FURG

Dissertação de Mestrado

OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E PRODUTOS DE CUIDADO PESSOAL EM LODO DE ETA POR LC-ESI-MS/MS

Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2013

OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E PRODUTOS DE CUIDADO PESSOAL EM LODO DE ETA POR LC-ESI-MS/MS

por

Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

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

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2013

Universidade Federal do Rio Grande
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química
Tecnológica e Ambiental

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a Dissertação de Mestrado

OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E PRODUTOS DE CUIDADO PESSOAL EM LODO DE ETA POR LC-ESI-MS/MS

elaborada por

Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

Como requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre em Química
COMISSÃO EXAMINADORA

_____
Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel - Orientador (FURG - RS)

_____
Profª. Drª. Isabel Cristina Sales Fontes Jardim (UNICAMP - SP)

_____
Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves (FURG - RS)

Rio Grande, 01 de abril de 2013.

AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel** pela oportunidade dada na Iniciação Científica onde pude acompanhar os trabalhos desenvolvidos pelo grupo e conhecer as técnicas de preparo de amostra e os fundamentos da cromatografia, despertando o meu interesse pela Química Analítica. Agradeço a orientação, apoio e por acreditar na minha capacidade. Obrigada professor!

À **Profª. Drª. Isabel Cristina Sales Fontes Jardim** pela disponibilidade em participar na defesa da dissertação, contribuindo com seus valiosos comentários e sugestões.

Ao **Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves** pelas sugestões e contribuições dadas no exame de qualificação e na defesa da dissertação.

Ao **Prof. Carlos Francisco Ferreira de Andrade** pelas contribuições no exame de qualificação.

Aos meus pais **Flávio** e **Helena** (*in memoriam)* por estarem comigo em todos os momentos de minha vida, sempre acreditando em mim e por todo o amor que me deram e me dão. Mãe, mesmo não estando no plano físico, sei que você sempre esteve ao meu lado, me confortando em todos os momentos de aflição e angústia. Pai, obrigada por você estar sempre do meu lado, me incentivando a seguir em frente sempre. Amo muito vocês!

Ao meu amado filho **Samuel**, amor da minha vida. Agradeço a você, meu filho, o amor mais puro e sincero que eu já recebi em toda a minha vida, por ter suportado as minhas ausências e ficar acordado, ao meu lado, durante as madrugadas em que passei escrevendo a dissertação. Eu te amo muito meu pequeno!

Ao meu marido **Alexandre**, eu agradeço por todo amor, incentivo e por muitas vezes ter desempenhado o papel de pai e mãe para que eu pudesse estudar. Ale eu te amo muito!

À minha grande amiga **Tamara,** que esteve sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando. Amiga desde a graduação e estaremos juntas neste novo desafio. Amiga, o doutorado nos aguarda!

À **Sergi** pelos ensinamentos, paciência, amizade e por toda a ajuda dada durante a realização deste trabalho, tanto na parte experimental quanto na escrita, tanto que eu elegi você como minha “co-orientadora”. Muito obrigada Sergi!

Às minhas amigas **Liziane, Gabi, Sergi, Liziara e Jú Rocha**, pelas conversas, momentos de descontração, nossos almoços no “Caminhoneiro”, amizade e apoio.

Obrigada meninas! Tenho um grande carinho por vocês. Ah, não posso deixar de agradecer à Gabi pelas caronas e à Liziane pelas nossas conversas.

Aos meus **amigos e colegas do LACOM**. Durante estes quase cinco anos, convivi com diversas pessoas, fica difícil nomear cada um, então agradeço a todos, sem exceção, os bons momentos, os ensinamentos compartilhados e contribuições no desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pessoal!

Aos **colegas do PPGQTA**, em especial **Tamara, Jú Maciel e Renata**, pelas horas de estudo, apoio e amizade.

Aos **professores do PPGQTA**, pelos ensinamentos e pela contribuição na minha formação acadêmica.

Aos funcionários da EQA, em especial ao **Diego** e à **Rosane**, secretários do PPGQTA, sempre tão gentis e prestativos.

À **Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN)**, em especial à **Karla Cozza** e **Cecília Fonseca**, pela atenção dispensada e contribuições para a realização deste trabalho. Agradeço também aos funcionários que auxiliaram durante as coletas.

Ao **Laboratório de Operações Unitárias** da FURG por fornecer a quitina utilizada neste estudo.

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

Ao **CNPq** pela bolsa de estudos e aos órgãos de fomento FAPERGS, FINEP e CAPES.

À **Deus** pela vida, proteção, por ter me dado força e sabedoria para conquistar mais esta vitória.

Enfim, agradeço a todos que torceram por mim. Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS ..... **VII**

LISTA DE TABELAS ..... **VIII**

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS ..... **IX**

RESUMO ..... **XI**

ABSTRACT ..... **XII**

1. INTRODUÇÃO **1**

2. OBJETIVOS **4**

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **5**

3.1 Lodo de ETA – aspectos gerais **5**
3.2 Contaminação dos lodos por agrotóxicos, fármacos e PCP e regulamentações **7**
3.3 Técnicas de preparo de amostra **11**
3.3.1 Método QuEChERS **12**
3.4 Técnicas de separação e determinação **17**
3.4.1 Efeito matriz em LC-ESI-MS/MS **18**

4. MATERIAIS E MÉTODOS **20**

4.1 Seleção dos analitos para o estudo **20**
4.2 Instrumentação **26**
4.3 Reagentes, solventes e materiais **26**
4.4 Limpeza da vidraria **27**
4.5 Preparo das soluções analíticas **27**
4.6 Otimização do sistema cromatográfico LC-ESI-MS/MS **28**
4.6.1 Preparo e escolha da fase móvel **28**
4.6.2 Condições do sistema de detecção **28**
4.7 Coleta das amostras **29**
4.7.1 Local de amostragem **29**
4.7.2 Aplicabilidade **31**
4.8 Controle de qualidade nas determinações **31**
4.9 Otimização do preparo da amostra por QuEChERS **32**
4.9.1 Método QuEChERS proposto por Caldas et al. (2011) **32**
4.9.2 Método QuEChERS acetato **33**
4.9.3 Método QuEChERS citrato **33**
4.9.4 Influência do NaCl na recuperação dos analitos **34**
4.9.5 Etapa de limpeza **34**
4.9.6 Avaliação da interação dos compostos na fortificação **34**
4.10 Validação do método **34**
4.10.1 Limites de detecção e quantificação **35**

4.10.2 Curva analítica, curva trabalho e linearidade 35
4.10.3 Exatidão 36
4.10.4 Precisão 38
4.10.5 Avaliação do efeito matriz 38
4.10.6 Eficiência do processo 39
4.11 Tratamento estatístico dos dados 40

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS 41

5.1 Otimização do sistema cromatográfico LC-ESI-MS/MS 41
5.1.1 Escolha da fase móvel 41
5.1.2 Condições do sistema de detecção 43
5.2 Otimização do preparo de amostra por QuEChERS 46
5.2.1 Comparação entre os métodos 46
5.2.2 Influência do NaCl na recuperação dos analitos 47
5.2.3 Avaliação da interação dos compostos na fortificação 49
5.2.4 Etapa de limpeza 50
5.2.5 Método QuEChERS otimizado 55
5.3 Validação do método 57
5.3.1 Limites de detecção e quantificação 57
5.3.2 Curva analítica, curva trabalho e linearidade 58
5.3.3 Exatidão 60
5.3.4 Precisão 61
5.3.5 Efeito matriz 62
5.3.6 Eficiência do processo 70
5.4 Aplicabilidade 73
5.5 Comparação do método proposto 75

6. CONCLUSÕES 77

7. DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS 78

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 79

9. PRODUÇÃO CIENTÍFICA REFERENTE AO TRABALHO 89

Anexo I – Descrição dos sorventes empregados no trabalho 90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de alguns compostos encontrados no lodo, técnicas de preparo de amostra e de determinação. 8
Tabela 2. Trabalhos que determinaram agrotóxicos e fármacos em solo empregando QuEChERS 16
Tabela 3. Fórmula estrutural e propriedades físico-químicas dos compostos em estudo (Fonte: chemspider) 23
Tabela 4. Cronograma das coletas 31
Tabela 5. Condições cromatográficas otimizadas 43
Tabela 6. Programa de gradiente de eluição na vazão de 0,20 mL min^{-1} 43
Tabela 7. Parâmetros otimizados para os compostos estudados por LC-ESI-MS/MS (*Dwell time*: 0,2 s) 45
Tabela 8. Recuperação (R%) e estimativa do desvio padrão relativo (RSD) para os analitos, empregando diferentes tipos de sorventes na etapa de limpeza 51
Tabela 9. Resultados de recuperação (R%) e estimativa do desvio padrão relativo (RSD%) para os analitos em três níveis de concentração. 54
Tabela 10. Valores de LOD e LOQ instrumental e do método 57
Tabela 11. Resultados obtidos para as curvas analíticas e faixa linear 59
Tabela 12. Recuperação (R%) e precisão em termos de repetibilidade (RSD) para os compostos em estudo 61
Tabela 13. Recuperação (R%) e precisão intermediária (RSD_{pi}%) para os compostos em estudo 62
Tabela 14. Efeito matriz para os compostos em estudo 70
Tabela 15. Efeito matriz (EM), recuperação (R%) e eficiência do processo (EP) para os analitos 72
Tabela 16. Resultados da aplicabilidade do método em amostras de lodo de ETA (µg kg^{-1}) 73
Tabela 17. Comparação do método proposto com os métodos desenvolvidos para determinação de compostos orgânicos em lodo de ETA 76

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*

ASE – Extração Acelerada por Solvente, do inglês *Accelerated Solvent Extraction*

C_{18} - Sílica modificada com hidrocarboneto linear C_{18}, octadecilsilano

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

CORSAN – Companhia Riograndense de Saneamento

CV – coeficiente de variação

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

EM – Efeito matriz

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

EP – Eficiência do processo

EPA – Agência de Proteção Ambiental, do inglês *Environmental Protection Agency*

ETA – Estação de Tratamento de Água

ETE – Estação de Tratamento de Esgoto

EQA – Escola de Química e Alimentos

eV – elétron-Volt

FE - Fase Estacionária

FURG – Universidade Federal do Rio Grande

GC - Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

K_{OW} - Coeficiente de partição octanol-água

K_{oc} – Coeficiente de partição do carbono orgânico

LACOM – Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais

LC – Cromatografia Líquida, do inglês *Liquid Chromatography*

LC-QqLIT-MS – Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas quadrupolo linear e trapeamento iônico, do inglês *Liquid Chromatography Quadrupole Linear Ion-Trap-Mass Spectrometry*

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

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

MeCN – Acetonitrila

MRM - Monitoramento de Reações Múltiplas, do inglês *Multiple Reaction Monitoring*

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

m/z – razão massa-por-carga

n – número de replicatas

NBR – Norma Brasileira

p.a.- grau pró-análise

PCP – Produtos de Cuidado Pessoal, do inglês *Personal Care Produtcs*

pH - Potencial hidrogeniônico

pK_a- Potencial de dissociação ácida

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

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

r – Coeficiente de correlação linear

RENAME – Relação Nacional de Medicamentos Essenciais

RS – Rio Grande do Sul

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

RSD_{pi} – Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária

RSD_r – Desvio Padrão Relativo para Repetitividade

s – estimativa do desvio padrão absoluto

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

s/n – relação sinal-ruído

t_R – tempo de retenção

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

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

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

v/v - volume por volume

x_m – média de medidas em réplica

RESUMO

Título: OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO QuEChERS PARA DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E PRODUTOS DE CUIDADO PESSOAL EM LODO DE ETA POR LC-ESI-MS/MS

Autor: Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

Orientador: Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel

O lodo gerado em Estação de Tratamento de Água (ETA) durante as etapas de floculação e decantação é classificado como resíduo não inerte. Estudos recentes apontam para uma diminuição na concentração de agrotóxicos, fármacos e Produtos de Cuidado Pessoal (PCP) em águas, após o seu tratamento. Uma possível explicação seja que estes compostos possam estar ficando aderidos ao lodo; entretanto, a investigação desses compostos no lodo de ETA é bastante reduzida. Neste trabalho, foi realizada a otimização do método QuEChERS com determinação por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas sequencial para extração de agrotóxicos (atrazina, simazina, clomazona e tebuconazol), fármacos (amitriptilina, cafeína, diclofenaco e ibuprofeno) e PCP (metilparabeno, propilparabeno, triclocarban e bisfenol A) de diferentes classes, com diferentes propriedades físico-químicas em lodo de ETA, uma matriz bastante complexa, constituída basicamente de compostos inorgânicos (areia, argila e silte) e orgânicos (substâncias húmicas). Após otimizado, o método apresentou limites de quantificação ente 1 e 50 µg kg^{-1} e as curvas analíticas apresentaram valores de r maiores que 0,98. As recuperações variaram entre 50 e 120% com RSD ≤ 15%. O efeito matriz foi avaliado e observou-se a supressão do sinal para a maioria dos compostos, e o efeito foi compensado utilizando a quantificação por superposição na matriz. O método foi aplicado em amostras de lodo de ETA e foi constatada a presença de tebuconazol e metilparabeno em concentrações <LOQ.

Palavras-chaves: lodo de ETA, QuEChERS, LC-ESI-MS/MS, agrotóxicos, fármacos e PCP

ABSTRACT

Title: OPTIMIZATION OF QuEChERS METHOD FOR DETERMINATION OF PESTICIDES, PHARMACEUTICALS AND PERSONAL CARE PRODUCTS IN DRINKING WATER TREATMENT SLUDGE BY LC-ESI-MS/MS

Author: Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira

Advisor: Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel

The sludge generated from drinking water treatment plants during flocculation and decantation steps is classified as non-inert waste. Recent research indicates a decrease in the concentration of pesticides, pharmaceuticals and personal care products (PCPs) in water after treatment. A possible explanation is that these compounds may be adhered to sludge; however, investigation of these compounds in drinking water treatment sludge is reduced. In this study optimization of QuEChERS method and LC-ESI-MS/MS for extraction of pesticides (atrazine, simazine, clomazone and tebuconazole), pharmaceuticals (amitriptyline, caffeine, diclofenac and ibuprofen) and PCPs (methylparaben, propylparaben, triclocarban and bisphenol A), in drinking water treatment sludge, a very complex matrix, consisting essentially of inorganic compounds (sand, argil and silt) and organic (humic substances) was performed. After optimized, the method showed limits of quantification between 1 to 50 µg kg^{-1} and the analytical curves showed r values higher than 0.98. The recoveries ranged between 50 and 120% with RSD ≤ 15%. The matrix effect was evaluated, and suppression of the signal was observed for most compounds, the effect was compensated with matrix-matched calibration. The method was applied in drinking water treatment sludge samples and the presence of methylparaben and tebuconazole in concentration < LOQ was found.

Keywords: drinking water treatment sludge, QuEChERS, LC-ESI-MS/MS, pesticides, pharmaceuticals and PCPs

1. INTRODUÇÃO

O número de pesquisas voltadas para determinação de agrotóxicos, fármacos e produtos de cuidado pessoal (PCP) em matrizes ambientais é crescente. Na literatura são encontrados diversos trabalhos que determinam compostos emergentes em águas, uma vez que a contaminação dos recursos hídricos podem causar danos tanto à população quanto aos organismos aquáticos, devido a sua toxicidade, efeitos carcinogênicos e mutagênicos, além de sua persistência no ambiente (Gros *et al*., 2008). O comportamento desses compostos também tem sido estudado durante o tratamento de água e esgotos, em ambientes aquáticos e em lodo (Xu *et al*., 2009).

A demanda por água potável e a má qualidade da água dos rios estão exigindo a utilização de maiores concentrações de produtos químicos nas Estações de Tratamento de Água (ETA), gerando assim, maior quantidade de resíduos, denominados lodos de ETA (Cordeiro, 2001). Esses resíduos são classificados, segundo a Norma Brasileira - NBR 10004, como resíduos sólidos não inertes, ou seja, necessita-se que os mesmos sejam tratados para a disposição final (ABNT, 2004a). É importante ressaltar que a caracterização e quantificação do lodo são importantes para o conhecimento do sistema de tratamento, servindo também para avaliar o desempenho das unidades de tratamento.

Trabalhos desenvolvidos no Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais (LACOM) constataram a presença de agrotóxicos, fármacos e PCP na água que abastece a estação e na água após o tratamento na ETA da Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN) em Rio Grande - RS (Demoliner *et al*., 2010; Silveira, 2012).

No trabalho desenvolvido por Demoliner *et al.* (2010), foi observada uma redução da concentração de alguns agrotóxicos na água após o tratamento, apontando para a possibilidade desses compostos, estarem aderidos no lodo proveniente das etapas de floculação e decantação, evidenciando a importância de desenvolver estudos para investigar a presença de agrotóxicos, fármacos e PCP no lodo da ETA.

