,5			
	20,2			
	20,4			
	20,5			
	20,6			
	20,3			
	20,6			

Tabela 28: Análise de repetibilidade – Nadolol

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Nadolol	27,07	25,50	0,89	3,50
	25,35			
	26,45			
	25,24			
	26,08			
	25,55			
	25,47			
	23,84			
	24,99			
	24,91			
Nadolol	121,1	126,2	5,07	4,02
	118,1			
	130,8			
	129,9			
	133,5			
	128,6			
	130,3			
	122,8			
	125,0			
	122,3			
Nadolol	242,3	250,4	5,53	2,21
	252,0			
	248,9			
	252,2			
	245,4			
	258,9			
	246,1			
	258,9			
	247,0			
	252,1			

Tabela 29: Análise de repetibilidade – Napropamida

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Napropamida	15,42	15,74	0,21	1,35
	15,90			
	15,78			
	15,81			
	15,49			
	16,00			
	15,50			
	15,97			
	15,88			
	15,63			
Napropamida	77,03	76,67	1,23	1,61
	75,66			
	76,21			
	75,82			
	75,49			
	76,87			
	75,96			
	76,79			
	79,74			
	77,11			
Napropamida	232,8	232,8	1,52	0,65
	232,1			
	231,1			
	231,0			
	235,3			
	233,9			
	232,3			
	232,9			
	231,5			
	235,0			

Tabela 30: Análise de repetibilidade – Naproxen

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Naproxen	10,81	10,80	0,11	0,98
	10,59			
	10,76			
	10,82			
	10,72			
	10,89			
	10,71			
	10,92			
	10,86			
	10,92			
Naproxen	21,39	21,39	0,20	0,95
	21,65			
	21,28			
	21,05			
	21,50			
	21,73			
	21,35			
	21,43			
	21,25			
	21,22			
Naproxen	54,66	53,23	1,58	2,97
	54,24			
	54,08			
	50,17			
	52,90			
	51,33			
	55,47			
	53,78			
	53,00			
	52,67			

Tabela 31: Análise de repetibilidade – Triclosan

	Concentração (ng/mL)	Média	DP	DPR (%)
Triclosan	11,22	11,00	0,67	6,06
	10,07			
	10,51			
	9,93			
	11,16			
	11,34			
	11,82			
	10,73			
	11,79			
	11,44			
Triclosan	20,60	22,01	1,40	6,37
	20,34			
	20,89			
	22,45			
	24,13			
	21,46			
	22,83			
	20,72			
	24,00			
	22,63			
Triclosan	49,23	49,54	2,53	5,11
	53,10			
	47,28			
	51,96			
	49,92			
	50,24			
	47,03			
	48,04			
	52,79			
	45,77			

5.3.6 Precisão Intermediária

Essa análise permite identificar qualquer tendência ou variação sistemática nos resultados, além de fornecer informações importantes sobre a precisão e a confiabilidade do método analítico utilizado. Os dados obtidos durante a análise de precisão intermediária podem ser utilizados para ajustar ou otimizar o processo de análise, garantindo assim a qualidade e a consistência dos resultados.

A análise de precisão intermediária foi conduzida de acordo com o procedimento previamente estabelecido, resultando em dados robustos que reiteram a adequada precisão da metodologia proposta.

Os resultados obtidos desta análise de encontram apresentados abaixo nas Tabelas 32 a 41.

Tabela 32: Precisão Intermediária β -Estradiol

	B_Estradiol										Média	DP	Pi (%)
	20,30	18,18	19,30	17,54	18,01	19,70	17,40	16,88	20,11	18,99			
Concentração (ng/mL)	17,77	18,00	18,86	18,14	19,06	19,13	17,97	19,52	18,83	18,14	18,59	0,62	3,36
	19,00	18,31	18,98	18,80	18,98	17,88	18,43	18,25	18,01	18,01	18,52	0,44	2,36
	45,43	47,57	44,98	47,83	47,68	46,00	44,91	46,56	45,60	48,32	46,28	1,17	2,53
	205,8	187,3	191,3	187,2	170,2	197,6	202,0	190,6	182,0	202,0	190,4	10,7	5,65

Tabela 33: Precisão Intermediária Bisfenol A

	Bisfenol_A										Média	DP	Pi (%)
	28,88	30,66	29,31	30,58	29,40	30,19	29,63	28,71	29,08	30,01			
Concentração (ng/mL)	29,35	30,25	30,32	29,18	28,57	29,80	28,45	28,70	30,22	29,19	29,43	0,75	2,56
	29,70	30,68	30,27	30,69	28,68	29,77	29,22	29,61	28,33	29,05	29,66	0,82	2,77
	74,90	72,38	74,08	73,97	75,24	73,72	73,58	74,50	73,72	73,14	74,01	0,83	1,13
	147,5	146,9	145,9	146,1	145,7	149,1	147,0	147,2	145,6	148,4	146,8	1,11	0,76

Tabela 34: Precisão Intermediária Carbamazepina

Carbamazepina											Média	DP	Pi (%)
Concentração (ng/mL)	14,34	12,77	14,49	14,19	13,11	12,82	14,49	14,20	14,00	13,04	13,82	0,71	5,17
	13,62	14,30	13,42	13,37	13,33	13,21	13,32	14,07	13,83	13,91	13,61	0,38	2,79
	13,64	13,32	14,01	13,80	13,03	13,60	13,14	13,65	13,13	13,79	13,48	0,34	2,51
	69,43	67,83	69,39	68,25	66,57	70,05	68,58	70,48	67,63	67,41	68,69	1,26	1,83
	134,6	135,9	140,4	138,8	135,5	137,9	135,4	136,7	138,7	137,9	137,1	1,95	1,42

Tabela 35: Precisão Intermediária Diclofenac

Diclofenac											Média	DP	Pi (%)
Concentração (ng/mL)	22,31	21,30	20,26	20,88	22,67	22,48	21,83	22,71	23,05	20,36	21,94	0,95	4,31
	22,47	22,59	21,98	21,75	20,65	20,86	21,48	22,65	21,05	22,52	21,72	0,76	3,51
	22,64	22,24	21,64	20,58	21,92	20,84	20,67	21,45	21,80	22,29	21,53	0,72	3,32
	106,6	113,6	115,2	114,3	112,7	103,9	113,1	101,9	99,25	102,9	108,9	6,07	5,57
	217,8	221,4	211,6	218,6	224,9	225,9	225,5	222,2	222,6	213,3	221,2	4,55	2,06

Tabela 36: Precisão Intermediária Etofibrato

Etofibrato											Média	DP	Pi (%)
Concentração (ng/mL)	18,10	19,60	17,92	17,22	17,24	17,93	19,04	18,55	18,89	19,05	18,28	0,81	4,43
	17,42	17,58	17,91	18,06	17,64	17,40	16,70	16,78	17,82	18,36	17,48	0,47	2,70
	17,49	17,55	17,67	17,80	16,97	17,22	18,33	16,95	18,01	17,24	17,55	0,46	2,63
	41,39	42,23	46,61	45,77	42,26	40,79	42,25	43,92	44,07	46,46	43,25	1,98	4,57
	171,6	178,9	180,60	168,3	187,5	186,7	174,9	161,0	189,8	180,9	177,7	9,64	5,43

Tabela 37: Precisão Intermediária Ibuprofeno

Ibuprofeno											Média	DP	Pi (%)
Concentração (ng/mL)	2,23	1,86	2,26	2,23	2,25	2,07	2,13	1,97	2,01	1,97	2,11	0,14	6,80
	2,07	2,02	2,10	1,96	2,02	2,08	2,11	2,04	2,08	2,01	2,05	0,05	2,32
	2,12	2,07	2,08	2,05	1,97	2,08	2,07	2,02	2,13	1,98	2,07	0,05	2,36
	5,14	5,32	5,07	4,95	5,23	5,01	5,01	5,05	5,04	5,23	5,09	0,12	2,32
	20,5	20,2	20,7	20,5	20,2	20,4	20,5	20,6	20,30	20,6	20,4	0,18	0,90

Tabela 38: Precisão Intermediária Nadolol

Nadolol											Média	DP	Pi (%)
Concentração (ng/mL)	27,07	25,35	26,45	25,24	26,08	25,55	25,47	23,84	24,99	24,91	25,56	0,92	3,60
	24,38	24,50	24,24	24,73	24,54	24,76	26,07	24,24	25,73	23,78	24,80	0,66	2,65
	25,12	24,96	24,27	24,54	24,17	24,65	25,51	26,22	25,74	24,77	25,02	0,70	2,78
	121,1	118,1	130,8	129,9	133,5	128,6	130,3	122,8	125,0	122,3	126,7	5,17	4,08
	242,3	252,0	248,9	252,2	245,4	258,9	246,1	258,9	247,0	252,1	250,2	5,83	2,33