Para atender aos valores sugeridos pelas agências regulamentadoras é necessário o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis, seletivos, exatos e

precisos que permitam determinar contaminantes no lodo. As agências regulamentadoras, tais como a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), a União Europeia (Directive 86/278/EEC) e o Conselho Nacional do Meio Ambiente (Resolução n° 375/2006 - CONAMA) contemplam algumas classes de compostos dentre elas, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), nonilfenóis (NP) e agrotóxicos organoclorados nos lodos oriundos de Estações de Tratamento de Esgoto (ETE). Já para os fármacos e PCP, conhecidos como contaminantes emergentes, não existe ainda nenhuma legislação. Com isso, novos trabalhos estão sendo desenvolvidos nos últimos anos, no sentido de contribuir para complementação da Resolução n° 375/2006 do CONAMA. Portanto, é papel da Química Analítica aprimorar técnicas e desenvolver métodos cada vez mais sensíveis e seletivos para a determinação desses contaminantes emergentes.

Na literatura, atualmente, são encontrados trabalhos, a maioria realizados na Europa, Estados Unidos e Ásia, investigando a ocorrência de contaminantes emergentes (agrotóxicos, fármacos, PCP, entre outros) em lodos de ETE, já que estes resíduos são amplamente utilizados como fertilizantes na agricultura.

No entanto, a investigação desses compostos no lodo oriundo das ETA é bastante reduzida. Provavelmente, porque, geralmente, as águas captadas pelas ETA são águas de superfície, e consideradas águas não contaminadas, não se dando muita importância para os lodos de ETA. No entanto, com o avanço das técnicas de extração e detecção, resíduos de agrotóxicos e, mais recentemente, de compostos emergentes, vêm sendo detectados nas águas de superfície, sendo assim se torna relevante à investigação de contaminantes orgânicos nesses resíduos. Já em relação ao lodo de ETE, por ser gerado a partir do tratamento de esgoto, a presença de contaminantes orgânicos já é esperada.

No Brasil, segundo dados do IBGE, apenas 30% do esgoto é tratado, por esse motivo, a grande maioria do esgoto doméstico é descartado diretamente nos corpos hídricos. Consequentemente, a água captada pelas ETA pode estar contaminada por substâncias nocivas ao ambiente e a população. Algumas destas substâncias podem ficar aderidas no lodo resultante das etapas de floculação e decantação do tratamento de água, e muitas vezes esses resíduos são descartados diretamente no ambiente.

Nesse sentido, o desafio desse trabalho foi a otimização de um método para a determinação de agrotóxicos, fármacos e PCP, ou seja, analitos de diferentes classes com diferentes propriedades físico-químicas em lodo de ETA, uma matriz bastante complexa constituída basicamente de compostos orgânicos (substâncias húmicas) e inorgânicas (areia, argila e silte), empregando como método de extração o QuEChERS e a determinação por cromatografia líquida com ionização por eletrospray acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-ESI-MS/MS).

.

2. OBJETIVOS

Essa pesquisa teve como objetivo a otimização de um método para determinar agrotóxicos, fármacos e produtos de cuidado pessoal no lodo oriundo, após as etapas de floculação e decantação, do tratamento de água da CORSAN de Rio Grande - RS. Para isso foi empregada como técnica de preparo de amostra QuEChERS, e a determinação por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas sequencial.

Para desenvolver e validar o método foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Selecionar os analitos que serão analisados no lodo;
- Otimizar os principais parâmetros da extração por QuEChERS e as condições de análise por cromatografia líquida com ionização por eletrospray acoplada à espectrometria de massas sequencial (LC-ESI-MS/MS);
- Validar o método empregando QuEChERS e LC-ESI-MS/MS para determinação dos agrotóxicos, fármacos e PCP em lodo de ETA, avaliando as principais figuras de mérito e estudando a influência do efeito matriz na exatidão dos métodos;
- Estabelecer cronograma de coleta de amostras;
- Demonstrar a aplicabilidade dos métodos validados na determinação de resíduos de agrotóxicos, fármacos e PCP em lodo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Lodo de ETA – aspectos gerais

A ETA do tipo convencional ou completo, constituída basicamente das etapas de coagulação, floculação, decantação e filtração (Figura 1), transforma a água inadequada para o consumo humano em um produto que esteja de acordo com o padrão de potabilidade.

Durante o tratamento são adicionados produtos químicos que possam desestabilizar as partículas coloidais presentes na água, formando flocos com tamanho suficiente para sua posterior remoção. A desestabilização é provocada pela adição de sais de ferro e alumínio, e para isso são necessárias operações de mistura rápida para a dispersão do coagulante e câmaras de mistura lenta para a formação final dos flocos. Após a formação, se faz necessária a remoção dos mesmos nos decantadores, onde são sedimentados e ficam retidos durante um determinado período de tempo. A água decantada com parte dos flocos que não sedimentaram passam para os filtros, para a clarificação final. Desse modo, grande parte dos flocos fica retida nos decantados e outra parcela nos filtros. Sendo assim, a ETA além de produzir água para abastecimento, produz também resíduos, tais como, os lodos acumulados nos decantadores e a água de lavagem dos filtros (Cordeiro, 1999).

A toxicidade potencial dos lodos de ETA para plantas, seres humanos e organismos aquáticos, segundo Cordeiro (1999), depende de alguns fatores, dentre eles as características da água bruta; produtos químicos utilizados durante o tratamento; reações químicas ocorridas durante o processo; forma de remoção e tempo de retenção dos resíduos nos decantadores. Nesse sentido, a presença de contaminantes na água, como por exemplo, agrotóxicos, fármacos e PCP pode favorecer a toxicidade dos lodos. Cabe ressaltar que estudos relatam a presença de fármacos nas águas de superfície e abastecimento no Brasil (Sodré *et al*., 2010a; 2010b; Montagner e Jardim, 2011; Maldaner e Jardim, 2012; Caldas *et al*., 2013). No município de Rio Grande/RS, onde foi realizado esse estudo, foi constatada a presença de fármacos e PCP (Silveira, 2012) e de agrotóxicos (Demoliner *et al*., 2010) nas águas captadas pela ETA.

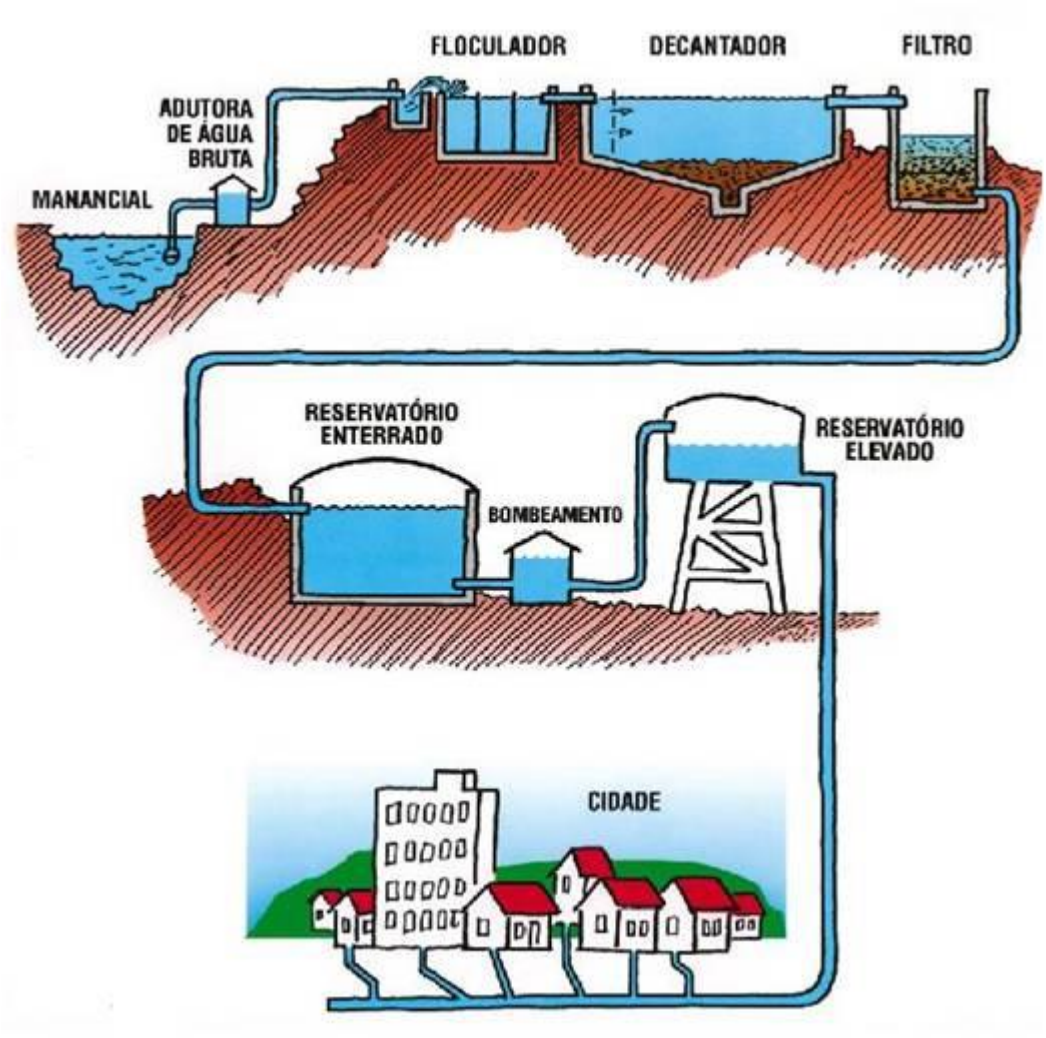


Figura 1. Fluxograma do tratamento de água (Fonte: CORSAN)

Os lodos gerados nas ETA são classificados, conforme a ABNT NBR 10004/2004, como resíduo sólido classe II - A, ou seja, podem ter propriedades tais como: biodegrabilidade, combustibilidade ou solubilidade em água, sendo necessário um tratamento prévio antes de depositá-lo no ambiente. O lodo gerado na ETA da Companhia Riograndense de Saneamento (CORSAN), no município de Rio Grande/ RS, após atingir certo percentual de umidade, é disposto ao longo do canal de adução, conforme autorização da Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM). Segundo a própria companhia novos destinos estão sendo estudados.

O lodo de ETA é composto basicamente por hidróxido de alumínio, partículas inorgânicas como areia, argila e silte, e substâncias orgânicas como, compostos húmicos (Bidone *et al*., 2001; Hoppen *et al*., 2006). Esse resíduo possui grande

umidade, geralmente maior que 95%, estando, de uma maneira geral, na forma fluida, sendo necessária a redução de seu volume para que o mesmo possa ser disposto de forma adequada, diminuindo custos de transporte, disposição final e os riscos de poluição do meio ambiente (Cordeiro, 1999; 2001). A redução do volume de lodo pode ser realizada por meios naturais, empregando leitos de secagem e lagoas de lodo ou por meios mecânicos através da utilização de centrífugas, filtro-prensa e filtro à vácuo (Cordeiro, 1999).

A disposição final do lodo de ETA pode ser realizada em aterros sanitários; como fertilizantes em solos; incinerados (*Water Research Foundation*, 2009; Teixeira *et al.* 2011) e recentemente novas alternativas estão sendo estudadas, como por exemplo, na fabricação de concreto e tijolos (Hoppen *et al*., 2006; Teixeira *et al.* 2011).

3.2 Contaminação dos lodos por agrotóxicos, fármacos e PCP e regulamentações

Na literatura, atualmente, são encontrados trabalhos investigando a ocorrência de contaminantes emergentes (agrotóxicos, fármacos, PCP, entre outros) em lodos de ETE, já que estes resíduos são amplamente utilizados como fertilizantes na agricultura. Na Tabela 1 constam alguns trabalhos que determinaram compostos orgânicos no lodo de ETE, com ênfase para os limites de quantificação encontrados e a faixa de concentração detectada para os compostos que são foco deste estudo.

Tabela 1. Exemplos de alguns compostos encontrados no lodo, técnicas de preparo de amostra e de determinação.

Compostos	Classe	Preparo de Amostra	Determinação	LOQ (µg kg^{-1})	Concentração (µg kg^{-1})	Referência
Cafeína	Estimulante	PLE	LC-ESI-MS/MS	102	34 - 76	Ding *et al.* (2011)
Diclofenaco	Anti-inflamatório	PLE	LC-QqLIT-MS	3	28 – 75	Jelic *et al.* (2009)
Ibuprofeno	Anti-inflamatório			0,3	43 – 117	
Diclofenaco	Anti-inflamatório	PLE	LC-ESI-MS/MS	96	193	Radjenovic *et al.*, (2009)
Ibuprofeno	Anti-inflamatório			64	295	
Diclofenaco	Anti-inflamatório	UAE*	GC-EI-MS	37	87 – 421	Yu e Wu, (2012)
Ibuprofeno	Anti-inflamatório			7	27 – 208	
Bisfenol A	Plastificante			5	66 - 217	
Diclofenaco	Anti-inflamatório	UAE	GC-EI-MS	62	-	Samaras *et al.,* (2011)
Ibuprofeno	Anti-inflamatório			61		
Bisfenol A	Plastificante			108		
Triclocarban	Antisséptico	PLE	LC- ESI-MS/MS	3	4 - 12	Cha e Cupples, (2009)
Triclocarban	Antisséptico	PLE	LC-ESI-MS/MS	0,5	2 - 6	Chu e Metcalfe, (2007)
Triclocarban	Antisséptico	PLE	UHPLC-ESI-MS/MS	2,5	5 – 8	Nieto *et al.*, (2009)
Metilparabeno	Conservante			6	46 – 202	
Propilparabeno	Conservante			2,5	6 - 10	
Tebuconazol	Fungicida	UAE	UHPLC-ESI-MS/MS	5	< 5	Huang *et al.* (2010)

*UAE: extração assistida por ultrassom

No entanto, a investigação desses compostos no lodo oriundo das ETA é bastante reduzida. Petrovic *et al.* (2001) determinaram derivados halogenados de alquilfenóis. Wombacher e Hornbuckle (2009) investigaram a presença de fragrâncias em uma ETA do tipo convencional, nos Estados Unidos e observaram que os compostos ficaram retidos no lodo. Também nos Estados Unidos, Stackelberg *et al*. (2007) avaliaram a eficiência de uma ETA do tipo convencional na remoção de 113 compostos orgânicos, incluindo fármacos, PCP, produtos de degradação de detergentes, plastificantes entre outros, e foi observada a presença de 34 desses compostos no lodo, dentre eles os fármacos carbamazepina, difenidramina e fluoxetina; o plastificante bisfenol A; o inseticida carbazol e o antisséptico triclosan. No Brasil, Moracci (2008) determinou agrotóxicos no lodo de ETA e Ribeiro (2007) realizou a análise qualitativa e quantitativa de compostos inorgânicos nesta matriz.

Os agrotóxicos são definidos, conforme o Decreto nº 4.074 regulamenta a Lei nº 7802/1989, como *"produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou implantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-la da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento"* (Brasil, 2002). Estes produtos abrangem um grande número de moléculas, com diferentes modos de ação e toxicidade e são divididos em três classes principais, sendo elas inseticidas, fungicidas e herbicidas (Silva e Fay, 2004). Cabe ressaltar que as propriedades físico-químicas dos agrotóxicos são consideradas um importante parâmetro para avaliação ou predição teórica dos seus destinos e impactos no ambiente, bem como, a contaminação residual em alimentos (Cabrera *et al*., 2008).

Os fármacos e os PCP são classificados como poluentes orgânicos emergentes e têm despertado a atenção dos pesquisadores devido as suas amplas utilizações. Vários estudos têm demonstrado que as ETE são as principais contribuintes para a presença desses contaminantes no ambiente. Como estas substâncias são utilizadas na vida cotidiana, elas são continuamente introduzidas nos ambientes aquáticos,

principalmente através da excreção (fármacos, hormônios e anticoncepcionais, produtos de cuidado pessoal) e também pelo descarte de produtos não utilizados ou com prazo de validade vencido (Gros *et al.,* 2008).

Apesar de esses compostos serem considerados potenciais disruptores endócrinos, ou seja, compostos capazes de interferir no funcionamento natural do sistema endócrino, causando câncer, prejudicando os sistemas reprodutivos e provocando outros efeitos adversos, mesmos em baixas concentrações (Ghiselli e Jardim, 2007), não existe regulamentação sobre a presença destes compostos em lodos. A Resolução n° 375/2006 do CONAMA regulamenta os metais, benzenos clorados, ésteres de ftalatos, alguns fenóis clorados e não clorados, HPAs, e alguns poluentes orgânicos persistentes (POPs).

A União Europeia regulamenta a presença de metais no lodo (86/278/EEC). No entanto, em 2001, a presença de contaminantes orgânicos no lodo de ETE despertou interesse por parte da União Europeia. Nesse sentido, foi elaborado um documento em que foram propostos valores limites de concentração para alguns compostos orgânicos, dentre eles HPA, bifenilas policloradas (PCB) e nonilfenol (Comissão Europeia, 2001; Tadeo *et al*., 2010).