Tabela 39: Precisão Intermediária Napropamida

Napropamida											Média	DP	Pi (%)
Concentração (ng/mL)	15,42	15,90	15,78	15,81	15,49	16,00	15,50	15,97	15,88	15,63	15,75	0,22	1,41
	15,44	15,06	15,70	15,23	16,01	15,12	16,20	15,20	15,75	15,64	15,52	0,41	2,65
	16,27	15,53	14,95	15,17	15,29	16,19	15,30	15,52	15,50	15,41	15,52	0,44	2,84
	77,03	75,66	76,21	75,82	75,49	76,87	75,96	76,79	79,74	77,11	76,62	1,30	1,69
	232,8	232,2	231,1	231,0	235,3	233,9	232,3	232,9	231,5	235,0	232,6	1,39	0,60

Tabela 40: Precisão Intermediária Naproxen

Naproxen											Média	DP	Pi (%)
Concentração (ng/mL)	10,81	10,59	10,76	10,82	10,72	10,89	10,71	10,92	10,86	10,92	10,79	0,10	0,96
	10,47	10,30	10,17	10,73	10,77	10,27	10,65	10,72	11,15	10,75	10,58	0,31	2,92
	10,64	11,14	10,64	11,02	11,00	11,13	10,66	10,61	10,73	10,48	10,84	0,23	2,09
	21,39	21,65	21,28	21,05	21,50	21,73	21,35	21,43	21,25	21,22	21,40	0,21	0,97
	54,66	54,24	54,08	50,17	52,90	51,33	55,47	53,78	53,00	52,67	53,29	1,67	3,13

Tabela 41: Precisão Intermediária Triclosan

Triclosan											Média	DP	Pi (%)
Concentração (ng/mL)	11,22	10,07	10,51	9,93	11,16	11,34	11,82	10,73	11,79	11,44	10,95	0,69	6,28
	10,23	10,15	9,650	10,39	10,17	9,920	9,740	10,17	9,570	10,50	10,00	0,29	2,89
	9,890	10,17	10,06	10,28	9,920	9,720	9,920	10,50	10,19	9,910	10,07	0,24	2,36
	20,60	20,34	20,89	22,45	24,13	21,46	22,83	20,72	24,00	22,63	21,94	1,47	6,70
	49,23	53,10	47,28	51,96	49,92	50,24	47,03	48,04	52,79	45,77	49,95	2,29	4,58

5.3.7 Ensaio de Recuperação

Para a execução do experimento de determinação da recuperação dos analitos, foram preparadas e analisadas três amostras que foram fortificadas com os compostos de interesse. Os dados resultantes dessas análises estão apresentados de forma detalhada na Tabela 42:

Tabela 42: Resultado Ensaio de Recuperação

Composto	R1	R2	R3	Média	Desvio
Ibuprofeno	49,8	86,5	52,0	62,8	20,6
Naproxen	79,7	49,3	50,4	59,8	17,2
Triclosan	66,9	71,5	84,3	74,2	9,00
Napropamida	62,4	61,5	82,5	68,8	11,9
BisfenolA	74,6	96,4	84,0	85,0	10,9
Carbamazepina	57,5	95,0	90,2	80,9	20,4
Diclofenac	111	90,0	101	100,7	10,6
Nadolol	90,1	53,3	77,4	73,6	18,7
Etofibrato	68,1	76,8	89,5	78,1	10,8
B-Estradiol	71,0	54,7	70,6	65,4	9,30

Como mencionado anteriormente, é comum ocorrer uma transferência incompleta do analito durante o processo de extração, resultando na retenção do mesmo na matriz. Como forma de estimar se a média de recuperação observada está em conformidade com os valores esperados, especialmente considerando a complexidade da matriz sedimentar, uma pesquisa bibliográfica foi realizada, as referências utilizadas são apresentadas na Tabela 43.

Tabela 43- Revisão bibliográfica – Ensaio de Recuperação

Analito	Matriz	Método	Instrumento analítico	Recuperação	Ref.
Ácido acetilsalicílico, codeína, diclofenaco, ibuprofeno, paracetamol, cloranfenicol, doxiciclina, trimetoprim, cafeína, carbamazepina, diazepam, DEET, triclosan	Lodo de esgoto	MAE, SPE	GC-MS	49,6-106%	Ademoyegun, Okoh, Okoh, 2020
Anti-inflamatórios	Sedimento	MAE	GC/MS	46–87%	Andersen, 2005
AINEs	Sedimento	MAE, SPE	GC-MSD	46-87%	Antonic, Heath, 2007
Estimulantes, opioides e derivados de morfina	Solo e matéria suspensa em águas residuais	PLE e SPE	UPLC-MS/MS	≥ 60%	Baker, Kasprzyk-Hordern, 2011
Cocaína, cetamina, MDMA, METH, metedrona	Matéria suspensa em águas residuais e sedimento	UAE e SPE	UHPLC-HRMS	77-89%	Comtois-Marotte et al., 2017
Ibuprofeno, 2-benzil-4-clorofenol, naproxeno, triclosan, cetoprofeno, diclofenaco, bisfenol A e estrona	Sedimento	UAE, SPME	GC-MS	56–108%	Díaz,; Peña-Alvarez, 2017

Tabela 43- Revisão bibliográfica – Ensaio de Recuperação

Analito	Matriz	Método	Instrumento analítico	Recuperação	Ref.
AMP, METH, MDMA, MDA	Lodo de esgoto	MAE e SPE	HPLC-MS/MS	67-84%	Evans et al., 2015
THC, canabidiol e canabinol	Matrizes sólidas como saco plástico, papel de escritório e pano	SPME	Cromatografia líquida nanométrica	88-128%	Jornet-Martínez et al., 2018
Benzoilecgonina, MDMA, mefedrona, metilefedrina, cocaína	Lodo de esgoto	PLE e SPE	LC-ESI-(QqLIT)MS/MS	89-130%	Mastroianni et al., 2013
20 fármacos em água do mar e 14 em sedimentos	Água do mar, sedimento	SPE/PLE (ASE300)	ESI-(QqLIT)MS/MS	25,8 – 240%	Moreno-González et al., 2015
Anti-inflamatórios, analgésicos e reguladores de lipídios sanguíneos	Águas residuais e água do mar	SPE	GC-MS	70–100%	Pérez Solsona, Barceló, 2007

5.4 Aplicação do Método

As amostras coletadas foram submetidas à análise em duas massas distintas por ponto, sendo estas de 3 g e 6 g, respectivamente. O propósito primordial dessa análise consistiu na identificação de potenciais erros sistemáticos (Padronização Externa). A seguir, na Tabela 44, são apresentados os resultados obtidos para as análises das amostras com massa de 6 g. A variação nos resultados entre as massas de 3 g e 6 g ficou em ng/g e abaixo de 15%, deste modo, e, como forma de se utilizar um resultado mais representativo, optou-se por utilizar os resultados obtidos para a maior massa extraída (6 g) ao invés da média das duas medidas.

Tabela 44: Resultados analíticos em ng/g de concentração de fármacos na Lagoa de Piratininga

Amostra	X	Y	(%) Corg	(%) Norg	C/N	ng/g A1	ng/g A2	ng/g A3	ng/g A4	ng/g A5	ng/g A6	ng/g A7	ng/g A8	ng/g A9	ng/g A10
P01	-43,09285	- 22,94912	1,64	0,21	9,33	5,33	2,00	1,31	<LD	<LD	1,67	<LQ	<LD	<LQ	1,21
P02	-43,08978	- 22,94732	1,42	0,19	8,92	5,07	2,92	3,09	<LD	<LD	2,46	<LQ	<LD	<LQ	1,83
P03	-43,08613	- 22,94738	6,14	0,69	10,4	4,52	3,39	2,88	<LD	<LD	0,91	<LQ	<LD	<LQ	1,13
P04	-43,08076	- 22,95029	6,48	0,77	9,87	4,26	2,83	1,25	<LD	<LD	6,77	<LQ	<LD	<LQ	1,63
P05	-43,08188	- 22,94648	6,63	0,75	10,3	5,08	4,34	2,10	<LD	<LD	2,13	<LQ	<LD	<LQ	1,13
P06	-43,08150	- 22,94332	3,73	0,41	10,7	5,00	3,33	<LQ	<LD	<LD	3,71	<LQ	<LD	<LQ	1,75
P07	-43,07456	- 22,94612	3,65	0,47	9,05	4,51	2,83	1,89	<LD	<LD	1,65	<LQ	<LD	2,78	1,13
P08	-43,07542	- 22,94982	5,66	0,62	10,7	5,33	3,10	2,55	<LD	<LD	4,90	<LQ	<LD	<LQ	2,63
P09	-43,07441	- 22,94120	5,06	0,65	9,11	3,86	2,00	<LQ	<LD	<LD	1,04	<LQ	<LD	<LQ	1,13
P10	-43,06940	- 22,94269	5,33	0,61	10,3	5,10	2,79	<LQ	<LD	<LD	2,66	<LQ	<LD	<LQ	1,77
P11	-43,06881	- 22,94634	4,81	0,56	10,0	4,59	2,00	2,02	<LD	<LD	3,12	<LQ	<LD	<LQ	1,49

Tabela 44: Resultados analíticos em ng/g de concentração de fármacos na Lagoa de Piratininga

			(%)	(%)		ng/g									
Amostra	X	Y	Cor g	Norg	C/N	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
P12	-43,06965	- 22,95056	4,63	0,53	10,3	4,81	3,00	2,25	<LD	<LD	2,86	<LQ	<LD	<LQ	1,49
P13	-43,06528	- 22,94664	4,17	0,46	10,7	4,47	2,93	3,16	<LD	<LD	1,20	<LQ	<LD	<LQ	1,16

Estatística

Média			4,56	0,53	9,98	4,76	2,88	1,73	-	-	2,70	-	-	2,78	1,50
Desvio Pa- drão			1,65	0,18	0,66	0,44	0,65	1,15	-	-	1,67	-	-	-	0,43
Mediana			4,81	0,56	10,3	4,81	2,92	2,02	-	-	2,46	-	-	<LQ	1,49
Mínimo			1,42	0,19	8,92	3,86	2,00	<LQ	-	-	0,91	-	-	<LQ	1,13
Máximo			6,63	0,765	10,7	5,33	4,34	3,16	-	-	6,77	-	-	2,78	2,63

A1: BISFENOL-A; A2: B_ESTRADIOL; A3: CARBAMAZEPINA; A4: DICLOFENAC; A5: ETOFIBRATO; A6: IBUPROFENO; A7: NADOLOL; A8: NAPROPAMIDA; A9: NAPROXEN; A10: TRICLOSAN

Com o intuito de alcançar uma compreensão mais precisa da distribuição espacial dos contaminantes emergentes estudados, foram elaborados mapas utilizando o software QGIS que são apresentados individualmente nas Figuras 17 a 21.

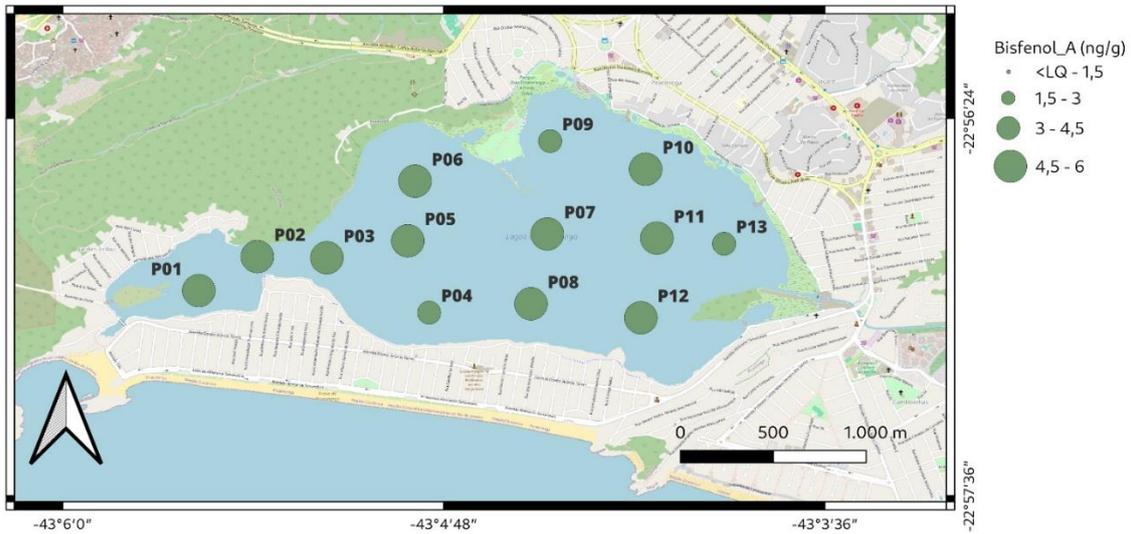


Figura 17: Mapa de distribuição da contaminação por Bisfenol A na Lagoa de Piratininga.

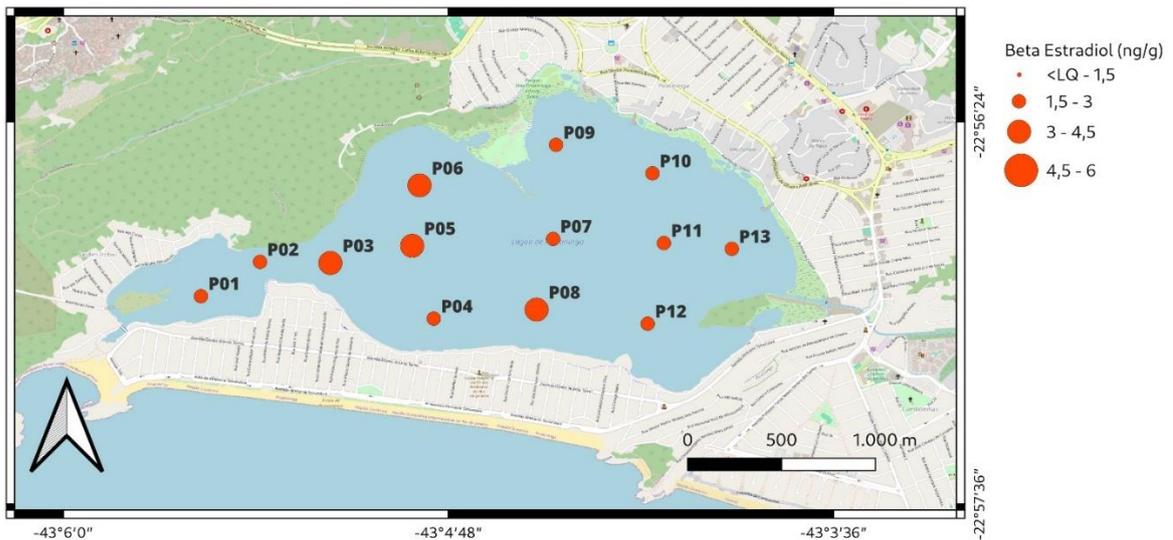


Figura 18: Mapa de distribuição da contaminação por β -Estradiol na Lagoa de Piratininga.

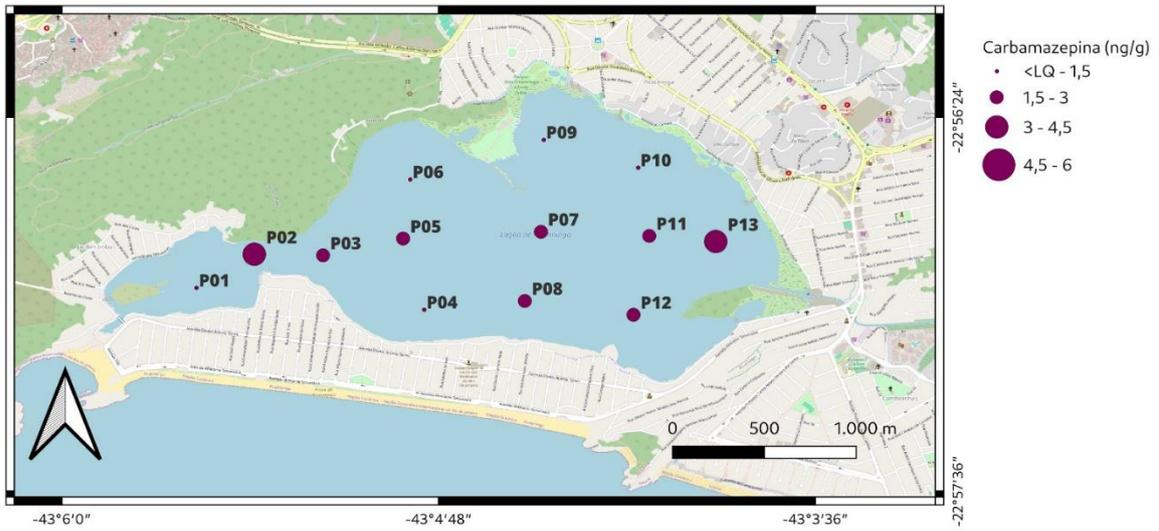


Figura 19: Mapa de distribuição da contaminação por Carbamazepina na Lagoa de Piratininga.

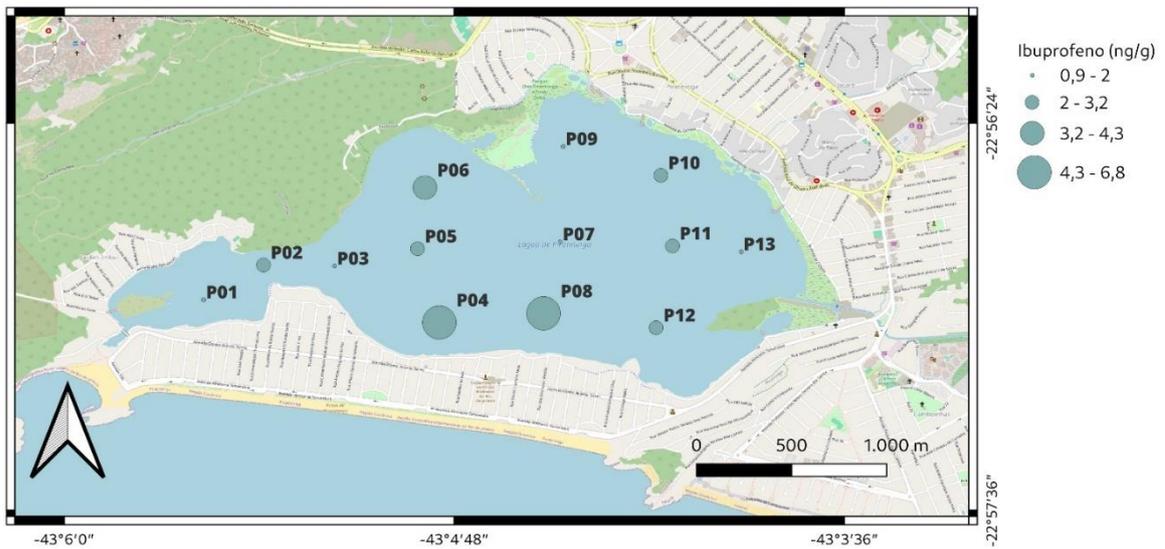


Figura 20: Mapa de distribuição da contaminação por Ibuprofeno na Lagoa de Piratininga.