Assim como a União Europeia, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) também regulamenta somente a presença de metais no lodo. A EPA realizou um levantamento, *Targeted National Sewage Sludge Survey* (TNSSS), o qual teve como objetivo verificar a presença de potenciais poluentes presentes nos lodos de ETE gerados nos Estados Unidos, dentre eles metais; íons inorgânicos; compostos orgânicos, tais como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA), éter difenil polibromados (PBDE); fármacos, esteróides e hormônios. Em relação à presença de fármacos, dos 72 compostos analisados, ciprofloxacino (antimicrobiano), difenidramina (antialérgico) e triclocarban (antisséptico) foram encontrados em todas as amostras analisadas (EPA, 2009).

Além disso, a EPA realiza revisões bienais, conforme orientação da *Clean Water Act* (CWA) Seção 405(d)(2)(C), a fim de avaliar a disponibilidade e suficiência de dados que permitam a EPA determinar o potencial dano à saúde pública e/ou ao ambiente, identificando poluentes que possam ser regulamentados. Segundo a Revisão Bienal, realizada pela EPA em 2009 e publicada em 2012, 49 contaminantes foram

identificados, sendo que o triclosan e azitromicina já haviam sido relatados em revisões anteriores. Dos 49 contaminantes, a cafeína e triclocarban foram listados como poluentes que possuem poucos dados referentes à toxicidade a saúde dos humanos. Nesse sentido, a EPA não identificou durante essa revisão, poluentes tóxicos para uma potencial regulamentação. No entanto, continuarão avaliando a disponibilidade de informações suficientes para que os mesmos sejam regulamentados (EPA, 2012).

Em relação ao lodo de ETA, no Brasil é crime ambiental o despejo do mesmo nos recursos hídricos. Já nos Estados Unidos, não há orientações nacionais para regulamentar as descargas diretas ou indiretas desses resíduos nas águas, portanto, a regulamentação de poluentes descarregados em resíduos é decidida pelo Estado (ou por outras autoridades). A *National Pollutant Discharge Elimination System* (NPDES), é a responsável pela permissão da descarga de lodo de ETA nos corpos hídricos, sendo que existem regulamentações para alguns metais, como por exemplo, alumínio, cobre, arsênio, cádmio entre outros (EPA, 2011). Desse modo, torna-se relevante a investigação de compostos orgânicos no lodo gerado na ETA, uma vez que não existem regulamentações em relação à presença desses contaminantes no mesmo.

3.3 Técnicas de preparo de amostra

Para a determinação de contaminantes emergentes, bem como de agrotóxicos, se faz necessário o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis, rápidos e sensíveis que permitam a sua determinação em diferentes matrizes ambientais, em nível traço.

Devido às concentrações dos analitos serem geralmente muito baixas, apresentarem propriedades químicas distintas, considerando também a complexidade das matrizes, é necessário uma etapa prévia de preparo da amostra. Como as medidas são normalmente efetuadas em baixos níveis de concentração, as interferências são problemas frequentes que devem ser considerados. Os principais objetivos do preparo da amostra são, portanto, promover a extração e a concentração dos analitos, e a remoção, tanto quanto possível, dos interferentes. No entanto, perdas de analito nesta etapa podem comprometer o resultado das análises. Nesse sentido, o preparo da amostra é uma etapa crucial dentro de todo o processo analítico (Prestes *et al*., 2009).

Conforme observado na Tabela 1, os métodos propostos na literatura para determinação de contaminantes orgânicos em lodo são baseados na extração com líquido pressurizado (PLE), bem como o auxílio de ultrassom (UAE), seguidos de etapa de limpeza, geralmente utilizando a extração em fase sólida (SPE).

A PLE utiliza pressão e temperatura elevadas, sem atingir o ponto crítico. Esta técnica também é conhecida como extração por fluido pressurizado (PFE), extração com solvente a alta pressão (HPSE) ou, mais popularmente, pelo nome comercial da Dionex, extração acelerada por solvente (ASE). A PLE é considerada como uma técnica de extração razoavelmente simples, exaustiva, que fornece recuperações quantitativas com um tempo de desenvolvimento do método relativamente rápido (Nieto *et al.,* 2010).

Algumas vantagens da PLE são a utilização mínima de solvente e a possibilidade de automação, o que permite a extração simultânea de um número elevado de amostras, (Göbel, *et al*., 2005) e curto tempo de extração (Ding e Fann*,* 2000). Tal como acontece em outras técnicas de extração, uma das principais limitações da PLE está relacionada a seletividade, já que muitos interferentes podem ser coextraídos, dependendo do tipo de amostra (Dabrowski *et al*., 2002). Outras desvantagens são os custos elevados para aquisição e manutenção do equipamento e a necessidade de limpeza do equipamento entre as extrações (Prestes *et al*., 2011).

A UAE é utilizada no preparo de amostras sólidas, na extração, bem como na digestão, e na formação de suspensão. Também é utilizada na preparação de amostras líquidas, auxiliando na extração líquido-líquido (LLE), homogeneização ou emulsificação. Após a interação com a amostra, as ondas do ultrassom alteram suas propriedades físicas e químicas e seu efeito cavitacional facilita a liberação de compostos extraíveis da matriz. Estes procedimentos não envolvem destruição total da matriz da amostra, e sim a quebra das ligações químicas entre os elementos-traço e os constituintes da matriz de amostra (Picó, 2013).

3.3.1 Método QuEChERS

O método QuEChERS foi desenvolvido por Anastassiades e colaboradores, em 2003, para a extração de resíduos de agrotóxicos em frutas e vegetais. O método consiste basicamente, das etapas de extração com acetonitrila, seguida da partição

dos compostos para a fase orgânica, através da adição de sais e posterior etapa de limpeza do extrato empregando a extração em fase sólida dispersiva (d-SPE). Esse método tem como vantagens ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro.

No método original, o solvente de extração utilizado é acetonitrila, uma vez que proporciona a extração de agrotóxicos em uma ampla faixa de polaridade, possibilita uma menor extração de compostos lipofílicos presentes na matriz, como por exemplo, ceras, gorduras e pigmentos, além de ser mais adequada que a acetona e acetato de etila em análises em LC-MS/MS e por GC-MS/MS (Anastassiades *et al.,* 2003). A acidificação da acetonitrila permite recuperações satisfatórias para analitos sensíveis a variação de pH (Prestes *et al.*, 2009).

No método QuEChERS, os procedimentos de agitação manual ou com auxílio do Vortex são empregados, uma vez que possuem vantagens em relação à agitação mecânica, dentre elas, a extração ocorre em um único frasco fechado, não expondo o analista; rapidez, uma vez que não há necessidade de lavagem do homogeneizador no intervalo entre as extrações e a possibilidade de realizar a extração a campo (Anastassiades *et al.,* 2003).

O efeito *salting out,* promovido através da adição de sais, tem como objetivo melhorar os percentuais de recuperação de analitos polares, já que a adição de sais diminui a solubilidade dos compostos polares na fase aquosa, bem como a quantidade de água na fase orgânica e vice-versa (Prestes *et al*., 2009). No método original, são utilizados 4 g de $MgSO_4$ e 1 g NaCl. Cabe ressaltar que o $MgSO_4$ possui um maior poder de hidratação quando comparado com os demais sais testados (Na_2SO_4 e $NaNO_3$, por exemplo) e além disso, a hidratação do $MgSO_4$ é uma reação exotérmica, apresentando um aquecimento entre 40 – 45°C da amostra durante as etapas de extração e partição, favorecendo a extração de compostos apolares (Anastassiades *et al*., 2003).

A etapa de limpeza é essencial, uma vez que ela remove coextrativos presentes na matriz que podem interferir posteriormente nas análises. No método QuEChERS original a etapa de limpeza é realizada empregando a SPE dispersiva. Esse procedimento consiste na adição de uma alíquota de 1 mL do extrato a 25 mg de sorvente, seguida de agitação a fim de favorecer a distribuição do sorvente, facilitando

o processo de limpeza. O sorvente é separado por centrifugação e uma alíquota do extrato limpo é injetada no sistema cromatográfico (Cabrera *et al*., 2012).

O método QuEChERS tem passado por várias modificações, desde o seu desenvolvimento em 2003, para a determinação de diferentes analitos em diversas matrizes. A fim de obterem melhores recuperações de analitos sensíveis a variação de pH, foram propostos métodos com a adição de tampões. No método QuEChERS acetato, a adição de acetato de sódio e ácido acético tamponam o meio em um pH de 4,8, tendo sido adotado pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) como método oficial para determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos (Lehotay *et al.*, 2007). No método QuEChERS citrato, proposto por Anastassiades *et al.* (2007), a adição de sais citrato, promovem o tamponamento em um pH entre 5 e 5,5. Esse método foi adotado como referência pelo *Comité Européen de Normalisation* (CEN). A Figura 2 representa as etapas dos métodos QuEChERS original, acetato e citrato.

Cabe ressaltar que modificações na etapa de limpeza também têm sido propostas, através do emprego de diversos sorventes, assim como diferentes combinações. No método original, o sorvente utilizado é o PSA, que atua na retenção de ácidos graxos livres e de outros compostos polares presentes na matriz, devido ao seu elevado efeito quelante proporcionado pelos grupos amino primário e secundário presentes na estrutura (Prestes *et al*., 2009; 2011).

O uso de C_{18} como sorvente também tem sido relatado na literatura por promover a remoção de compostos apolares, tais como compostos ácidos graxos e lipídeos (Lehotay *et al*., 2007).

O emprego de carvão ativado na redução de pigmentos nos extratos provenientes de amostras de vegetais foi outro avanço na etapa de limpeza (Anastassiades *et al.,* 2003; Prestes *et al.*, 2009). Tal sorvente possui uma grande área superficial e contém grupos altamente polares na superfície, com elevado potencial para formação de ligações de hidrogênio, conduzindo a forte retenção de analitos planares que contenham um ou mais grupos ativos em sua estrutura (Anastassiades *et al*., 2003).

Além dos sorventes citados, outros materiais têm sido utilizados na etapa de limpeza, como por exemplo, alumina, terra diatomácea e quitosana (Cabrera, 2012). No Anexo I constam a caracterização dos sorventes PSA, C_{18} e quitina.

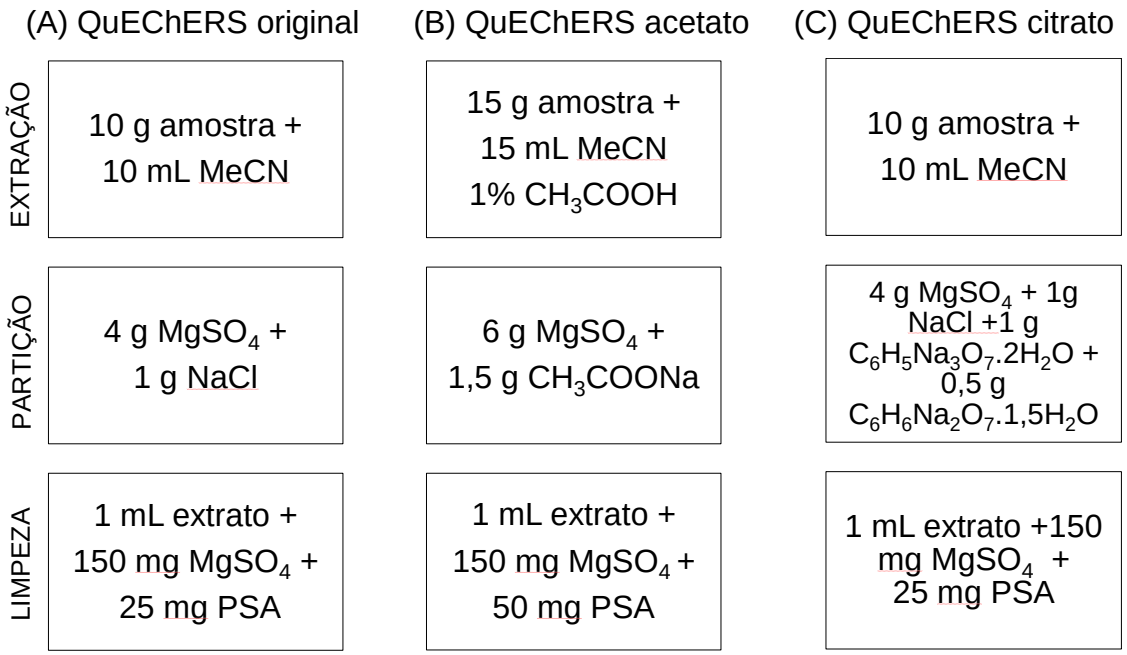


Figura 2. Fluxogramas dos métodos QuEChERS (A) original, (B) acetato e (C) citrato

Não foram relatados na literatura estudos empregando o método QuEChERS para extração de compostos orgânicos em lodo. Na Tabela 2, constam alguns trabalhos que utilizaram QuEChERS para extração de contaminantes em solos. Em destaque os analitos determinados no trabalho proposto.

Tabela 2. Trabalhos que determinaram agrotóxicos e fármacos em solo empregando QuEChERS

Matriz	Procedimento	Analitos	LOQ ($\mu g\ kg^{-1}$)	R(%)	Determinação	Referência
Solo	10 g solo + 10 mL MeCN (1% CH_3COOH) – agit. manual 20s + 1 min vórtex – 4 g $MgSO_4$ + 1 g NaCl - agit. manual 20s + 1 min vórtex – centrif. 5 min 5000 rpm	Multiclasses (tebuconazol e clomazona)	50 10	70 – 81 70 - 106	LC-MS/MS	Caldas *et al*., 2011
Solo	1 g solo + 0,5 mL água – repouso 20 min – 4 mL MeCN – agit vigorosa 2 min – 0,1 g $MgSO_4$ – agit. 20 s – 0,1 g PSA + 0,1 g C_{18} – agit. 2 min – centrif. 10000 rpm por 3 min – extrato filtrado	5 Herbicidas (atrazina)	0,02	86 - 91	UPLC-MS/MS	Mei *et al.*, 2011
Solo	5 g solo + 3 mL água (pH 2,5 ajust. com HCl) – 4 g $MgSO_4$ + 1g NaCl + 1 g Na_2Cit – agit. Vórtex 4 min - banho ultrassom 4 min – 7 mL MeCN (1% CH_3COOH) - agit. Vórtex 4 min - banho ultrassom 4 min – centrif. 4000 rpm por 10 min – 5 mL extrato evaporado N_2 e redissolv. 500 µL MeCN – extrato filtrado (filtro 0,20 um)	Ibuprofeno e metabólitos	14	75 -98	LC-FLD	Bragança *et al*., 2012
Sedimento	4 g solo + 8 mL água – agit. manual e 1h em repouso – 10 mL MeCN (1% NH_3) + 2 g ($MgSO_4$ + NaCl) – agitação mecânica horizontal a 250 rpm por 10 min – centrif. 2500 rpm por 10 min – extrato transferido + 2 g $MgSO_4$ - centrif. 2500 rpm por 10 min – extrato evaporado com N_2 a 32°C e redissolv. 1 mL MeOH:H_2O (1:1, v/v)	Multiclasses (clomazona)	1	81	LC-MS/MS	Kvícalová *et al.,* 2012
Solo	5 g solo + 10 mL água + 15 mL MeCN – agit. Vórtex – 1,5 g CH_3COONa + 6 g of $MgSO_4$ – agit. manual 30 s + 30 s em vortex – agit. Homegenizador por 30 min a 750 rpm – centrif. 5000 rpm por 2 min – 10 mL extrato foi evaporado com N_2 a 40°C e redissolv em 10 mL (97/3 ácido cítrico (0,04 mol L^{-1}/ MeOH pH = 2,5) – percolado em um cartucho Strata X – ao final da etapa de SPE o resíduo foi redissolv. em 200 µL de 95/5 H_2O/MeOH e misturado por 2 min	Esteroides e fármacos veterinários e humanos (ibuprofeno e bisfenol A)	0,1 0,9	35 – 71 47 – 82	LC-MS/MS	Salvia *et al,* 2012

3.4 Técnicas de separação e determinação

As técnicas de separação de agrotóxicos, fármacos e PCP em matrizes ambientais incluem a cromatografia gasosa (GC) e a cromatografia líquida (LC), sendo a detecção por espectrometria de massas (MS) a mais utilizada. No entanto, devido à baixa volatilidade de alguns analitos, como por exemplo, fámacos polares, a análise por GC-MS requer uma etapa prévia de derivatização, que faz com que o preparo da amostra seja mais trabalhoso e demorado, além disso, tal etapa aumenta a possibilidade de contaminação e de erros (Petrovic *et al*. 2003). Nesse sentido, a LC-MS e LC-MS/MS são as técnicas mais empregadas para determinação de resíduos de agrotóxicos, fármacos e PCP em amostras ambientais.

A espectrometria de massas é uma técnica poderosa de detecção para a cromatografia, já que o espectrômetro é sensível a pequenas quantidades do analito, fornece informações qualitativas e quantitativas sobre os compostos que são eluídos a partir de uma coluna, podendo também, distinguir compostos diferentes que apresentam o mesmo tempo de retenção (Harris, 2003).