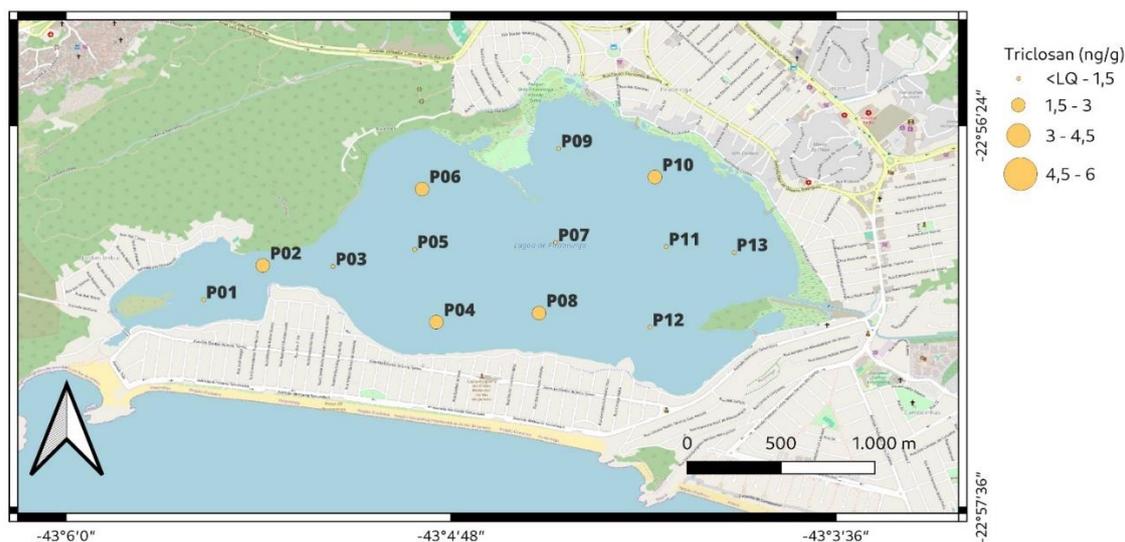


Figura 21: Mapa de distribuição da contaminação por Triclosan na Lagoa de Piratininga.

A aplicação do método de análise no sedimento da Lagoa de Piratininga revelou uma presença significativa de bisfenol A em todos os pontos de coleta. Além disso, observou-se uma distribuição considerável de β -estradiol e ibuprofeno, com pontos específicos de maior concentração (β -estradiol em P3, P5, P6 e P8, ibuprofeno em P4 e P8). No entanto, para os demais fármacos estudados, não foram observadas concentrações significativas.

Ao investigar possíveis fontes de contaminação por bisfenol A, beta estradiol e ibuprofeno, foram identificadas diversas fontes potenciais, incluindo escoamento urbano e descarte inadequado de resíduo urbano. Estes compostos são frequentemente encontrados em produtos de uso comum, como plásticos, produtos farmacêuticos e produtos de cuidados pessoais, e podem entrar no ambiente através de várias vias, como descarte inadequado de resíduos e vazamentos (Lee e Peart, 2000; Avar et al., 2016; Jan-Roblero e Cruz-Maya, 2023).

A relação entre o peso do carbono orgânico total e o nitrogênio total (razão C/N) é frequentemente utilizada como indicador da fonte de matéria orgânica em sedimentos aquáticos (Sampei, Matsumoto, 2001). Durante o processo de coleta, foi observada uma diferença visual na granulometria e composição dos sedimentos

entre os pontos de amostragem. Para compreender melhor essa variação, realizou-se uma análise de carbono e nitrogênio orgânico, bem como a relação entre eles. Embora não tenham sido observadas grandes discrepâncias na razão C/N entre os pontos, essa análise foi fundamental para entender o acúmulo de alguns contaminantes em regiões com maior concentração de matéria orgânica, como nos pontos P3, P4, P5 e P8.

A análise da relação C/N revelou um perfil linear, indicando uma relação consistente entre o carbono e o nitrogênio orgânico nos sedimentos. Pontos com maior concentração de matéria orgânica apresentaram também maior concentração dos fármacos estudados, sugerindo uma possível associação entre a presença desses compostos e a matéria orgânica presente no sedimento. Este achado destaca a importância da matéria orgânica como um potencial sorvente e transporte de contaminantes no ambiente aquático.

As análises de carbono orgânico, de nitrogênio orgânico e de sua razão são apresentadas abaixo nas figuras 22 a 25.

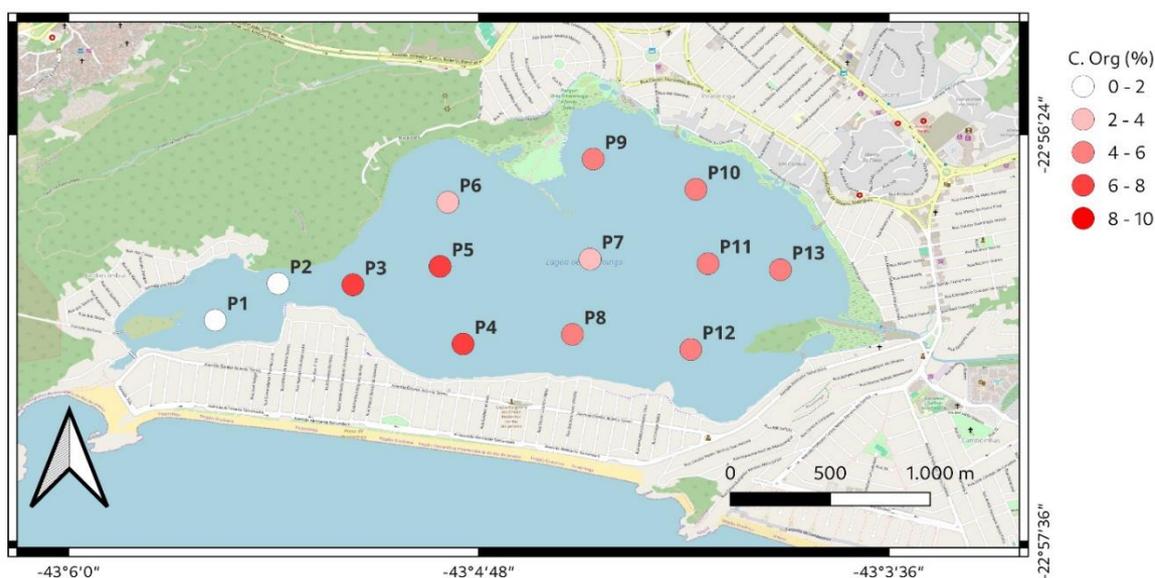


Figura 22: Mapa de distribuição do percentual de Carbono Orgânico na Lagoa de Piratininga.

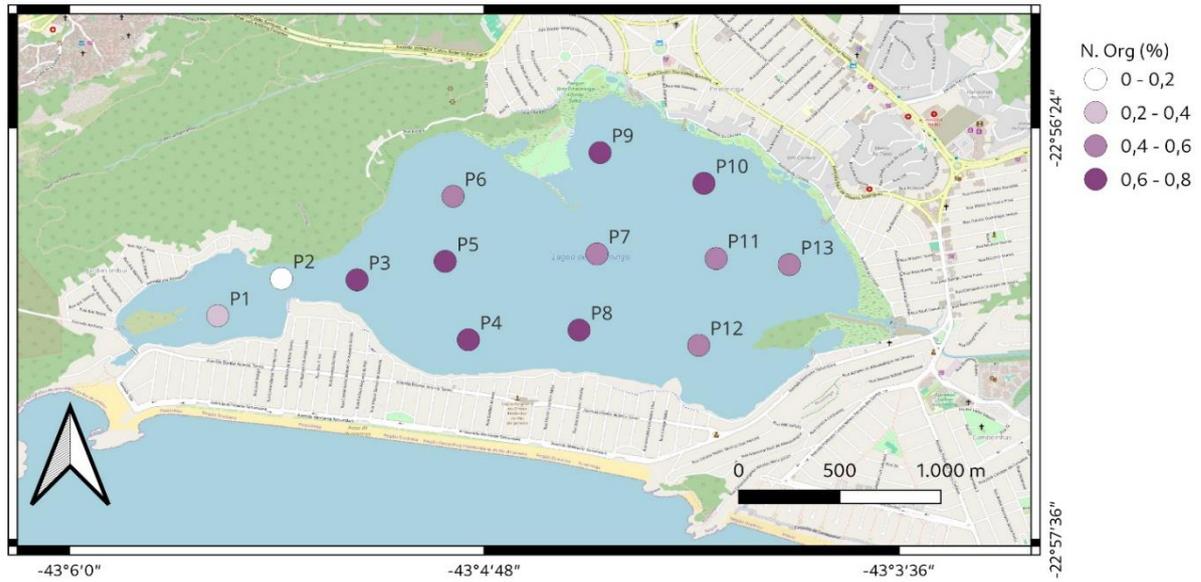


Figura 23: Mapa de distribuição do percentual de Nitrogênio Orgânico na Lagoa de Piratininga.