O espectrômetro de massas é um instrumento sofisticado constituído de três partes: fonte de ionização, também denominada interface, analisador de massas e detector de íons, sendo que, após a injeção da amostra no MS, ocorre a produção de íons pela fonte de ionização (Collins *et al*., 2006). Dentre as fontes de ionização desenvolvidas, as mais empregadas são a ionização por eletrospray (ESI) e ionização química à pressão atmosférica (APCI) (Chiaradia *et al*., 2008).

A ESI é a técnica de ionização mais empregada para a análise de agrotóxicos, fármacos e PCP em matrizes ambientais, conforme se pode observar na Tabela 1. Na ESI, o analito dissolvido na fase móvel, passa através de um capilar, à pressão atmosférica, mantido sob alta voltagem. Na saída do capilar são formadas pequenas gotas altamente carregadas (“spray”) que são dessolvatadas ao se deslocarem em sentido contrário ao posicionamento de um eletrodo em uma região de pressão atmosférica. A dessolvatação é assistida por um fluxo contínuo de gás seco (geralmente N_2) na região do “spray”. À medida que ocorre a dessolvatação, o tamanho das gotas é reduzido até o ponto em que a força de repulsão entre as cargas similares fica maior que as forças de coesão da fase líquida (tensão superficial). Neste momento, ocorre a chamada “explosão coulômbica”, que gera gotas com tamanhos equivalentes

a 10% do tamanho das gotas a partir das quais se originaram. Uma série de explosões passa então a ocorrer até que são produzidos íons do analito a partir destas gotas, os quais são transferidos para o interior do MS por uma série de dispositivos de focalização (Ardrey 2003; Chiaradia *et al*., 2008).

Após a etapa de ionização, os íons passam para os analisadores de massa, para a sua determinação através da razão massa/carga. Para algumas matrizes complexas, o acoplamento de dois ou mais analisadores se faz necessário. Os analisadores podem ser do tipo quadrupolo, *íon trap* e tempo de vôo (TOF).

No espectrômetro de massas sequencial (MS/MS), o analisador do tipo triploquadrupolo (QqQ), como o nome já diz possui três quadrupolos, onde o primeiro quadrupolo age como um filtro de massas, selecionando o composto de interesse, o segundo quadrupolo é considerado a célula de colisão, onde o íon é fragmentado através da colisão com um gás inerte, geralmente argônio, hélio ou nitrogênio, e por fim, no terceiro quadrupolo, o íon formado é enviado ao detector (Chiaradia *et al*., 2008). Existem também, os analisadores híbridos resultantes do acoplamento de analisadores diferentes, como por exemplo, o analisador do tipo quadrupolo acoplado a um do tipo *íon trap* linear (QqLIT); e o acoplamento entre o analisador do tipo quadrupolo com de tempo de vôo (Q-TOF).

3.4.1 Efeito matriz em LC-ESI-MS/MS

LC-MS/MS é uma técnica de determinação altamente seletiva, quando selecionado o modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), no qual apenas o sinal de interesse é registrado, excluindo a informação sobre a ocorrência de outros compostos (Vékey, 2001). No entanto, isto não significa que a técnica não esteja sujeita as interferências provenientes da matriz, mesmo que estas nem sempre sejam visíveis nos cromatogramas gerados, a coeluição de componentes da matriz com o composto de interesse pode alterar a eficiência da ionização dos analitos (Hajslová e Zrostlikova, 2003; Cabrera, 2012).

Como comentado anteriormente, o modo de ionização por eletrospray é o mais empregado para determinação de agrotóxicos, fármacos e PCP em matrizes ambientais. Geralmente este modo de ionização apresenta supressão do sinal analítico, sendo que uma das possíveis causas deste efeito é a competição na etapa

de ionização entre os analitos e os interfentes presentes na matriz (Gómez et al., 2006; Buchberger; 2011).

O efeito matriz pode ser avaliado através da comparação entre as inclinações das curvas obtidas preparadas no extrato da matriz e no solvente (Matuzewski, *et al*., 2006; Economou *et al*., 2009) e através da comparação das respostas do padrão do analito no extrato da matriz e no solvente (Matuzewski, *et al*., 2003).

Para minimizar ou compensar o efeito matriz, alguns procedimentos têm sido adotados, como o uso do método de adição padrão; o uso de padrão interno deuterado (Buchberger, 2011); preparo das soluções analíticas no extrato da matriz (*matrix matched standards*) (Caldas *et al*., 2011) e a diluição do extrato da matriz (*"dilute-and-shoot"*) (Stahnke *et al*., 2012).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento experimental desse trabalho consistiu na otimização e validação de um método para determinação simultânea de agrotóxicos, fármacos e produtos de cuidado pessoal em lodo proveniente de Estação de Tratamento de Água.

Para o preparo de amostra foi utilizado o método QuEChERS proposto por Caldas *et al.* (2011) o qual foi otimizado, a fim de obterem melhores resultados. Além disso, foram otimizados os parâmetros de fragmentação dos compostos para a determinação por LC-ESI-MS/MS.

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

4.1 Seleção dos analitos para o estudo

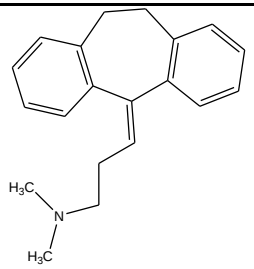
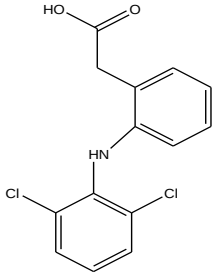
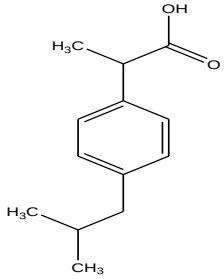
A escolha dos agrotóxicos foi baseada em um estudo anterior realizado por Demoliner *et al.* (2010). O fungicida tebuconazol e o herbicida atrazina, por exemplo, foram detectados na água bruta e na de abastecimento, e verificou-se que houve uma redução desses compostos após o tratamento. No entanto, o valor de Kow (Tabela 3) desses compostos indica que eles apresentam tendência de se particionar no sedimento, fato que pode explicar a redução no tratamento, provavelmente na etapa de floculação. O mesmo foi observado para o herbicida clomazona.

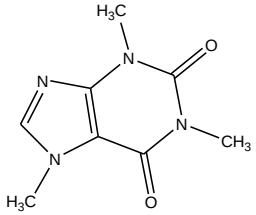
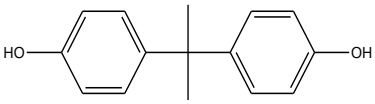
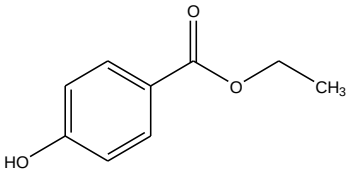
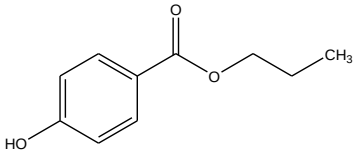
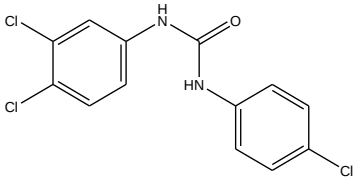
Os fármacos foram selecionados levando em consideração uma pesquisa realizada sobre os principais fármacos utilizados em Rio Grande (Silveira, 2012), além da presença dos mesmos, na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), o que indica que fazem parte da Farmácia Popular, ou seja, medicamentos que são facilmente disponibilizados para a população para o tratamento das doenças mais comuns, sendo alguns deles distribuídos gratuitamente ou com até 90% de desconto, conforme o Ministério da Saúde (Portal da Saúde, 2012). A cafeína foi selecionada nesse estudo por ser considerada um indicador de contaminação por esgoto doméstico.

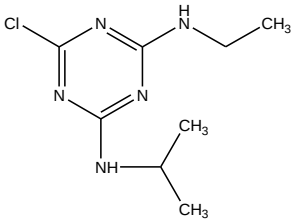
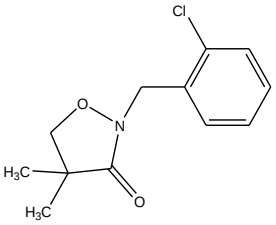
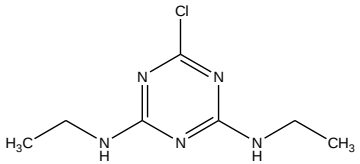
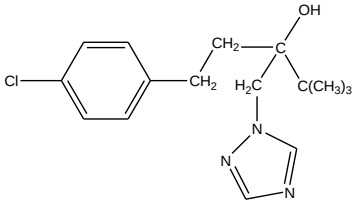
Em relação aos PCP, foram selecionados dois parabenos (metil e propilparabeno) por serem amplamente utilizados como conservantes em fármacos, cosméticos e alimentos, além de possuírem baixa solubilidade em água. O antisséptico triclocarban presente em sabonetes e produtos de limpeza e o bisfenol A, um plastificante utilizado na fabricação de plásticos do tipo policarbonato e em resinas epóxi também foram selecionados nesse estudo.

A Tabela 3 apresenta os analitos selecionados para o estudo bem como suas propriedades físico-químicas. Como se pode observar, a maioria dos analitos selecionados são hidrofóbicos ou moderadamente hidrofóbicos (log K_{ow} 2 – 5), desse modo, existe uma afinidade entre esses compostos e os tecidos adiposos encontrados em espécies animais. Além disso, compostos como bisfenol A e atrazina são considerados disruptores endócrinos, isto é, são capazes de interferir no funcionamento natural do sistema endócrino causando câncer, prejudicando os sistemas reprodutivos (por exemplo, reduzindo a produção de espermatozoides) e causando outros efeitos adversos (Ghiselli e Jardim, 2007).

Tabela 3. Fórmula estrutural e propriedades físico-químicas dos compostos em estudo (Fonte: chemspider)

Analito	**Fórmula Estrutural**	**Massa Molar (g mol^{-1})**	**Classe terapêutica**	**Classe química**	**log k_{ow}**	**log k_{oc}**	**pka**	**Solubilidade em H_2O (mg L^{-1})**
Amitriptilina		277,2	Antidepressivo	Dibenzocicloeptano	4,9	5,7	9,4	9, 7 (a 24 °C)
Diclofenaco		295,0	Anti-inflamatório	Aminobenzoato fenilacetato	4,5	2,9	4,2	2,4 (a 25 °C)
Ibuprofeno		206,1	Anti-inflamatório	fenilacetato	4	2,6	4,9	21

Cafeína		194,2	Estimulante	Xantina	-0,07	1	10,4 (a 40 °C)	21600 (a 25 °C)
Bisfenol A		228,3	Antioxidante na produção de plásticos	Fenol	3,3	4,9	10,2	120 (a 25 °C)
Metilparabeno		152,2	Conservante	Éster do ácido paraidroxibenzoico	2	2,1	8,47	Pouco solúvel
Propilparabeno		180,2	Conservante	Éster do ácido paraidroxibenzoico	2,9	2,6	8,47	Pouco solúvel
Triclocarban		313,0	Antisséptico	Fenil ureia	4,9	3,7	-	0,65 (a 25 °C)

Atrazina		215,7	Herbicida	Triazina	2,6	2,4	1,7	34,7 (a 26 °C)
Clomazona		239,7	Herbicida	isoxazolidinona	2,5	3,7	-	1100 (a 25 °C)
Simazina		201,7	Herbicida	Triazina	2,1	2,2	1,62	6,2 (a 22 °C)
Tebuconazol		307,8	Fungicida	Triazol	3,7	4,3	-	36 a 20 °C)

4.2 Instrumentação

- Balança Analítica de precisão modelo FA 2104N, Bioprecisa (Curitiba, Brasil);
- Bomba à vácuo Tecnal TE-058 (Piracicaba, SP, Brasil);
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável (100 – 1000 µL) Labmate (Varsóvia, Polônia);
- pHmetro Hanna pH20 pH21 – eletrodo de vidro combinado (São Paulo, Brasil);
- Sistema de filtração em membrana Phenomenex (Torrance, CA, USA);
- Sistema de Purificação de água Milli-Q Direct-Q UV3® Millipore (Millipore, Bedford, MA, USA);
- Ultrassom Quimis modelo Q335D (Diadema, SP, Brasil);
- Vórtex modelo Certomat® MV-B. Braun (Bioteck Internacional, Alemmar - Comercial e Industrial S.A.);
- Centrífuga de tubos microprocessada modelo Quimis® Q222T (QUIMIS aparelhos científicos);
- Cromatógrafo a líquido Alliance Separations Module 2695 (Waters, EUA) equipado com: Amostrador automático, bomba quaternária, forno para coluna e sistema de desgaseificação. Detector MS, Micromass® Quatro Micro™ API (Waters, Inglaterra) com fonte API, com ionização por Eletrospray; sistema de aquisição de dados através do *software* MassLynx e QuanLynx 4.0 (Waters, Inglaterra). Sistema gerador de nitrogênio Peak Scientifics (Instruments Ltda., Escócia).;
- Coluna analítica XTerra® MS C18 3,5 µm 144 Å (50 × 3 mm d.i.) (Waters, Milford, MA, USA);

4.3 Reagentes, solventes e materiais

- Acetato de sódio anidro (CH_3COONa) 99,5% (JT Baker, Mallinckrodt, NJ, USA);
- Acetonitrila (MeCN), grau HPLC (J.T Baker, Mallinckrodt, NJ, USA);
- Ácido acético (CH_3COOH) glacial 96% (Merck, RJ, Brasil);
- Água destilada;
- Água Ultrapura, purificada em sistema Direct-Q UV3® Millipore (resistividade 18,2 MΩ cm^{-1});
- Carvão ativado puro em pó (Hannover, Alemanha);

- Citrato de sódio diidratado ($C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$) (Sigma-Aldrich, USA);
- Citrato dissódico hidrogenado ($C_6H_6Na_2O_7.1,5H_2O$) (Sigma-Aldrich, USA);
- Cloreto de sódio (NaCl) p.a. (Merck, RJ, Brasil);
- Detergente Extran® neutro (Merck, Brasil);
- Dispenser Boeco 10 - 50 mL;
- Frascos de vidro (*vial*), capacidade de 2,0 mL;
- Padrões analíticos: atrazina 97,4%, simazina 99,9%, clomazona 97,4%, tebuconazol 99,6% e bisfenol A 99% (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil); amitriptilina 99%, cafeína, diclofenaco, metilparabeno, propilparabeno todos com 99% de pureza (Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro-RJ, Brazil); ibuprofeno e triclocarban ambos com pureza de 99% (Dr. Ehrenstofer GmbH, Ausgsbug, Germany);
- Quitina (produzida e caracterizada no Laboratório de Operações Unitárias da Escola de Química e Alimentos da FURG, a partir de resíduos de camarão rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*);
- Sorventes amina primária secundária (PSA) e C18 Bondesil (Varian, USA);
- Sulfato de magnésio ($MgSO_4$) anidro J.T. Baker (Mallinckrodt; USA);
- Tubos de polipropileno, com tampas rosqueáveis, capacidade de 15 e 50 mL de capacidade (Sarstedt, Alemanha);
- Vidrarias em geral (balões volumétricos, pipetas volumétricas, béquer, etc).

4.4 Limpeza da vidraria

Os materiais utilizados nesse estudo (vidraria, tubos de polipropileno, espátulas, frascos de vidro (*vials*, balões volumétricos, etc.) foram lavados, inicialmente com água da torneira e água destilada. Em seguida, o material foi mergulhado em detergente neutro 5% por 24 h e enxaguados com água de torneira, água destilada e rinsados com acetona. Posteriormente, foram secos em estufa a 50 °C, com exceção da vidraria volumétrica, e armazenados em ambiente livre de poeira.

4.5 Preparo das soluções analíticas

As soluções estoque contendo 1000 mg L^{-1} de cada agrotóxico (simazina, atrazina, clomazona e tebuconazol) foram preparadas pela dissolução dos padrões

sólidos em metanol, considerando o grau de pureza. As soluções foram armazenadas em frasco âmbar e estocadas a -18 ºC. Para o preparo das soluções estoque dos fármacos e produtos de cuidado pessoal (amitriptilina, cafeína, diclofenaco, ibuprofeno e triclocarban) foram seguidas as recomendações da Farmacopeia Brasileira (2010). A partir das soluções estoque de 1000 mg L^{-1} foram preparadas soluções intermediárias de concentrações de 100 mg L^{-1} de cada composto em metanol.

Para a otimização e validação do método foi preparada uma solução contendo a mistura dos compostos na concentração de 1000 vezes o valor do limite de quantificação (LOQ) de cada analito. A partir dessa solução, foram preparadas soluções 200 e 40 e vezes o LOQ.

4.6 Otimização do sistema cromatográfico LC-ESI-MS/MS

4.6.1 Preparo e escolha da fase móvel

Os solventes empregados na preparação da fase móvel (metanol, acetonitrila e água purificada) foram filtrados à vácuo, através de membranas de nylon (0,45 µm) e desgaseificados em banho de ultrassom durante 30 min, à temperatura ambiente.