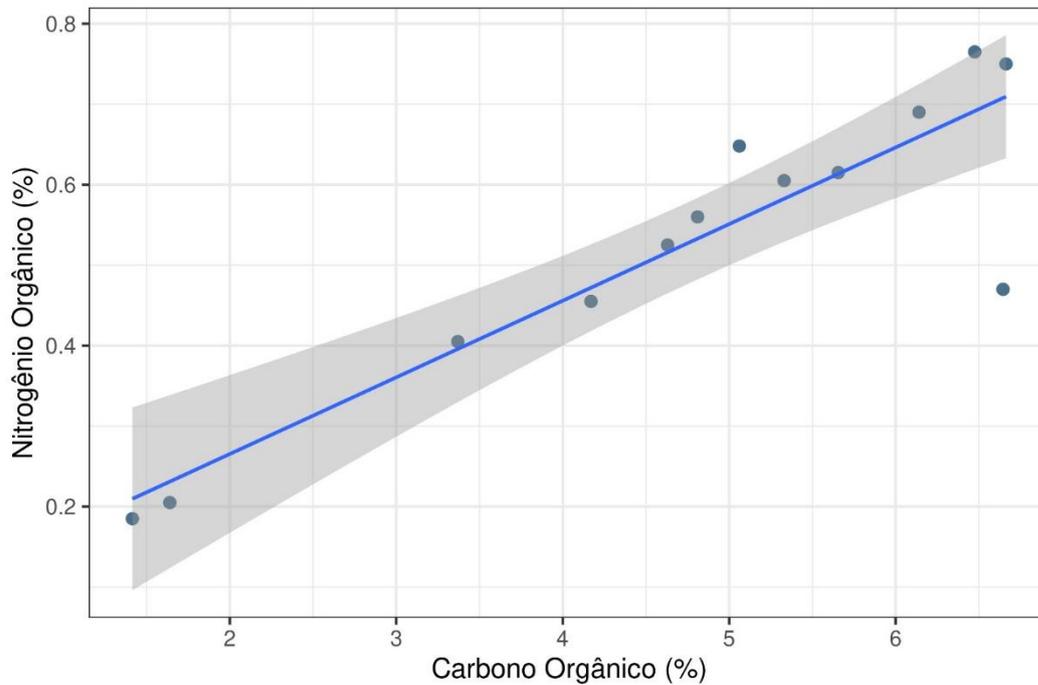


Figura 24: Razão C/N

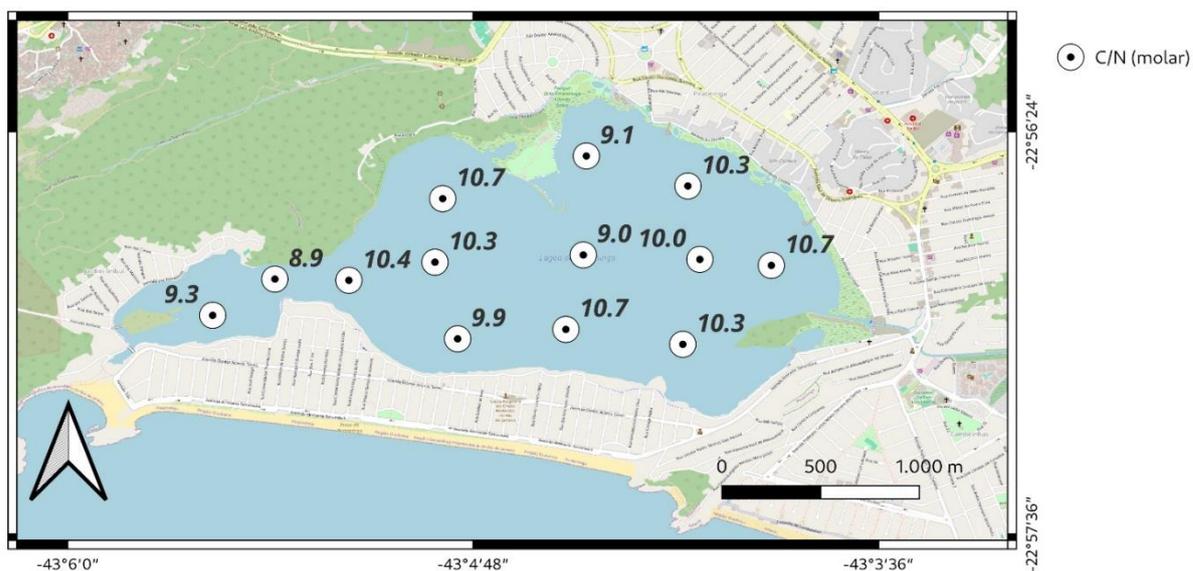


Figura 25: Mapa de distribuição razão C/N na Lagoa de Piratininga.

Tomando como base a Razão C/N, que apresentou perfil linear, os dados de C orgânico, N orgânico e de contaminação por cada analito encontrados nos sedimentos da lagoa de Piratininga foram utilizados em uma análise de correlação. Não foi possível observar uma correlação clara entre nenhum dos compostos estudados, a maior correlação, de apenas 0.67, foi observada entre Triclosan e Ibuprofeno. Porém, corroborando o perfil linear que já havia sido observado no gráfico para a razão C/N, a análise de correlação entre C orgânico e N orgânico indicou uma correlação de 0,9. Esses resultados podem ser observados na Matriz de correlação apresentada na Figura 26.

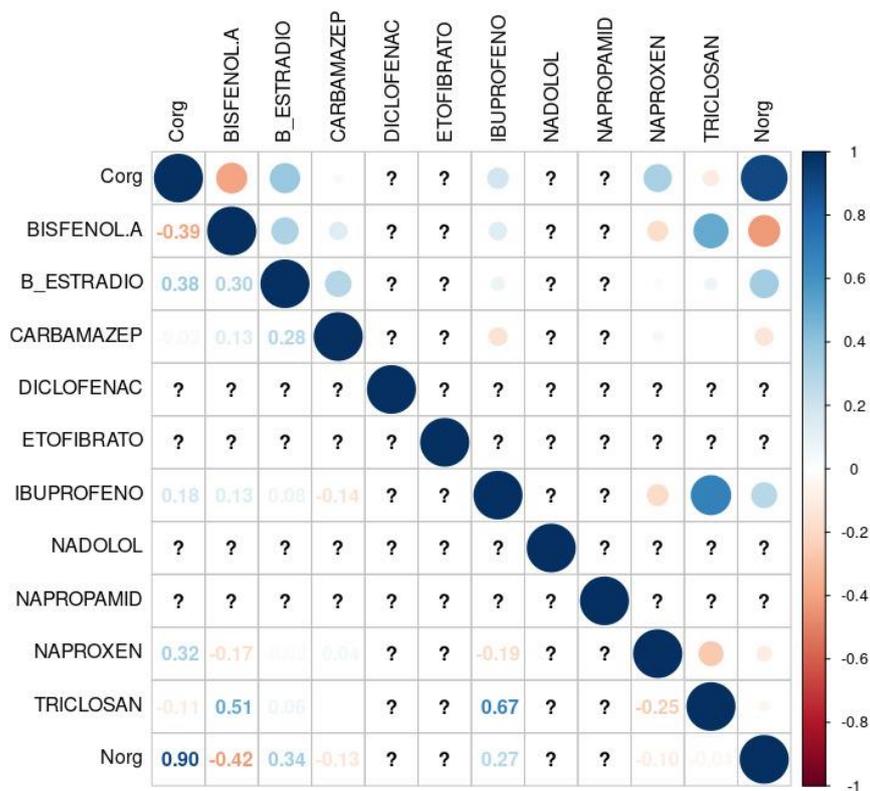


Figura 26: Matriz de correlação dos dados de sedimentos da Lagoa de Piratininga

Ainda buscando compreender de forma mais profunda e analítica a distribuição dos fármacos estudados na Lagoa de Piratininga, foi realizada a normalização dos dados (Z-score) pela média e desvio padrão, e depois foi calculada a distância euclidiana e para agrupamento (cluster) as estações pelo método de Ward (Figura 26). A análise de agrupamento é um procedimento estatístico multivariado que organiza os dados em grupos com características homogêneas (Aldenderfer e Blashifield, 1984).