Foram testadas diferentes composições de fase móvel:

- Metanol : água purificada acidificada com 0,1% ácido acético;
- Acetonitrila : água purificada ambas acidificadas com 0,1% ácido acético.

Além disso, diferentes gradientes de eluição foram avaliados durante o desenvolvimento da separação cromatográfica.

4.6.2 Condições do sistema de detecção

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

Uma vez definida essas condições, foram selecionados os íons a serem monitorados para a quantificação e identificação dos compostos.

4.7 Coleta das amostras

Para a otimização e validação do método, amostras de lodo foram coletadas no decantador da Estação de Tratamento de Água da CORSAN, no município de Rio Grande, no dia de limpeza. A amostragem foi realizada utilizando uma caneca de inox, conforme as recomendações da ABNT NBR 10007/2004 (ABNT, 2004b). As amostras foram armazenadas em bandejas de alumínio, acondicionado em caixa de isopor e transportada para o laboratório. As amostras foram congeladas por 24 h. Depois de retiradas do freezer e deixadas em repouso para a separação das fases, a água foi removida e o lodo centrifugado por 5 min a 5000 rpm.

4.7.1 Local de amostragem

A água que abastece a ETA de Rio Grande é captada do Canal São Gonçalo, o qual faz a ligação entre a Lagoa Mirim e a Lagoa dos Patos. A captação é feita através de um canal artificial, escavado perpendicularmente ao canal São Gonçalo, que conduz a água superficial até a ETA. Na Figura 3, observa-se que próximo ao Canal São Gonçalo e ao canal adutor existe uma região de intensa atividade agrícola, sendo o cultivo de arroz irrigado a principal atividade.

Figura 3. Localização da área de estudo (Fonte: Google Earth)

4.7.2 Aplicabilidade

Após a validação do método, o mesmo foi aplicado em amostras de lodo coletadas no período de Abril a Dezembro de 2012, conforme Tabela 4.

Na Estação de Tratamento de Água da CORSAN, existem quatro decantadores onde são gerados em média 1500 a 2000 m^3 de lodo por mês. A limpeza de três dos quatro decantadores é realizada mensalmente e o decantador 3 é limpo a cada três meses, dependendo do volume de lodo gerado.

A Figura 4 ilustra a coleta do lodo no decantador e o lodo após a centrifugação.

Tabela 4. Cronograma das coletas

Coleta	Local	Coleta	Local
30 abril 2012	Decantador 1	11 setembro 2012	Decantador 4
01 junho 2012	Decantador 2	20 novembro 2012	Decantador 3
27 junho 2012	Decantador 4	19 dezembro 2012	Leito de secagem
01 agosto 2012	Decantador 1		

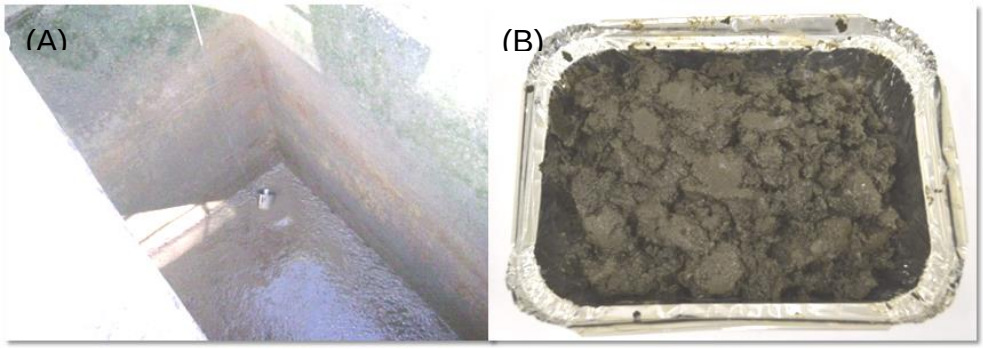


Figura 4. (A) Coleta do lodo (B) Lodo centrifugado

4.8 Controle de qualidade nas determinações

Para assegurar a qualidade dos resultados, alguns critérios foram aplicados durante a realização das análises. Foram realizadas, diariamente, análises “branco” das amostras e da vidraria, antes das análises, para verificar e eliminar falsos positivos por contaminação no processo de extração, instrumento, materiais ou reagentes utilizados durante todo o processo. Também foram realizadas injeções de uma solução

da mistura dos padrões, fortificadas na concentração de 1 mg kg^{-1} e as curvas analíticas foram preparadas diariamente para verificar a sensibilidade e linearidade na faixa de trabalho das concentrações. Assim, os erros de quantificação causados por efeitos matriz, além de possíveis flutuações instrumentais puderam ser evitados.

4.9 Otimização do preparo da amostra por QuEChERS

Primeiramente foi aplicado o método proposto por Caldas *et al*. (2011) para a extração de agrotóxicos em amostras de solo. Foi realizada a comparação entre o método Caldas *et al.* e os métodos acetato (Lehotay *et al*., 2005) e citrato (Anastassíades *et al*., 2007). Estes dois últimos são métodos adotados para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos, como referência pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) e pela *European Committee for Standarisation* UE, respectivamente. Em todos os ensaios, as amostras foram fortificadas em um nível de concentração de 1 mg kg^{-1}.

4.9.1 Método QuEChERS proposto por Caldas *et al.* (2011)

Para o estudo do método QuEChERS proposto por Caldas *et al.* (2011) pesaram-se 10,0 g de amostra diretamente em um tubo de polipropileno (com capacidade de 50 mL); adicionaram-se 10 mL de MeCN como solvente extrator e 100 µL de CH_3COOH; agitou-se, manualmente, por 15 s e em agitador mecânico (vórtex) por 1 min; adicionaram-se 4,0 g de $MgSO_4$ para induzir a separação das fases (orgânica e aquosa); adicionou-se 1,0 g de NaCl para promover o efeito "*salting out*" dos analitos; repetiu-se a etapa de agitação manual e em vórtex e por fim, centrifugou-se a 5000 rpm, durante 5 min. Uma alíquota de 10 µL do extrato foi injetado no LC-ESI-MS/MS.

O efeito "*salting out*" tem como objetivo favorecer a partição dos analitos polares para a fase orgânica através da adição de sais, diminuindo a sua solubilidade na fase aquosa, bem como a quantidade de água na fase orgânica (Prestes *et al.* 2009).

4.9.2 Método QuEChERS acetato

O método QuEChERS acetato tem por finalidade o tamponamento do meio (pH 4,8) utilizando ácido acético e acetato de sódio.

Pesaram-se 15,0 g de amostra diretamente em um tubo de polipropileno (com capacidade de 50 mL); adicionaram-se 15 mL de MeCN acidificada com 1% de CH_3COOH (v/v) para a extração; agitou-se, manualmente, por 1 min; adicionou-se 6,0 g de sulfato de magnésio anidro ($MgSO_4$) e 1,5 g de acetato de sódio anidro (CH_3COONa); repetiu-se a etapa de agitação manual e por fim, centrifugou-se a 5000 rpm durante 1 min.

Após, 1 mL do sobrenadante foi transferido para outro tubo de polipropileno (capacidade de 15 mL), contendo 150 mg de $MgSO_4$ e 50 mg de PSA, em seguida o tubo foi agitado novamente por 20 s, manualmente, e centrifugado a 5000 rpm durante 5 min. Uma alíquota de 10 µL do sobrenadante “limpo” foi injetada no sistema cromatográfico.

4.9.3 Método QuEChERS citrato

O método QuEChERS citrato tem por finalidade o tamponamento do meio (pH entre 5,0 e 5,5) utilizando sais citrato.

Pesaram-se 10,0 g de amostra diretamente em um tubo de polipropileno (com capacidade de 50 mL); adicionaram-se 10 mL de MeCN para a extração; agitou-se, manualmente, por 20 s e em agitador mecânico (vórtex) por 1 min; adicionaram-se 4,0 g de $MgSO_4$ e 1,0 g de sal NaCl; adicionou-se 1,0 g de $C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$ e 0,5 g de $C_6H_6Na_2O_7.1,5H_2O$; repetiu-se a etapa de agitação manual e em vórtex e por fim, centrifugou-se a 4000 rpm durante 2 min. Posteriormente, 1 mL do sobrenadante foi transferido para outro tubo de polipropileno (capacidade de 15 mL), contendo 150 mg de $MgSO_4$ e 25 mg de PSA, que foi agitado por 20 s, manualmente, e centrifugado a 4000 rpm, durante 2 min. Uma alíquota de 10 µL do sobrenadante “limpo” foi injetada no sistema cromatográfico.

Após a comparação entre os métodos, foram avaliados alguns parâmetros para a otimização do mesmo: adição de cloreto de sódio e etapa de limpeza.

4.9.4 Influência do NaCl na recuperação dos analitos

Para avaliar a influência da adição de NaCl na recuperação dos analitos, o procedimento foi realizado como descrito no item 4.9.1, primeiramente sem a adição de NaCl e em seguida adicionando-se 2,0 g de NaCl juntamente com 4,0 g de $MgSO_4$.

4.9.5 Etapa de limpeza

Nesse trabalho, foram realizados experimentos com a finalidade de estimar a influência da etapa de limpeza na recuperação dos analitos. Para isso, as amostras foram fortificadas em um nível de concentração correspondente a 5 vezes o LOQ dos compostos.

O procedimento de extração foi realizado conforme descrito no item 4.9.1, porém após a etapa de centrifugação, uma alíquota de 2 mL do extrato foi transferida para outro tubo de polipropileno (capacidade de 15 mL), contendo 150 mg de $MgSO_4$ e 50 mg de sorvente (C_{18}, PSA, C_{18}+PSA, quitina e carvão ativado), em seguida agitado novamente por 1 min em vórtex e centrifugado a 5000 rpm, durante 5 min. Uma alíquota do sobrenadante foi injetada no sistema cromatográfico para análise.

4.9.6 Avaliação da interação dos compostos na fortificação

A fim de garantir a confiabilidade da extração dos compostos, foi avaliado o tempo de interação entre a amostra e a solução padrão contendo os analitos. Foram avaliados os períodos de 30 min, 48 h e 164 dias. Para esses experimentos, realizado em triplicata, 10,0 g de lodo foram pesados um tubo de polipropileno (com capacidade de 50 mL) e fortificados com solução padrão em um nível de concentração de 1 mg kg^{-1} e deixados em repouso. Transcorrido o tempo de avaliação da interação, foi realizado o procedimento de extração conforme o item 4.9.1. As amostras fortificadas que não foram analisadas no período de 30 min, foram armazenadas a 4 °C.

4.10 Validação do método

O método foi validado avaliando as seguintes figuras de mérito: limite de detecção, limite de quantificação, curvas analíticas (calibração externa no solvente, superposição na matriz e curva trabalho), faixa linear, exatidão (recuperação e adição

padrão) e precisão (repetibilidade e precisão intermediária) (INMETRO, 2010). Também foi avaliado o efeito matriz, como sugerido pelo guia de validação para análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos da Comissão Européia (SANCO, 2010) além da eficiência do processo (Matuszewski *et al*., 2003).

4.10.1 Limites de detecção e quantificação

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

Os limites instrumentais foram obtidos através de padronização externa no solvente, pelo preparo de soluções analíticas de diferentes concentrações em acetonitrila. Uma vez estabelecido os limites instrumentais, para a definição dos limites do método, as amostras foram fortificadas nas concentrações equivalentes ao LOQ do instrumento e submetidas ao processo de extração para confirmar experimentalmente estes valores.

O QuEChERS não apresenta fator de pré-concentração, uma vez que a proporção utilizada no preparo de amostra é de 1,0 g de amostra para 1,0 mL de extrato.

4.10.2 Curva analítica, curva trabalho e linearidade

A faixa linear do instrumento foi avaliada utilizando a curva analítica por padronização externa no solvente (acetonitrila) e a faixa linear do método foi avaliada pela construção da curva por superposição na matriz e também pela curva trabalho.

As curvas analíticas foram preparadas, em triplicata, em cinco níveis de concentração, iniciando pelo LOQ de cada analito. Conforme as características de cada analito, as curvas analíticas responderam em diferentes faixas de concentração. Por esse motivo, foi preparada uma solução trabalho contendo a mistura dos 12 compostos em diferentes concentrações para cada um, e através de diluições sucessivas desta solução, foram construídas as curvas analíticas (no solvente, no extrato da matriz e trabalho). Desse modo, as concentrações das soluções analíticas para a construção da curva foram:

- 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 e 20,0 µg L^{-1} para clomazona e tebuconazol;

- 2,5; 5,0; 12,5; 25,0 e 50 µg L^{-1} para atrazina, simazina e triclocarban;

- 5,0; 10,0; 25,0; 50,0 e 100 µg L^{-1} para diclofenaco;

- 7,5; 15,0; 37,5; 75,0 e 150,0 µg L^{-1} para amitriptilina, metilparabeno e propilparabeno;

- 25,0; 50,0; 125,0; 250,0 e 500 µg L^{-1} para cafeína e ibuprofeno;

- 50,0; 100,0; 250,0; 500,0 e 1000,0 µg L^{-1} para bisfenol A.

Para a construção das curvas analíticas por padronização externa, por superposição da matriz e curva trabalho, foram preparados três conjuntos de soluções, onde:

- Conjunto 1:

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

- Conjunto 2:

As soluções foram preparadas a partir de diluições da solução padrão da mistura no extrato da matriz, extraído pelo método QuEChERS selecionado (curva por superposição da matriz);

- Conjunto 3:

As soluções foram obtidas a partir da extração, em triplicata, das amostras de lodo fortificadas com a solução padrão da mistura (curva trabalho).

Comparações das áreas dos picos obtidos pelos conjuntos das soluções 1 e 2 são indicativos de efeito matriz. Comparações das áreas obtidas pelos conjuntos das soluções 1 e 3 são indicativos de um efeito matriz combinado com a potencial recuperação dos analitos (eficiência do processo - EP).

Os dados de regressão linear foram obtidos com auxílio do *software* Masslynx® 4.0 Waters e outros *softwares* apropriados. A partir destes dados foi avaliado o coeficiente de correlação linear (r), a linearidade do instrumento e do método.

4.10.3 Exatidão

Os processos comumente utilizados para avaliar a exatidão de um método analítico podem ser, empregando materiais de referência, comparando-se métodos,

ensaios de recuperação e adição de padrão (Ribani *et al.*, 2004). Neste estudo, foi utilizado o método de ensaio de recuperação (equação 1).

Para avaliar a exatidão foram adicionadas quantidades conhecidas dos analitos nas amostras de lodo em pelo menos três níveis: baixo, médio e alto (INMETRO, 2010). As amostras sem adição de padrão e as amostras fortificadas com o padrão foram injetadas no sistema cromatográfico em triplicata (n=3).

A exatidão do método de extração foi avaliada através da fortificação das amostras de lodo nos níveis 1; 5 e 20 vezes o LOQ de cada analito. Para preparar o nível do LOQ, 10 g da amostra foram fortificadas pipetando 250 µL da solução da mistura dos analitos em uma concentração correspondente a 40 vezes o LOQ; para o nível 5 vezes o LOQ pipetaram-se 250 µL da solução da mistura dos analitos em uma concentração correspondente a 200 LOQ, e para o nível 20 vezes o LOQ, pipetaram-se 200 µL da solução da mistura dos analitos em uma concentração correspondente a 1000 LOQ. Após a adição da solução padrão, as amostras foram agitadas em vórtex por 1 min. Em seguida, 10 mL de MeCN foram adicionados e agitou-se 15 s manualmente e 1 min por vórtex; 4,0 g de $MgSO_4$ e 1,0 g NaCl foram adicionados e mais uma etapa de agitação manual e por vórtex foi realizada. Os tubos foram centrifugados por 5 min a 5000 rpm e uma alíquota de 2 mL do extrato centrifugado foi adicionado a um tudo de polipropileno (15 mL) contendo 150 mg de $MgSO_4$ e 50 mg de quitina, (sorvente que apresentou os melhores resultados durante a otimização do método). O tubo foi agitado, em vórtex, por 1 min e centrifugado por 5 min a 5000 rpm. O extrato “limpo” foi então, injetado no LC-ESI-MS/MS.

A exatidão foi avaliada em termos de recuperação, conforme a equação abaixo:

$$Recuperação\ (\%) = \frac{C_3 - branco}{C_2}\ x\ 100 \quad (1)$$

onde:

C_2 = Média das áreas da amostra fortificada após a extração (pós-fortificação)

C_3 = Média das áreas da amostra fortificada antes da extração (pré-fortificação)

branco = Média das áreas da amostra não fortificada.

4.10.4 Precisão

A precisão do método foi avaliada em função da repetibilidade e da precisão intermediária. Para a repetibilidade, as amostras foram fortificadas em diferentes níveis em triplicata, seguindo todo o procedimento de extração através do método QuEChERS selecionado, e injetadas em triplicata no mesmo dia, pelo mesmo analista e nas mesmas condições cromatográficas. A partir das nove determinações foi calculado o RSD. A precisão intermediária RSD_{pi} foi realizada da mesma forma que a repetibilidade, porém em um intervalo de 4 dias entre as análises. Para os cálculos dos RSD utilizou-se a equação 2, apresentada a seguir:

$$RSD(\%) = \frac{s}{Xm} \times 100 \qquad (2)$$

onde:

s = estimativa do desvio padrão absoluto;

X_m = média de uma série de medidas (replicatas).

4.10.5 Avaliação do efeito matriz

A investigação do efeito matriz deve ser realizada e compensada na validação do método, uma vez que, a exatidão e a precisão das análises podem sofrer influência da matriz, gerando uma avaliação errônea dos resultados.

A avaliação do efeito matriz pode ser realizada por meio de comparações das curvas analíticas por padronização externa no solvente com a sobreposição na matriz (Economou *et al*., 2009; SANCO, 2010). Já Matuszewski *et al.* (2003) avaliam o efeito matriz comparando as áreas obtidas das soluções analíticas no solvente e aquelas obtidas com soluções analíticas preparadas nos extratos das matrizes. Nesse estudo, o efeito matriz foi avaliado das duas maneiras, conforme as equações 3 e 4:

$$Efeito\ Matriz\ (\%) = \frac{inclinação\ (X_1) - inclinação\ (X_2)}{inclinação\ (X_2)}\ x\ 100 \qquad (3)$$

onde:

X_1= inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparada no extrato da matriz;
X_2 = inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparada no solvente (MeCN acidificada com 1% CH_3COOH);

$$Efeito\ Matriz\ (\%) = \frac{C_2 - C_1}{C_1}\ x\ 100 \quad (4)$$

onde:
C_1 = Média das áreas das soluções preparadas através de diluições da solução padrão no solvente (MeCN acidificada com 1% CH_3COOH);
C_2 = Média das áreas obtidas pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparada no extrato da matriz.

Valores superiores a 100% indicam um aumento do sinal analítico, enquanto valores inferiores sugerem uma supressão do sinal. Neste trabalho, foi considerado um efeito matriz baixos valores de até ± 20%, conforme Economou *et al.*(2009).

4.10.6 Eficiência do processo

A eficiência do processo (EP) inclui tanto o efeito matriz como também a recuperação (Matuszewski *et al.* 2003). Ela é avaliada segundo a equação 5:

$$EP\ (\%) = \frac{EM(\%)\ x\ R(\%)}{100} \quad (5)$$

Valores de EP próximos a 100%, geralmente indicam que as recuperações do método estão próximas a 100% e o efeito matriz é baixo. Diferenças entre EP% e recuperação indicam que deve ser utilizada a curva construída no extrato da matriz para a determinação das recuperações, pois o efeito matriz é alto (Kruve *et al.,* 2008).

4.11 Tratamento estatístico dos dados

Para avaliação dos resultados de recuperação durante a otimização do método, foram realizadas análises de variância (ANOVA), com teste de *post-hoc* de Tukey feito com o auxílio do programa Statistica, versão 8.0 - Copyright © 1984-2007 Statsoft Inc.

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Otimização do sistema cromatográfico LC-ESI-MS/MS

5.1.1 Escolha da fase móvel

Para a separação cromatográfica dos 12 analitos (atrazina, simazina, clomazona, tebuconazol, amitriptilina, diclofenaco, ibuprofeno, cafeína, metilparabeno, propilparabeno, triclocarban e bisfenol A) por LC-ESI-MS/MS, foi utilizada uma coluna XTerra® MS C18 (50 x 3 mm, 3,5 µm) e modo de eluição por gradiente.

Primeiramente foram testados metanol e água purificada com 0,1% de ácido acético, no entanto a separação cromatográfica não foi satisfatória (Figura 5), apesar de terem sido avaliados diferentes modos de gradientes.

Os resultados obtidos utilizando como fase móvel acetonitrila e água purificada, ambas acidificadas com 0,1 % de ácido acético, foram bastante satisfatórios, uma vez que houve uma boa separação cromatográfica, conforme se pode observar na Figura 6. Embora a separação cromatográfica completa não seja necessária quando empregado o detector de massas sequencial, ela é importante para assegurar a eficiência da ionização dos compostos, melhorando o sinal do analito e das transições monitoradas no espectrômetro de massas.

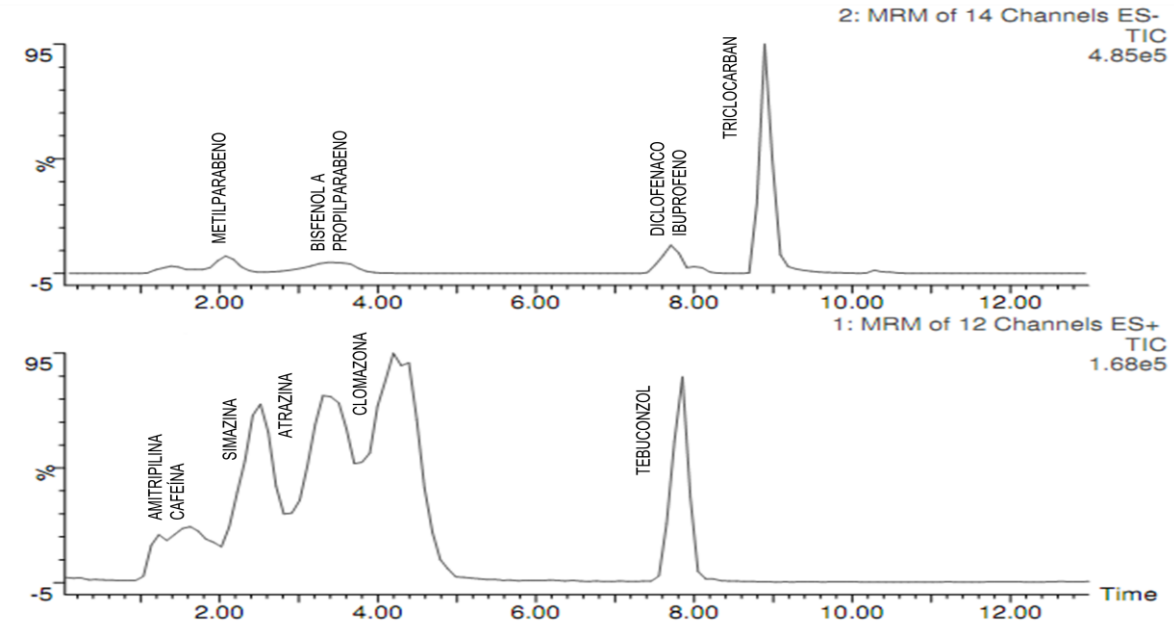


Figura 5. Cromatogramas de íons total nos modos ESI + e ESI- para os compostos em estudo em solvente em uma concentração de 1 mg kg^{-1} (FM: MeOH e H_2O purificada 0,1% CH_3COOH, eluição no modo gradiente, vazão de 0,2 mL min^{-1})

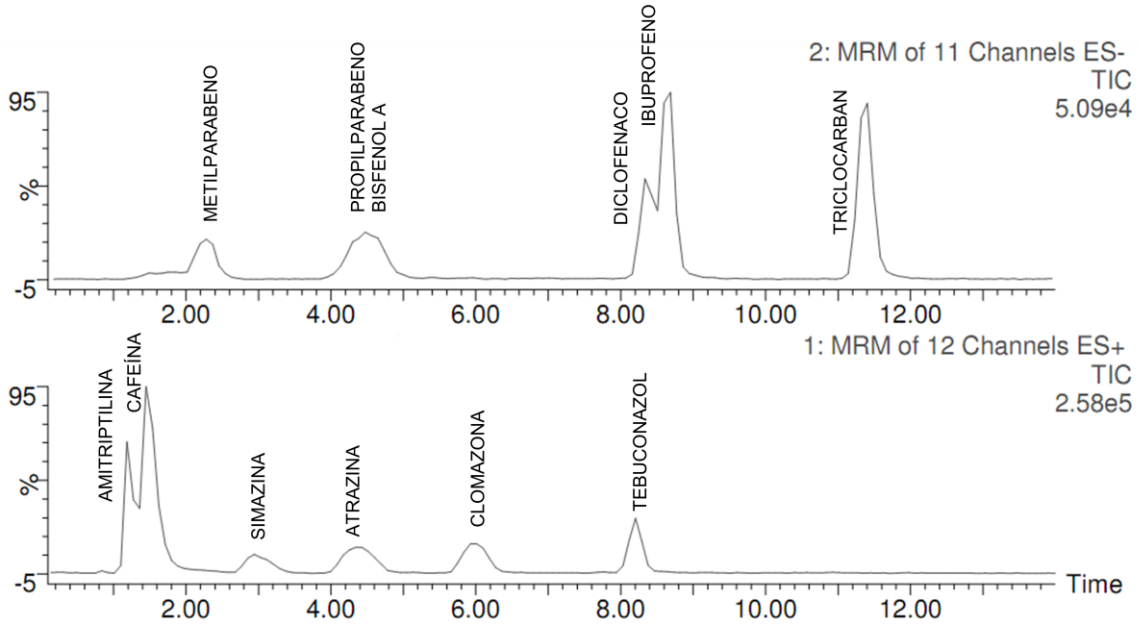


Figura 6. Cromatogramas de íons total nos modos ESI- e ESI+ para os compostos em estudo no extrato na concentração 20 LOQ (FM: MeCN : H_2O ambas acidificadas com 0,1% CH_3COOH, eluição no modo gradiente, vazão de 0,2 mL min^{-1})

De uma forma resumida, as melhores condições empregadas no sistema cromatográfico para a determinação dos analitos em estudos estão na Tabela 5. A Tabela 6 apresenta o programa de gradiente de eluição utilizado.

Tabela 5. Condições cromatográficas otimizadas

Parâmetros	LC-MS/MS
Coluna analítica	XTerra® MS C18 (50 x 3 mm, 3,5 µm)
Fase móvel	Acetonitrila : água purificada (ambas acidificadas com 0,1 % de ácido acético)
Vazão	0,2 mL min^{-1}
Volume de injeção	10 µL
Fonte de ionização	ESI (+) e ESI (-)
Detector	MS/MS

Tabela 6. Programa de gradiente de eluição na vazão de 0,20 mL min^{-1}

Tempo (min)	MeCN (%)	H_2O (%)
0,0	40	60
4,0	65	35
7,0	65	35
8,0	40	60
14,0	40	60

5.1.2 Condições do sistema de detecção

A fonte de ionização à pressão atmosférica (API) com interface por eletrospray (ESI) foi utilizada nesse estudo, já que ela é a mais indicada para compostos neutros ou polares, que podem ser protonados ou desprotonados em condições adequadas de pH (Ardrey, 2003).

De acordo com a Tabela 7, os compostos atrazina, simazina, clomazona, tebuconazol, amitriptilina e cafeína apresentaram sensibilidade para ionização e fragmentação no modo positivo, com a adição de um próton de hidrogênio, proveniente

da fase móvel. Íons heterocíclicos (ou seja, contendo N e O), são comumente protonados (Fernandez-Alba, 2005). Já os demais compostos mostraram ionização mais eficiente no modo negativo, com a retirada de um próton, sendo que para essa remoção, geralmente é necessário haver um grupo ácido funcional, como uma carboxila (Fernandez-Alba, 2005).

Para cada composto foram selecionados dois fragmentos característicos, como apresentado na Tabela 7, vantagem fornecida por um analisador de massas sequencial (MS/MS). O fragmento mais intenso (mais estável) foi escolhido para quantificação do composto e o segundo fragmento mais intenso para confirmação do mesmo. Apenas para o fármaco ibuprofeno obteve-se somente um fragmento estável.

Tabela 7. Parâmetros otimizados para os compostos estudados por LC-ESI-MS/MS (*Dwell time*: 0,2 s)

Analito	Massa Molar (g mol^{-1})	ESI	Transição (*m/z*) Íon precursor → íon produto	Voltagem do cone (V)	Energia de colisão (eV)	t_R (min)
Amitriptilina	277,2	+	278,3 > 233,3*	35	15	1,27
			278,3 > 116,9	35	15	
Cafeína	194,2	+	195,3 > 138*	35	20	1,54
			195,3 > 110	25	20	
Simazina	201,7	+	202 > 132*	35	18	2,94
			202 > 124	35	18	
Atrazina	215,7	+	216 > 174*	33	20	4,34
			216 > 146	35	22	
Clomazona	239,7	+	240,08 > 125*	29	19	6,01
			240,08 > 89,1	29	45	
Tebuconazol	307,8	+	308 > 70*	40	20	8,20
			308 > 125	28	22	
Metilparabeno	152,2	-	151 > 91,6*	35	20	2,28
			151 > 135,9	35	15	
Bisfenol A	228,3	-	227 > 212,2*	43	19	4,39
			227 > 133	43	25	
Propilparabeno	180,2	-	179,1 > 91,8*	30	20	4,47
			179,1 > 137,1	30	15	
Diclofenaco	295,0	-	293,6 > 250,2*	20	10	8,33
			294 > 214	20	25	
Ibuprofeno	206,1	-	205 > 161	20	10	8,69
Triclocarban	313,0	-	313 > 160,1*	30	15	11,49
			315 > 125,7	30	20	

* transição mais intensa utilizada para quantificação

5.2 Otimização do preparo de amostra por QuEChERS

5.2.1 Comparação entre os métodos

Primeiramente foi aplicado o método QuEChERS proposto por Caldas *et al.* (2011) conforme procedimento descrito no item 4.9.1. Esse método foi desenvolvido para a extração de cinco agrotóxicos de diferentes classes em solo de arroz irrigado. As amostras foram fortificadas em um nível de concentração de 1 mg kg^{-1}. As recuperações variaram entre 50 a 98% com RSD < 5%.

Apesar do QuEChERS proposto por Caldas *et al.*(2011) ter apresentado resultados satisfatórios, optou-se em compará-lo com os métodos acetato e citrato, uma vez que são métodos utilizados como referência pela AOAC e pela comunidade europeia, respectivamente. Os valores de recuperação e RSD são apresentados na Figura 7. As recuperações obtidas empregando o método QuEChERS acetato foram de 18 a 72% com RSD < 13%, já para o QuEChERS citrato, as recuperações encontraram-se na faixa de 16 a 103% com RSD < 5%.

O composto bisfenol A não foi extraído quando o método QuEChERS citrato foi utilizado. Os métodos acetato e citrato tamponam o pH do meio em 4,8 e entre 5 - 5,5 respectivamente. O pH do extrato obtido no QuEChERS proposto por Caldas *et al*., foi entre 3 e 4. Possivelmente a variação do pH pode ter favorecido a formação de complexos entre o bisfenol A e a matéria orgânica dissolvida (DOM), já que havia água no lodo analisado. No estudo realizado por Zhu *et al.* (2012) foi observada a diminuição da recuperação desse composto em presença de DOM devido a formação de complexos.

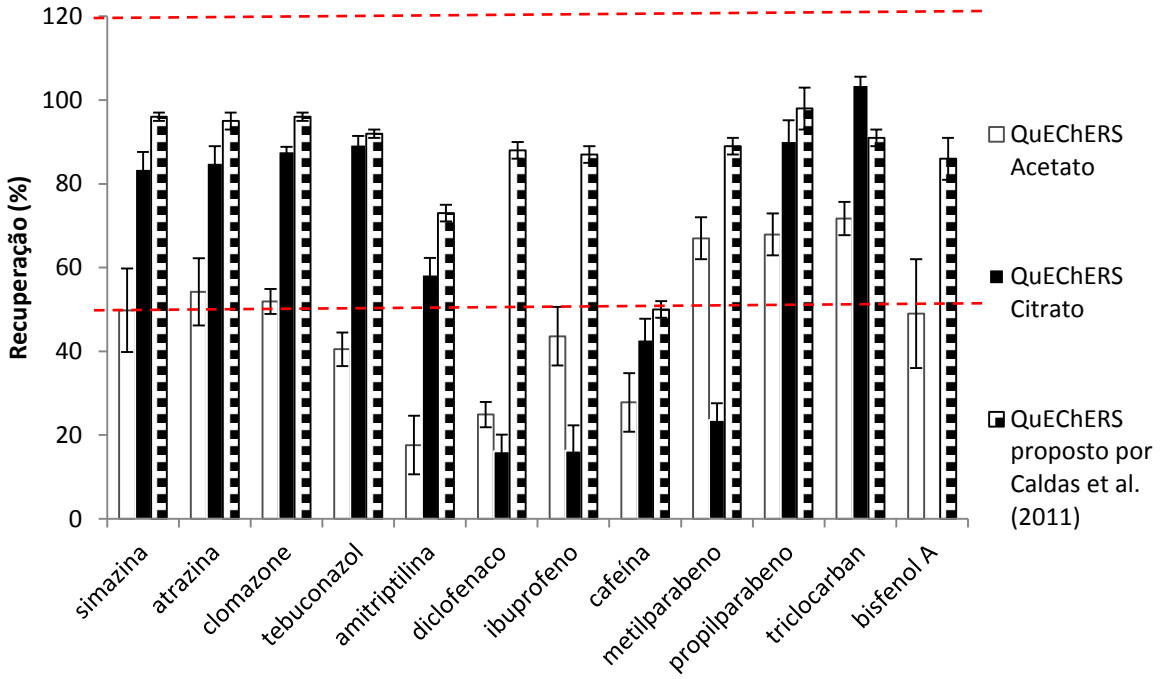


Figura 7. Recuperação dos analitos empregando QuEChERS acetato, citrato e Caldas. As barras de erro indicam RSD (%) (n=9)

Dentre os três métodos avaliados, o QuEChERS proposto por Caldas *et al*. (2011) foi escolhido para os testes posteriores, já que o mesmo apresentou recuperações entre 50 – 98% com RSD ≤ 5%, valores esses aceitos pela literatura para análises de traços em amostras complexas (Ribani *et al.*, 2004).