Com base nessas análises, foi realizada a divisão em 3 grupos:

Uma área com os pontos de coleta mais próximos à ligação da Lagoa de Piratininga com o mar pelo Canal do Tibau (P01 e P02). Uma área com grande concentração de matéria orgânica e com proximidade a uma região de maior densidade

populacional, composta por pontos que circundam a ligação com a Lagoa de Itaipu pelo canal do camboatá onde se observou maior concentração dos fármacos estudados (P03, P05, P07, P09, P11, P12 e P13). E último grupo, embora se apresente de forma dispersa, é composto por pontos que tem proximidade com regiões de menor densidade populacional onde se observa também menor percentual de matéria orgânica (P04, P06, P07, P08 e P10).

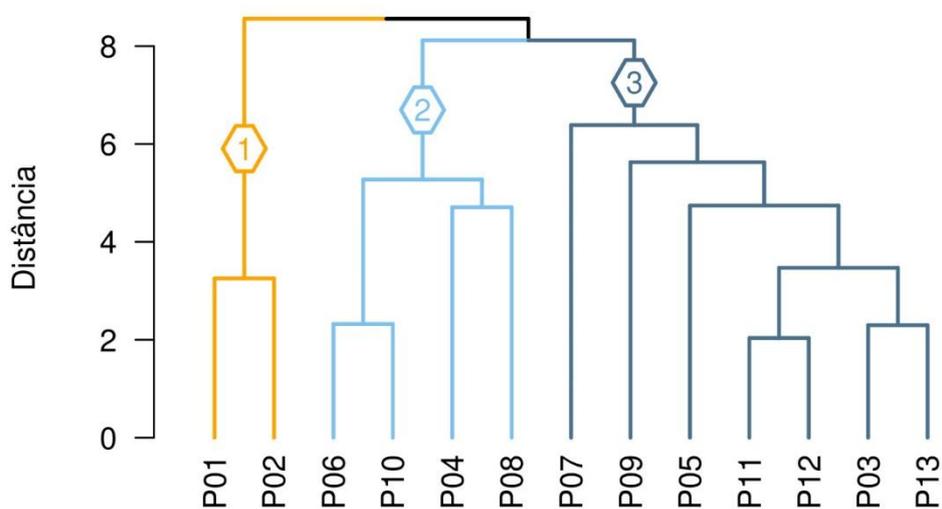


Figura 27: Resultado da análise de cluster (Agrupamento)

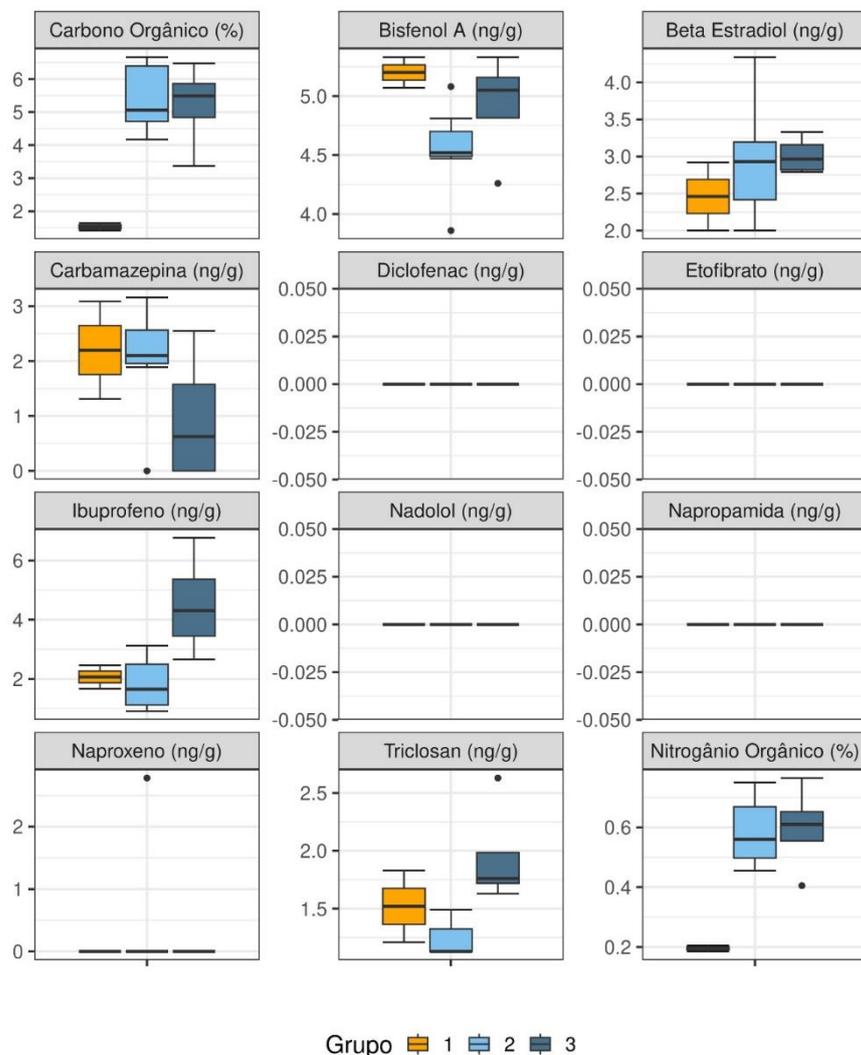


Figura 28: Grupos em função das variáveis de entrada

Como forma de facilitar a visualização da distribuição desses grupos, foi elaborado um mapa com a identificação espacial dos grupos identificados. Como se pode observar na Figura 29, o resultado obtido indica um gradiente de concentração entre o ponto de possível descarga de matéria orgânica pelo Canal do Camboatá e a ligação com o mar pelo Canal do Tibau. Esse resultado ajuda a reforçar a importância do Canal do Tibau como forma mitigar a contaminação observada na Lagoa de Piratinigna.

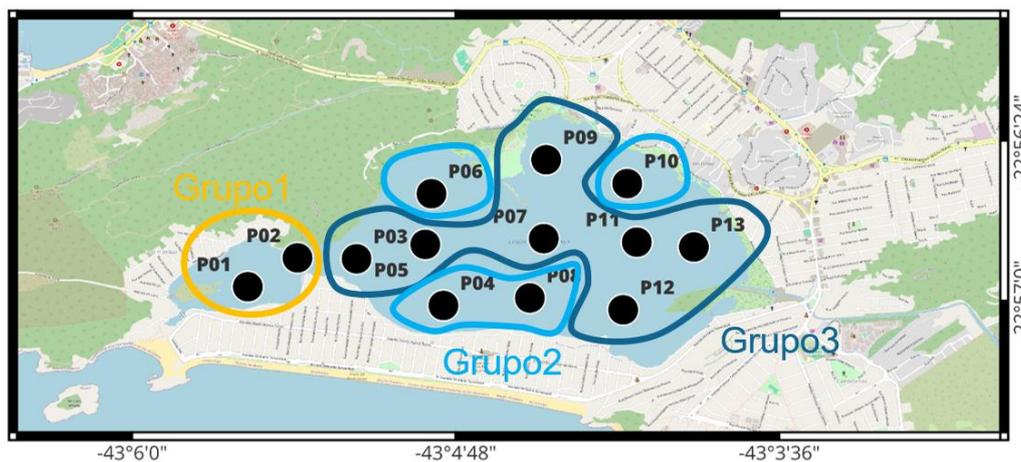


Figura 29: Mapa de distribuição dos Grupos na análise Cluster

Os resultados indicam ainda a presença de concentrações quantificáveis de bisfenol A, β -estradiol e ibuprofeno nos sedimentos, necessitando de uma análise comparativa para uma avaliação mais precisa da contaminação.

No estudo de Martín et al., 2020, em Sevilha, embora não tenha sido identificada a presença de β -estradiol no sedimento, foram detectadas concentrações de até 203 ng/g no lodo. Adicionalmente, de Oliveira Santos et al., 2022, encontraram até 18,1 ng/g de β -estradiol em Jurujuba. Os resultados deste estudo, com concentrações variando de 2 a 4,34 ng/g, sugerem a necessidade de considerar a presença de β -estradiol em outras áreas para uma avaliação mais abrangente da contaminação na Lagoa de Piratininga.

Quanto ao bisfenol A, as concentrações encontradas na Lagoa de Piratininga (3,86 a 5,33 ng/g) são comparáveis às observadas por Oliveira Santos et al., 2022 (1,4 a 20,3 ng/g), indicando uma presença alinhada com o que tem sido observado em

estudos realizados no Rio de Janeiro. Este resultado reforça a importância de estudos mais amplos para uma compreensão mais detalhada da contaminação.

Em relação ao ibuprofeno, Martín et al., 2010, encontraram concentrações de 1,3 a 5 ng/g, enquanto Silva et al., 2011, registraram variações de 1,76 a 20,6 ng/g. As concentrações deste estudo (0,91 a 6,77 ng/g) estão dentro da faixa observada em estudos anteriores, indicando uma contaminação consistente com as tendências identificadas em pesquisas similares.

6. Conclusão

O presente estudo possibilitou o desenvolvimento de uma metodologia robusta para a quantificação de fármacos em amostras de sedimento ambiental. Após uma meticulosa otimização do processo de derivatização, determinamos que a utilização de 200 μ L de acetonitrila e 100 μ L de BSTFA-TCMS a 80°C por 1 hora proporcionou as melhores condições para a preparação das amostras. Adicionalmente, a otimização do sistema GC-MS permitiu uma eficaz separação dos picos dos 10 compostos de interesse, garantindo, assim, uma análise precisa e confiável. A avaliação dos parâmetros de qualidade do método revelou uma excelente seletividade, com tempos de retenção claramente definidos para cada composto, além de uma linearidade satisfatória em todas as 10 curvas analíticas. Destacamos ainda a aplicação bem-sucedida da estratégia de mínimos quadrados ponderados com peso 1/x para os compostos naproxeno e triclosan, resultando em curvas com bom ajuste linear e homocedásticas.

Os limites de detecção (entre 0.11 e 0.52 ng/g) e de quantificação (entre 0.34 e 2.6 ng/g) obtidos demonstraram uma sensibilidade analítica notável, enquanto as recuperações dos compostos (59.8 - 101%) foram consistentes com as referências consultadas. O desenvolvimento e otimização da metodologia apresentada revelaram-se úteis na avaliação ambiental dos fármacos estudados, permitindo uma resposta clara sobre a contaminação por PPCPs na Lagoa de Piratininga.

Em conclusão, os resultados desta pesquisa indicam uma presença significativa de bisfenol A, β estradiol e ibuprofeno no sedimento da Lagoa de Piratininga, sugerindo uma potencial contaminação por esses compostos. A observação de diferenças na granulometria e composição dos sedimentos entre os pontos de coleta, juntamente com a análise da relação C/N, destacou a importância da matéria orgânica na sorção e transporte de contaminantes. Pontos com maior concentração de matéria orgânica apresentaram também maior concentração dos fármacos estudados, indicando uma possível associação entre esses dois fatores.

Também foi possível relacionar 3 áreas da Lagoa (próxima ao Mar, próxima ao bairro de Piratininga e próxima ao canal do Camboatá) com diferentes dinâmicas ambientais e consequentemente diferentes distribuições de contaminantes.

Esses resultados ressaltam a necessidade de monitoramento contínuo e medidas de gestão ambiental para mitigar os impactos da contaminação por substâncias químicas no ecossistema aquático. Evidenciam também a importância de estudos adicionais para compreender melhor os processos de transporte e destino desses contaminantes no ambiente aquático, visando proteger a saúde humana e a biodiversidade.

Embora os resultados para os três analitos mais detalhados neste estudo estejam alinhados com a literatura existente, a contaminação por essas substâncias deve ser objeto de estudos mais amplos e aprofundados. A harmonização dos dados com a bibliografia atual é um passo importante, porém, para assegurar uma base sólida para o desenvolvimento de legislação específica e eficaz no controle ambiental desses contaminantes, é essencial ampliar a investigação. A realização de estudos mais robustos não apenas reforça a confiabilidade dos dados, mas também possibilita uma compreensão mais completa dos riscos associados à presença dessas substâncias no ambiente aquático. Portanto, é crucial investir em pesquisas adicionais que possam fornecer informações mais abrangentes e detalhadas, contribuindo assim para a proteção e preservação dos ecossistemas aquáticos e da saúde pública.

7. Referências bibliográficas

3º Relatório Parcial do Inventário da Biota – Ictiofauna e Carcinofauna – avaliando a estrutura das comunidades nas lagoas de Piratininga e Itaipu, elaborado por HYDROSCIENCE em 7 de Maio de 2019.

ADEMOYEGUN, Olufemi Temitope; OKOH, Omobola Oluranti; OKOH, Anthony Ifeanyi. Method validation and investigation of the levels of pharmaceuticals and personal care products in sludge of wastewater treatment plants and soils of irrigated golf course. *Molecules*, 2020, 25.14: 3114.

ANDERSEN, Henrik Rasmus, et al. Assessment of the importance of sorption for steroid estrogens removal during activated sludge treatment. *Chemosphere*, 2005, 61.1: 139-146.

ALRASHOOD, S. T. Carbamazepine. Profiles of drug substances, excipients and related methodology, 2016, 41: 133-321.

ANTONIĆ, Jan; HEATH, Ester. Determination of NSAIDs in river sediment samples. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2007, 387: 1337-1342.

AOAC INTERNATIONAL. Official methods of analysis of AOAC International. Guidelines for Standard Method Performance Requirements; 2012.

AVAR, Péter, et al. β -Estradiol and ethinyl-estradiol contamination in the rivers of the Carpathian Basin. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23: 11630-11638.

AZZOUZ, Abdelmonaim; BALLESTEROS, Evaristo. Combined microwave-assisted extraction and continuous solid-phase extraction prior to gas chromatography–mass spectrometry determination of pharmaceuticals, personal care products and hormones in soils, sediments and sludge. *Science of the Total Environment*, 2012, 419: 208-215.

BAKER, David R.; KASPRZYK-HORDERN, Barbara. Multi-residue determination of the sorption of illicit drugs and pharmaceuticals to wastewater suspended particulate matter using pressurised liquid extraction, solid phase

extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218.44: 7901-7913.

BARCELÓ, Damià. Emerging pollutants in water analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 2003, 10.22: xiv-xvi.

BILA, Daniele Maia; DEZOTTI, Márcia. Fármacos no meio ambiente. *Química nova*, 2003, 26: 523-530.

BLAU, K. ;HALKET, J. M. *Handbook of Derivatives for Chromatography*. 2. Ed. Chichester: John Wiley Sons, 1993.

BRASIL, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. A diretoria colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o Guia para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 02 de Junho de 2003.

CAMERON, W. M.; PRITCHARD, D. W.; HILL, M. N. The sea: Ideas and observations on progress in the study of the seas. *The Composition of Sea-Water, Comparative and Descriptive Oceanography*, p. 306-324, 1963.

CHAVES, Marisa de Jesus Silva, et al. Pharmaceuticals and personal care products in a Brazilian wetland of international importance: Occurrence and environmental risk assessment. *Science of the Total Environment*, 2020, 734: 139374.

CHYC, Marek; SAWCZAK, Jowita; WIĄCKOWSKI, Krzysztof. Occurrence of pharmaceuticals in surface waters. *Science, Technology and Innovation*, 2020, 9.2.

COMTOIS-MAROTTE, Simon, et al. Analysis of emerging contaminants in water and solid samples using high resolution mass spectrometry with a Q Exactive orbital ion trap and estrogenic activity with YES-assay. *Chemosphere*, 2017, 166: 400-411.

CRILL, WAYNE E. Carbamazepine. *Annals of Internal Medicine*, 1973, 79.6: 844-847.

DA SILVA, Bianca Ferreira, et al. Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere*, 2011, 85.8: 1331-1339.

DARWANO, Hicham; DUY, Sung Vo; SAUVÉ, Sébastien. A new protocol for the analysis of pharmaceuticals, pesticides, and hormones in sediments and suspended particulate matter from rivers and municipal wastewaters. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 2014, 66: 582-593.

DAUGHTON, Christian G.; TERNES, Thomas A. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?. *Environmental health perspectives*, 1999, 107.suppl 6: 907-938.

DE AQUINO, Maria Eduarda Radler. RESUMO DE TCC: PROJETO DE REQUALIFICAÇÃO DA ORLA DA LAGOA DE PIRATININGA, NITERÓI, RIO DE JANEIRO. *MIX Sustentável*, v. 5, n. 4, p. 139-139, 2019.

DE OLIVEIRA SANTOS, Ana Dalva, et al. Pharmaceuticals, natural and synthetic hormones and phenols in sediments from an eutrophic estuary, Jurujuba Sound, Guanabara Bay, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 2022, 184: 114176.

DÍAZ, Alejandro; PEÑA-ALVAREZ, Araceli. A simple method for the simultaneous determination of pharmaceuticals and personal care products in river sediment by ultrasound-assisted extraction followed by solid-phase microextraction coupled with gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of chromatographic science*, 2017, 55.9: 946-953.

DUSSAULT, Eve B., et al. Matrix effects on mass spectrometric determinations of four pharmaceuticals and personal care products in water, sediments, and biota. *Canadian Journal of Chemistry*, 2009, 87.5: 662-672.

EVANS, Sian E., et al. Determination of chiral pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater and sludge using microwave assisted extraction, solid-phase extraction and chiral liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 2015, 882: 112-126.

FATTA-KASSINOS, Despo; MERIC, Sureyya; NIKOLAOU, Anastasia. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2011, 399: 251-275.

FONTENELLE, Thiago Henriques; CORRÊA, Wanderson Barreto. Impactos da urbanização no espelho d'água dos sistemas lagunares de Itaipu e de Piratininga, Niterói (RJ), entre 1976 e 2011. *Boletim de Geografia*, v. 32, n. 2, p. 150-157, 2014.