5.2.2 Influência do NaCl na recuperação dos analitos

A adição de sais na etapa de partição favorece a transferência de compostos polares para a fase orgânica, aumentando a recuperação desses analitos, uma vez que a adição de sais diminui a solubilidade destes compostos na fase aquosa, bem como a quantidade de água na fase orgânica e vice-versa (Prestes *et al.* 2009). O uso de $MgSO_4$ reduz o volume de fase aquosa, além disso, sua hidratação é uma reação exotérmica, tendo como resultado o aquecimento entre 40 e 45 °C da amostra durante

as etapas de extração/partição, favorecendo a extração, especialmente dos compostos apolares (Anastassíades *et al.*, 2003).

Conforme a Figura 8, a adição de 1 g de NaCl aumentou significativamente a recuperação para a maioria dos compostos. As recuperações dos compostos cafeína, metilparabeno e bisfenol A não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) em relação à adição de 1 g de NaCl. No entanto, a adição de 2 g do sal diminuiu a recuperação de alguns analitos (simazina, clomazona, amitriptilina, cafeína e metilparabeno). O composto bisfenol A não foi extraído quando 2 g de NaCl foi utilizado, já para o propilparabeno houve um aumento na recuperação. Os compostos tebuconazol, diclofenaco e ibuprofeno não tiveram suas recuperações influenciadas quando comparadas a adição de 1 e 2 g de NaCl.

Anastassíades *et al*. (2003) relatam que deve haver uma relação estequiométrica entre as quantidades de $MgSO_4$ e NaCl, pois foi observado que um aumento na concentração do NaCl pode acarretar na diminuição na recuperação de compostos polares. Portanto, a combinação 4 g de $MgSO_4$ e 2 g de NaCl não foi adequada para a extração dos analitos. Deste modo, a massa de sal empregada no método permaneceu a mesma sugerida pelo método QuEChERS proposto por Caldas *et al*. (2011), ou seja, 1 g da NaCl.

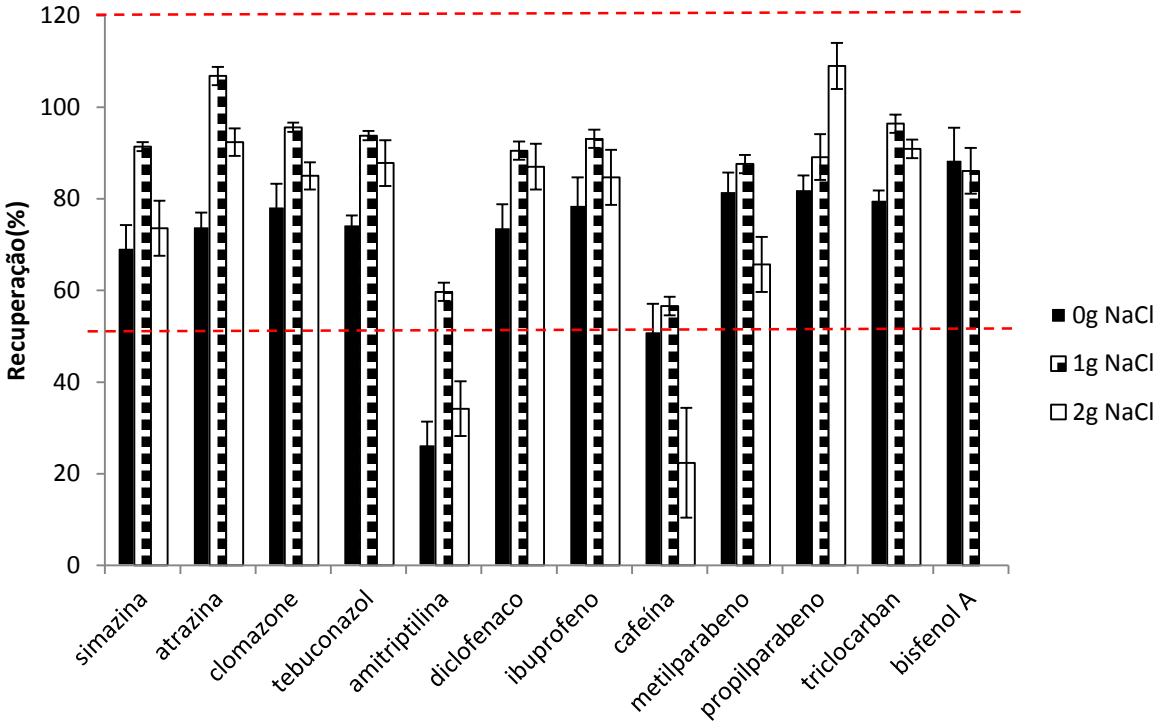


Figura 8. Influência da concentração de NaCl na recuperação dos analitos (n=9)

5.2.3 Avaliação da interação dos compostos na fortificação

No método QuEChERS original desenvolvido por Anastassíades *et al.*, em 2003, para frutas e vegetais, a solução dos agrotóxicos foi adicionada às amostras e após a homogeneização, foi deixada em repouso por 1 min para que ocorresse a interação com a matriz. Já para a determinação de compostos orgânicos em amostras de solos, alguns autores sugerem o tempo de interação na etapa de fortificação das amostras de 24 h, a temperatura ambiente, para a evaporação do solvente (Asensio-Ramos *et al.*, 2011; Caldas *et al.*, 2011), enquanto Rashid *et al.* (2010) deixaram a amostra em repouso por 4 dias para garantir a evaporação do solvente. O tempo de 1 h também foi utilizado em alguns trabalhos (Correia-Sá *et al.*, 2012; Rouvière *et al.*, 2012; Prestes *et al.*, 2012). Outros autores, a fim de obterem amostras semelhantes a solos naturais, após a fortificação, as mesmas foram estocadas por 15 dias a 4 °C (Martín *et al.*, 2010; Pinto *et al.*, 2010; 2011).

O tempo de interação após a etapa de fortificação das amostras de lodo de ETA, que utilizam a extração com líquido pressurizado (PLE) para a extração dos compostos, não foi mencionado.

Conforme a Figura 9, o tempo de interação de 30 min e 48 h após a fortificação das amostras de lodo não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) para todos os compostos. Os compostos clomazona, cafeína e triclocarban mostraram-se bastante estáveis na matriz, uma vez que os mesmos não apresentaram diferença significativa nas recuperações após 164 dias da fortificação. Sendo assim, o tempo de interação dos compostos ficou estabelecido em 30 minutos.

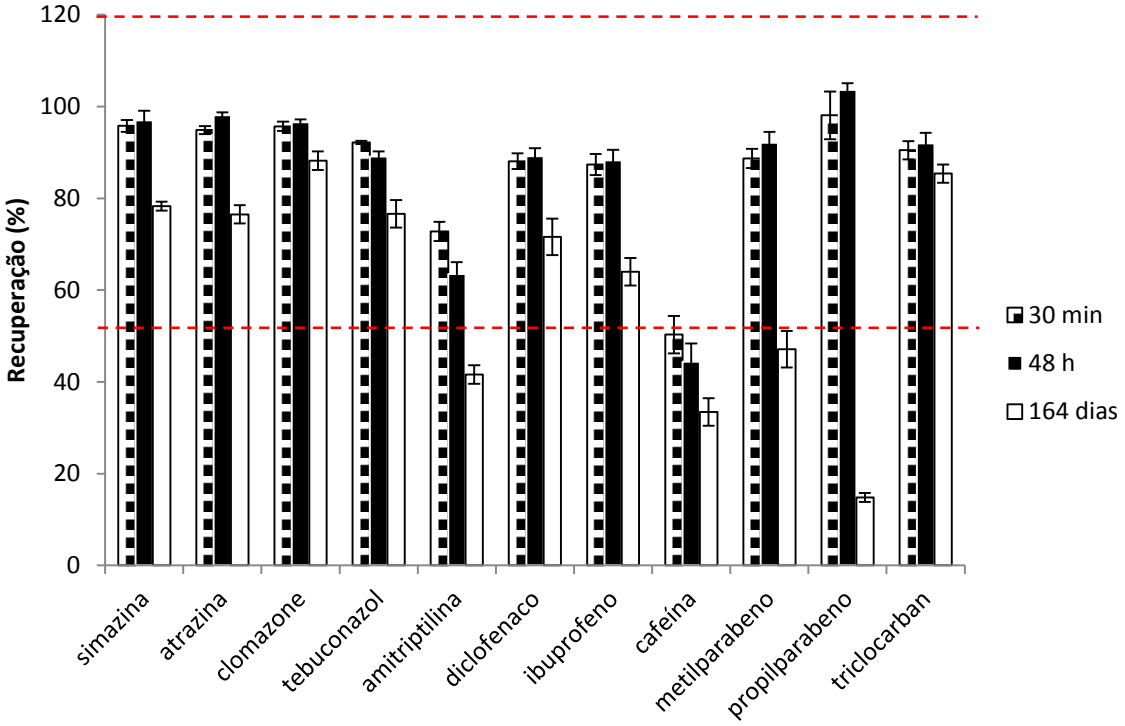


Figura 9. Influência do tempo de interação na recuperação dos analitos. As barras de erro indicam RSD (%) (n=9)

5.2.4 Etapa de limpeza

Para avaliar a influência da etapa de limpeza na recuperação dos analitos, bem como o efeito matriz, foram utilizados diferentes sorventes (C_{18}, PSA, carvão ativado, quitina e C_{18}+PSA). Os resultados de recuperação para os sorventes avaliados são apresentados na Tabela 8. Na Figura 10 pode-se observar a diferença de coloração dos extratos após a limpeza empregando diferentes sorventes.

As recuperações dos compostos variaram de 62 - 100%, 81 - 128%, 70 - 124% e 64 – 99% quando utilizado os sorventes C_{18}, PSA, C_{18}+PSA e quitina, respectivamente.

A recuperação da cafeína apresentou diferença significativa ($p < 0,05$), quando empregados os sorventes C_{18} e PSA, assim como a amitriptilina quando empregada a

mistura C_{18}+PSA e quitina. Metilparabeno e propilparabeno também apresentaram diferença significativa nas recuperações quando empregado C_{18}, PSA e quitina ($p < 0,05$).

O uso de carvão ativado na etapa de limpeza não foi eficiente, uma vez que houve a remoção de alguns analitos. O carvão ativado contém grupos altamente polares na superfície, com alto potencial para formação de ligações de hidrogênio e, devido a essas características, ocorre forte retenção de compostos planares que contenham um ou mais grupos ativos em sua estrutura (Cabrera *et al*., 2012).

Tabela 8. Recuperação (R%) e estimativa do desvio padrão relativo (RSD) para os analitos, empregando diferentes tipos de sorventes na etapa de limpeza

Analitos	**C_{18}**		**PSA**		**C_{18}+PSA**		**Quitina**	
	R (%)	**RSD (%)**	**R (%)**	**RSD(%)**	**R (%)**	**RSD (%)**	**R (%)**	**RSD (%)**
Simazina	90	5	101	6	89	3	94	6
Atrazina	100	2	105	5	97	1	98	5
Clomazona	88	5	98	5	94	4	94	5
Tebuconazol	100	3	109	4	109	8	99	4
Cafeína	62	5	81	5	78	5	64	5
Amitriptilina	78	2	83	4	70	9	94	5
Diclofenaco	91	4	83	4	78	6	82	4
Ibuprofeno	90	4	92	7	88	3	85	4
Metilparabeno	89	6	128	15	124	19	88	7
Propilparabeno	95	4	117	5	109	4	96	7
Triclocarban	94	5	101	5	98	2	86	5
Bisfenol A	86	2	97	5	99	5	91	8

Resultados sublinhados indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

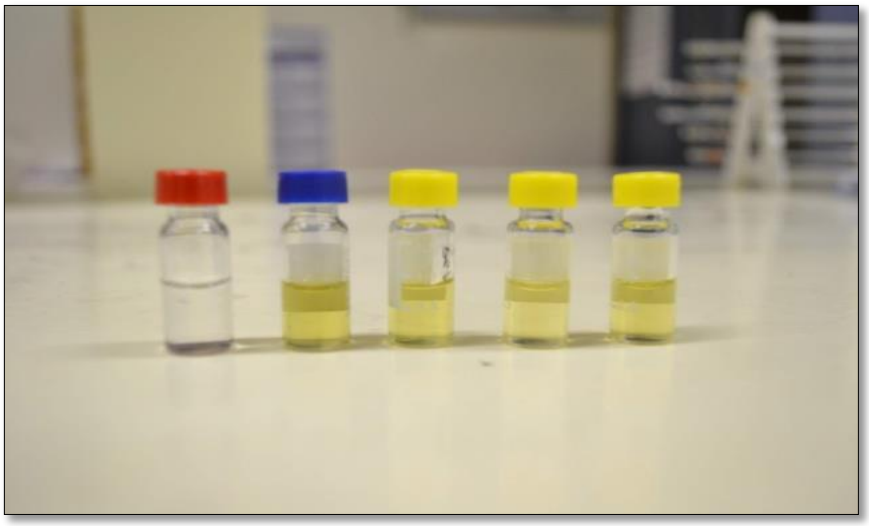


Figura 10. Extratos após a etapa de limpeza
(da esquerda para direita: carvão ativado, quitina, PSA, C_{18}+PSA e C_{18})

Como o emprego da quitina apresentou resultados satisfatórios em relação à recuperação dos analitos e não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) quando comparada com os demais sorventes, exceto para os compostos amitriptilina, metilparabeno e propilparabeno, foi avaliado então o uso da mistura C_{18}+PSA e o uso da quitina, em três níveis de concentração (LOQ, 5 LOQ e 20 LOQ), uma vez que o ponto mais baixo da curva analítica é mais suscetível a erros analíticos. Os experimentos também foram realizados sem a etapa de limpeza.

A mistura C_{18}+PSA é comumente empregada nas etapas de limpeza em QuEChERS (Mei et al., 2011; Correia-Sá *et al*., 2012; Zhan et al., 2012). Quitina é um material alternativo, presente no exoesqueleto de crustáceos, na parede celular de fungos e em outros materiais biológicos. Este biopolímero pode ser empregado como agente floculante em tratamento de efluentes, como adsorvente na clarificação de óleos, bem como na produção de quitosana (Moura *et al*., 2006). Cabrera (2012) obteve resultados satisfatórios de recuperação para a maioria dos agrotóxicos determinados em arroz, empregando quitosana como sorvente na etapa de limpeza.

Na Tabela 9 constam os resultados de recuperação e RSD (%) para os analitos em três níveis de concentração, empregando quitina e C_{18}+PSA. Foi observado que nas concentrações baixas (1 LOQ), a recuperação dos compostos atrazina, clomazona, tebuconazol, amitriptilina, diclofenaco, metilparabeno e triclocarban apresentaram

diferença significativa ($p < 0,05$) e maiores recuperações empregando quitina. Já no nível de concentração correspondente a cinco vezes o LOQ, os compostos clomazona, tebuconazol, diclofenaco, metilparabeno e triclocarban apresentaram diferença significativa em suas recuperações, e em concentrações altas (20 LOQ), somente os compostos simazina e bisfenol A, apresentaram diferença significativa quando comparadas as recuperações.

Considerando que a quitina apresentou as melhores recuperações nos níveis avaliados, a mesma foi escolhida como sorvente na etapa de limpeza do método QuEChERS.

As recuperações para os compostos sem empregar a etapa de limpeza, conforme a Tabela 9, foram bem elevadas para alguns compostos (diclofenaco, ibuprofeno, metilparabeno, e triclocarban), provavelmente devido à presença de interferentes.

Tabela 9. Resultados de recuperação (R%) e estimativa do desvio padrão relativo (RSD%) para os analitos em três níveis de concentração.