GAGOSIAN, Robert B.; PELTZER, Edward T. The importance of atmospheric input of terrestrial organic material to deep sea sediments. *Organic Geochemistry*, v. 10, n. 4-6, p. 661-669, 1986.

GAN, Tong J. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile. *Current medical research and opinion*, 2010, 26.7: 1715-1731.

GONZÁLEZ, A. Gustavo; HERRADOR, M. Angeles; ASUERO, Agustín G. Intra-laboratory testing of method accuracy from recovery assays. *Talanta*, 1999, 48.3: 729-736.

GUIDELINE, ICH Harmonised Tripartite, et al. Validation of analytical procedures: text and methodology. Q2 (R1), 2005, 1.20: 05.

GUMBI, Bhekumuzi Prince, et al. Target, suspect and non-target screening of silylated derivatives of polar compounds based on single Ion monitoring GC-MS.

HARRINGTON, Peter J.; LODEWIJK, Eric. Twenty years of naproxen technology. *Organic Process Research & Development*, 1997, 1.1: 72-76.

International Chemical Safety Cards (ICSC: - 0323). Disponível em https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=pt&p_card_id=0323&p_version=2 (Último acesso Abril/2024).

International journal of environmental research and public health, 2019, 16.20: 4022.

INMETRO DOQ-CGCRE-008 Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos. 2020. RJ. Brasil.

INMETRO - Vocabulário Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2008). 1ª Edição Brasileira. Rio de Janeiro, 2009.

IP, Edward H. General linear models. Topics in Biostatistics, 2007, 189-211.

JACKEVICIUS, Cynthia A., et al. Use of fibrates in the United States and Canada. Jama, 2011, 305.12: 1217-1224.

JAN-ROBLERO, Janet; CRUZ-MAYA, Juan A. Ibuprofen: toxicology and biodegradation of an emerging contaminant. Molecules, 2023, 28.5: 2097.

JONES, Rhonda D., et al. Triclosan: a review of effectiveness and safety in health care settings. American journal of infection control, 2000, 28.2: 184-196.

JORNET-MARTÍNEZ, Neus, et al. Analysis of contact traces of cannabis by in-tube solid-phase microextraction coupled to nanoliquid chromatography. Molecules, 2018, 23.9: 2359.

KANTOR, THOMAS G. Ibuprofen. Annals of Internal Medicine, 1979, 91.6: 877-882.

KASPRZYK-HORDERN, Barbara; DINSDALE, Richard M.; GUWY, Alan J. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. Water research, 2008, 42.13: 3498-3518.

KNOPPERS, Bastiaan; KJERFVE, Björn; CARMOUZE, Jean-Pierre. Trophic state and water turn-over time in six choked coastal lagoons in Brazil. Biogeochemistry, v. 14, n. 2, p. 149-166, 1991.

KUMIRSKA, Jolanta, et al. Determination of twenty pharmaceutical contaminants in soil using ultrasound-assisted extraction with gas chromatography-mass spectrometric detection. Chemosphere, 2019, 232: 232-242.

LANÇAS, F. M. Extração em Fase Sólida (SPE). Volume 4 ed. São Carlos, 2004.

LEE, Hing-Biu; PEART, Thomas E. Bisphenol A contamination in Canadian municipal and industrial wastewater and sludge samples. *Water Quality Research Journal*, 2000, 35.2: 283-298.

LI, Zhaoyuan; YAO, Jianfeng. Testing for heteroscedasticity in high-dimensional regressions. *Econometrics and statistics*, 2019, 9: 122-139.

LONG, J. Scott; ERVIN, Laurie H. Correcting for heteroscedasticity with heteroscedasticity consistent standard errors in the linear regression model: Small sample considerations. *Indiana University, Bloomington, IN*, 1998, 47405: 1-33.

LU, Cuicui; WOOLDRIDGE, Jeffrey M. A GMM estimator asymptotically more efficient than OLS and WLS in the presence of heteroskedasticity of unknown form. *Applied Economics Letters*, 2020, 27.12: 997-1001.

MARTÍN, Julia, et al. Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination. *Journal of separation science*, 2010, 33.12: 1760-1766.

MASTROIANNI, Nicola, et al. Illicit and abused drugs in sewage sludge: method optimization and occurrence. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1322: 29-37.

MEDEIROS, Patricia Matheus, et al. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. *Environment international*, 2005, 31.1: 77-87.

MINGUEZ, Laetitia, et al. Toxicities of 48 pharmaceuticals and their freshwater and marine environmental assessment in northwestern France. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23: 4992-5001.

MOMPELAT, S.; LE BOT, B.; THOMAS, O. Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment international*, 2009, 35.5: 803-814.

MORENO-GONZÁLEZ, Rubén, et al. Seasonal distribution of pharmaceuticals in marine water and sediment from a mediterranean coastal lagoon (SE Spain). *Environmental research*, 2015, 138: 326-344.

NATA. Technical Note 17: Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods. Australia: National Association of Testing Authorities, 2013.

NIELSEN, S. Suzanne. Introduction to food analysis. *Food analysis*, 2017, 3-16.

OHORO, C. R., et al. Distribution and chemical analysis of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the environmental systems: a review. *International journal of environmental research and public health*, 2019, 16.17: 3026.

OZER, Daniel J. Correlation and the coefficient of determination. *Psychological bulletin*, 1985, 97.2: 307.

PALMEIRA, L.P. Ictio e carcinofauna do sistema lagunar Piratininiga-Itaipu, Niteroií, Brasil, antes e depois da abertura do canal do Tibau. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Fluminense (UFF).

PASQUINI, Nilton Cesar. Monitoramento de fármacos no Ribeirão Quilombo, estado de São Paulo, BR. *Saúde e meio ambiente: revista interdisciplinar*, 2016, 5.1: 63-77.

PÉREZ SOLSONA, Sandra; BARCELÓ, Damià. Application of advanced MS techniques to analysis and identification of human and microbial metabolites of pharmaceuticals in the aquatic environment. 2007.

QI, Yanli, et al. Enantioselective phytotoxicity and bioactivity of the enantiomers of the herbicide napropamide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2015, 125: 38-44.

RADOVIĆ, Tanja, et al. Determination of pharmaceuticals and pesticides in river sediments and corresponding surface and ground water in the Danube River and tributaries in Serbia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2015, 187: 1-17.

RIBANI, Marcelo, et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química nova*, 2004, 27: 771-780.

RIBEIRO, Fabiana Alves de Lima, et al. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova*, 2008, 31: 164-171.

ROCHESTER, Johanna R. Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reproductive toxicology*, 2013, 42: 132-155.

SAMPEI, Yoshikazu; MATSUMOTO, Eiji. C/N ratios in a sediment core from Nakaumi Lagoon, southwest Japan—usefulness as an organic source indicator—. *Geochemical Journal*, 2001, 35.3: 189-205.

SGHAIER, Rafika Ben, et al. Simultaneous detection of 13 endocrine disrupting chemicals in water by a combination of SPE-BSTFA derivatization and GC-MS in transboundary rivers (France-Belgium). *Water, Air, & Soil Pollution*, 2017, 228: 1-14.

SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. Instrumental analysis. Belmont: Brooks/Cole, Cengage Learning, 2007.

SLUSAREK, Lidia; FLOREY, Klaus. Nadolol. In: *Analytical Profiles of Drug Substances*. Academic Press, 1981. p. 455-485.

SPÓSITO, Andrei Carvalho, et al. Etofibrate but not controlled-release niacin decreases LDL cholesterol and lipoprotein (a) in type IIb dyslipidemic subjects. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2001, 34: 177-182.

STRELAU, J. R. DE M. Metodologia para Determinação de Agrotóxicos por GC/MS em Pluma e Tecido de Algodão, 2013. Universidade Federal de Santa Catarina.

TANG, Wei. The metabolism of diclofenac—enzymology and toxicology perspectives. *Current drug metabolism*, 2003, 4.4: 319-329.

THOMPSON, Michael, et al. Harmonized guidelines for the use of recovery information in analytical measurement. *Pure and applied chemistry*, 1999, 71.2: 337-348.

TODD, Peter A.; CLISSOLD, Stephen P. Naproxen. *Drugs*, 1990, 40.1: 91-137.

TOGOLA, Anne; BUDZINSKI, Hélène. Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE and GC–MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2007, 388.3: 627-635.

TSETSKHLADZE, Zurab R., et al. Comparative Analysis of Different Brands of Ibuprofen available on the Georgian Pharmaceutical Market. *Modern Issues of Medicine and Management*, 2023, 26.2: 40-48.

VON SPERLING, M. (2005). *Introdução   qualidade das águas e ao tratamento de esgotos*. 3^a ed. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA), Universidade Federal de Minas Gerais, 452p.

XU, Jian, et al. Simultaneous determination of pharmaceuticals, endocrine disrupting compounds and hormone in soils by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1202.2: 189-195.

ZHAO, Bai-Hang, et al. 17 beta-estradiol biodegradation by anaerobic granular sludge: Effect of iron sources. *Scientific reports*, 2020, 10.1: 7777.

ZHOU, John; BROODBANK, Nicola. Sediment-water interactions of pharmaceutical residues in the river environment. *Water research*, 2014, 48: 61-70.