Analitos	Quitina						C18+PSA						Sem limpeza					
	1 LOQ		5 LOQ		20 LOQ		1 LOQ		5 LOQ		20 LOQ		1 LOQ		5 LOQ		20 LOQ	
	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)	R (%)	RSD (%)
Simazina	111	11	105	3	99	7	105	15	88	5	66	6	107	14	118	4	120	6
Atrazina	115	7	97	5	96	6	81	9	79	5	99	2	93	7	101	4	103	8
Clomazona	113	8	104	3	100	6	88	10	78	6	98	6	107	7	120	4	120	6
Tebuconazol	111	4	118	3	120	6	72	5	82	11	110	4	120	6	120	4	120	7
Amitriptilina	119	8	81	9	55	13	60	4	55	5	52	9	112	8	129	4	67	8
Diclofenaco	112	12	120	4	109	8	62	8	85	9	103	5	118	10	163	4	157	5
Ibuprofeno	107	5	91	8	87	11	83	5	84	5	100	5	136	4	127	2	126	7
Cafeína	89	12	70	9	52	15	69	7	69	2	67	8	91	12	101	4	34	8
Metilparabeno	120	8	100	13	75	4	61	6	73	10	75	15	104	13	121	11	135	9
Propilparabeno	82	10	92	5	80	8	94	6	95	8	100	3	64	6	78	7	78	11
Triclocarban	118	3	113	6	102	8	72	3	84	8	109	9	136	12	143	7	156	5
Bisfenol A	100	3	77	4	70	14	98	8	92	7	120	7	96	13	100	11	17	9

Resultados sublinhados indicam diferença significativa ($p < 0,05$).

5.2.5 Método QuEChERS otimizado

A partir dos testes realizados e conforme os resultados apresentados, o procedimento de extração mais adequado para a extração e determinação de agrotóxicos, fármacos e PCP em lodo de ETA, está representado na Figura 11.

O método prevê uma etapa de extração com MeCN acidificada com CH_3COOH, seguida da partição dos analitos para fase orgânica através da adição dos sais $MgSO_4$ e NaCl e a limpeza do extrato empregando $MgSO_4$ e quitina.

Esse método proporcionou recuperações entre 52 – 120%, com RSD < 15%.

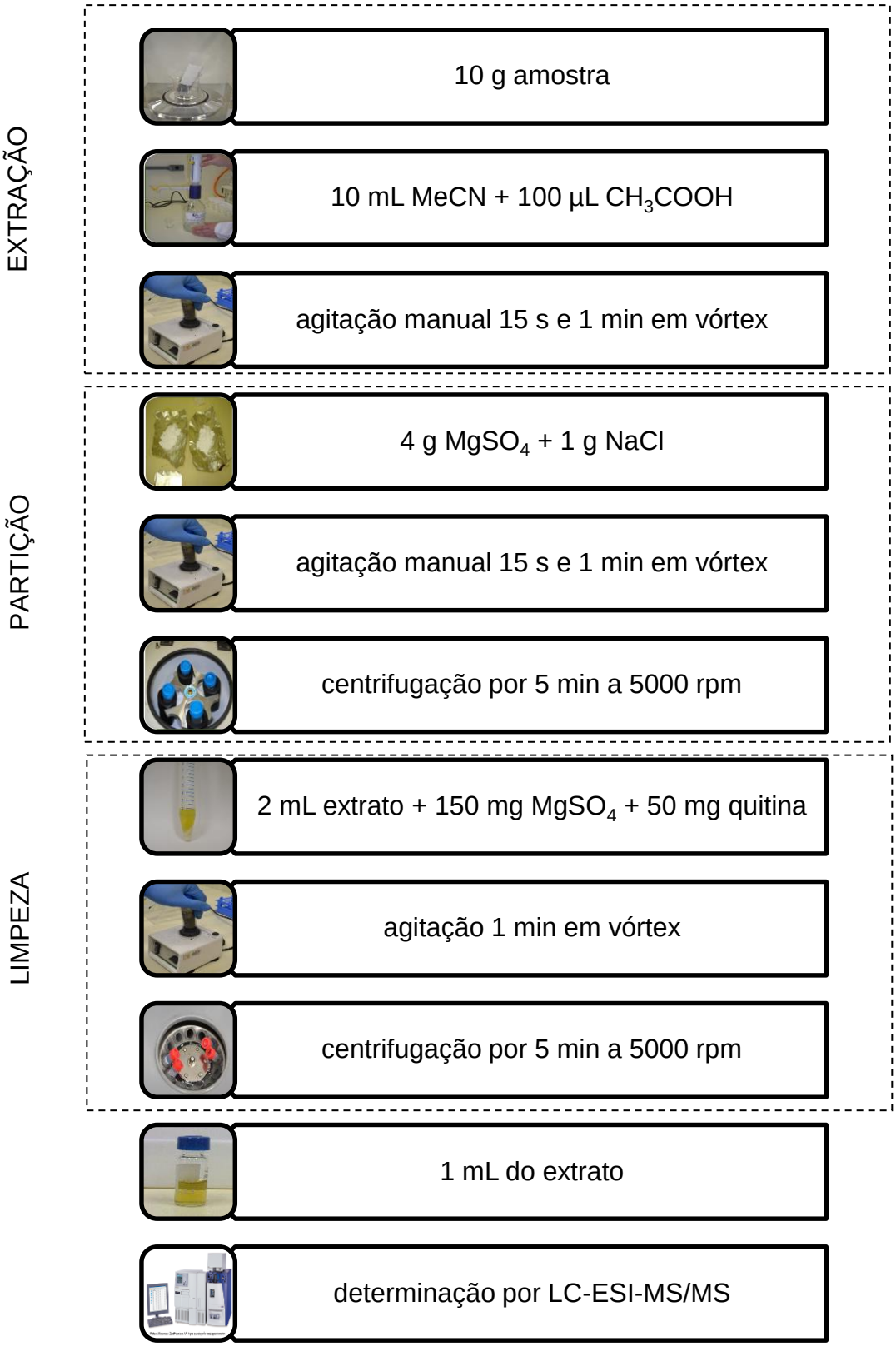


Figura 11. Fluxograma do método QuEChERS otimizado

5.3 Validação do método

5.3.1 Limites de detecção e quantificação

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

O método desenvolvido não apresenta fator de diluição e/ou concentração, entretanto devido às diferenças de sensibilidade de alguns analitos, quando solubilizados na matriz, os LOQ_i e LOQ_m foram diferentes. Isto ocorreu para os compostos simazina, atrazina, amitriptilina, diclofenaco, cafeína, metilparabeno e propilparabeno e bisfenol A.

Como não existem limites na legislação brasileira, para os compostos em estudo, tanto para o lodo de ETA quanto para o lodo de ETE, os LOQ_m foram comparados com os trabalhos que determinaram esses analitos em solos, empregando QuEChERS e LC-MS/MS. Na Tabela 1, constam os LOQ dos métodos desenvolvidos para determinação de agrotóxicos e fármacos em lodo de ETE, empregando PLE e UAE. Os limites para o método proposto ficaram entre 1 e 50 µg kg^{-1}, estando dentro do que vem sendo proposto pela literatura.

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

Analitos	LOD_i	LOQ_i	LOD_m	LOQ_m	LOQ_m propostos na literatura
	µg L^{-1}		µg kg^{-1}		µg kg^{-1}
Simazina	0,3	1	0,8	2,5	-
Atrazina	0,3	1	0,8	2,5	-
Clomazona	0,3	1	0,3	1	1[a] e 10[b]
Tebuconazol	0,3	1	0,3	1	50[b]
Amitriptilina	0,8	2,5	2	7,5	-
Diclofenaco	0,3	1	1,5	5	-
Ibuprofeno	8	25	8	25	0,1[c] e 22,4[d]
Cafeína	0,8	2,5	8	25	-
Metilparabeno	1,5	5	2	7,5	-
Propilparabeno	0,8	2,5	2	7,5	-
Triclocarban	0,8	2,5	0,8	2,5	-
Bisfenol A	8	25	15	50	-

[a]Kvicalová *et al.* (2012); [b]Caldas *et al.* (2011); [c]Salvia *et al.* (2012); [d]Bragança *et al.* (2012)

5.3.2 Curva analítica, curva trabalho e linearidade

Os parâmetros de linearidade obtidos através de calibração por padronização externa, superposição da matriz e curva trabalho para o método proposto estão apresentados na Tabela 11.

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

Analitos	Faixa linear ($\mu g\ kg^{-1}$)	Curva analítica no solvente	r	Curva analítica no extrato da matriz	r	Curva trabalho	r
Simazina	2,5 – 50	y = 91,412x + 18,373	0,9998	y = 48,967x – 11,37	0,9996	y = 45,567 + 2,3873	0,9957
Atrazina	2,5 – 50	y = 153,71x – 59,143	0,9994	y = 116,05x + 81,274	0,9999	y = 117,502x + 20,624	0,9956
Clomazona	1 – 20	y = 276,55x + 11,59	0,9997	y = 216,48x + 64,97	0,9996	y = 216,503x + 29,008	0,995
Tebuconazol	1 – 20	y = 220,91x – 159,12	0,9969	y = 188,17x – 108,51	0,9989	y = 191,439x – 17,463	0,991
Amitriptilina	7,5 – 150	y = 66,476x + 106,65	0,9998	y = 42,524x – 304,28	0,9987	y = 25,458x – 268,08	0,9903
Diclofenaco	5 – 100	y = 20,989x + 40,282	0,9994	y = 19,276x – 48,305	0,9979	y = 11,670x + 9,7136	0,9963
Ibuprofeno	25 – 500	y = 11,506x – 213,29	0,9985	y = 11,167x + 152,83	0,997	y = 52,292x + 59,718	0,9977
Cafeína	25 – 250	y = 35,831x + 393,76	0,9995	y = 25,035x – 435,27	0,9975	y = 11,588x + 41,011	0,9995
Metilparabeno	7,5 – 75	y = 7,2023x – 6,5323	0,9998	y = 3,6528x – 44,212	0,9848	y = 6,9266x + 179,31	0,9943
Propilparabeno	7,5 – 150	y = 9,7879x – 10,713	0,9993	y = 9,458x – 20,75	0,9995	y = 6,7719x – 5,7032	0,9969
Triclocarban	2,5 – 50	y = 40,033x + 36,776	0,9998	y = 45,883x – 72,982	0,9999	y = 23,411x + 9,1581	0,9989
Bisfenol A	50 – 500	y = 0,3797x + 16,313	0,9996	y = 0,5701x – 28,438	0,9971	y = 0,2531x – 1,0132	0,9926

Através dos dados obtidos para a construção das curvas analíticas, e análise das equações das retas no LC-ESI-MS/MS é possível concluir que o modelo de regressão linear mostrou-se adequado para as determinações analíticas em estudo. Os coeficientes de correlação (r) foram maiores que 0,98, estando de acordo com as orientações da ANVISA e do INMETRO que recomendam r igual a 0,99 e acima de 0,90, respectivamente. Os coeficientes de correlação (r) para as curvas trabalho evidenciam uma boa linearidade de todo o método analítico, abrangendo desde a etapa de preparo de amostra até determinações no LC-ESI-MS/MS.

5.3.3 Exatidão

Para a avaliação da exatidão do método foram realizados ensaios de recuperação em três níveis, nas concentrações correspondentes a 1 LOQ, 5 LOQ e 20 LOQ. O procedimento empregado está descrito no item 4.10.3.

Os valores aceitáveis de recuperação para análise de resíduos de contaminantes são entre 70 e 120%, com precisão de ± 20%. No entanto, dependendo da complexidade analítica e da matriz, estes valores podem ser de 50 a 120% com precisão de 15% (Ribani et al., 2004).

O método apresentou recuperações percentuais entre 50 e 120%, com valores de RSD ≤ 15% conforme apresentado na Tabela 12. A cafeína foi o analito que apresentou a menor recuperação (50%), provavelmente esse resultado esteja relacionado à sua polaridade. Esses valores foram considerados aceitáveis, uma vez que o lodo de ETA é uma matriz complexa e, além disso, os analitos estão em níveis traço.

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

Analitos	Nível de fortificação (µg kg^{-1})	R (%)	RSD (%)	Analitos	Nível de fortificação (µg kg^{-1})	R (%)	RSD (%)
	2,5	106	14		5	112	10
Simazina	12,5	94	4	**Diclofenaco**	25	91	6
	50	90	5		100	76	5
	2,5	114	14		25	100	4
Atrazina	12,5	98	4	**Ibuprofeno**	125	103	4
	50	94	3		500	74	4
	1	101	9		7,5	119	8
Clomazona	5	106	10	**Metilparabeno**	37,5	95	4
	20	95	6		150	79	6
	1	96	13		7,5	103	9
Tebuconazol	5	120	13	**Propilparabeno**	37,5	99	7
	20	97	7		150	84	5
	7,5	93	10		2,5	93	11
Amitriptilina	37,5	73	7	**Triclocarban**	12,5	102	3
	150	59	4		50	86	3
	25	93	8		50	87	15
Cafeína	125	73	4	**Bisfenol A**	250	101	6
	500	50	3		1000	94	9

5.3.4 Precisão

A precisão do método foi avaliada em termos de repetibilidade (RSD) e precisão intermediária (RSD_{pi}) em três níveis para cada analito (1LOQ, 5 LOQ e 20 LOQ). Os valores de repetibilidade encontram-se na Tabela 12 e de precisão intermediária (RSD_{pi}) na Tabela 13. Tanto para a repetibilidade quanto para a precisão intermediária os valores de RSD foram ≤ 15%.

Tabela 13. Recuperação (R%) e precisão intermediária (RSD_{pi}%) para os compostos em estudo

Analitos	Nível de fortificação (µg kg^{-1})	R (%)	RSD_{pi} (%)	Analitos	Nível de fortificação (µg kg^{-1})	R (%)	RSD_{pi} (%)
Simazina	2,5	93	9	**Diclofenaco**	5	99	11
	12,5	100	8		25	77	5
	50	100	4		100	66	4
Atrazina	2,5	98	9	**Ibuprofeno**	25	103	15
	12,5	97	4		125	75	3
	50	97	4		500	72	4
Clomazona	1	97	8	**Metilparabeno**	7,5	108	14
	5	98	6		37,5	102	10
	20	100	3		150	99	5
Tebuconazol	1	108	14	**Propilparabeno**	7,5	100	14
	5	117	3		37,5	84	8
	20	104	3		150	70	5
Amitriptilina	7,5	95	10	**Triclocarban**	2,5	104	5
	37,5	72	4		12,5	90	5
	150	51	4		50	79	4
Cafeína	25	87	6	**Bisfenol A**	50	50	15
	125	67	5		250	67	15
	500	50	6		1000	63	12

5.3.5 Efeito matriz

O efeito matriz foi determinado através da inclinação das curvas analíticas no extrato da matriz e no solvente (Figura 13 a 24). Os analitos apresentaram efeito matriz distintos, sendo observado tanto supressão como enriquecimento. Conforme a Figura 12, a maioria dos compostos apresentou supressão do sinal; exceto triclocarban e bisfenol A que apresentaram enriquecimento. Compostos com baixos tempos de retenção, como por exemplo, amitriptilina, metilparabeno e simazina, apresentam alto efeito matriz devido a uma maior competição durante a etapa de ionização.

Além do cálculo do efeito matriz na faixa linear de cada analito, um estudo para verificação do efeito matriz em cada ponto da curva foi realizado, os resultados estão apresentados na Tabela 14.

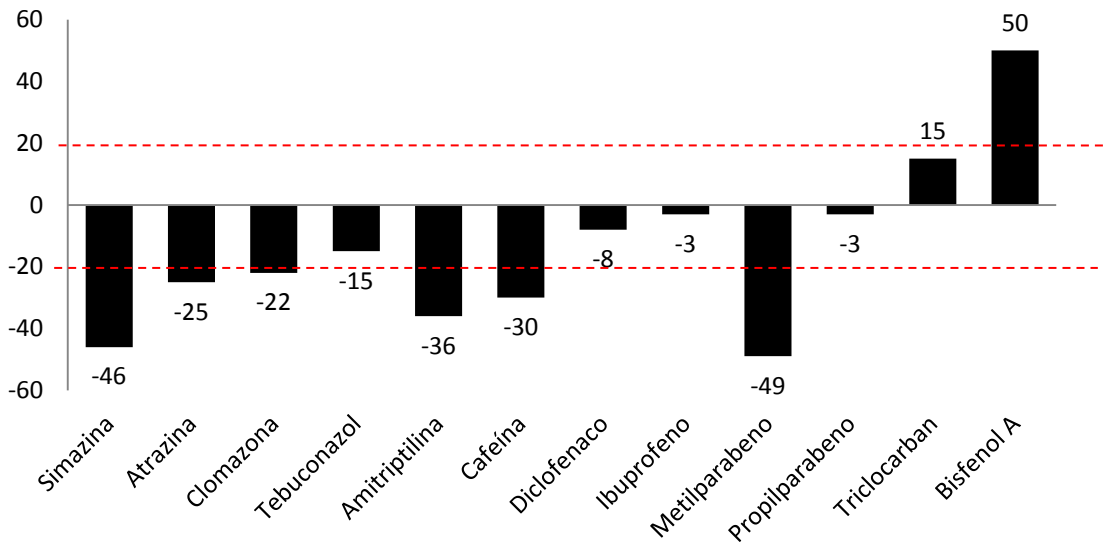


Figura 12. Efeito matriz para os compostos em estudo, calculado através das inclinações das curvas analíticas

Simazina apresentou supressão do sinal com efeito matriz de 46%, esse efeito não variou acentuadamente em cada nível de concentração, conforme a Tabela 14.

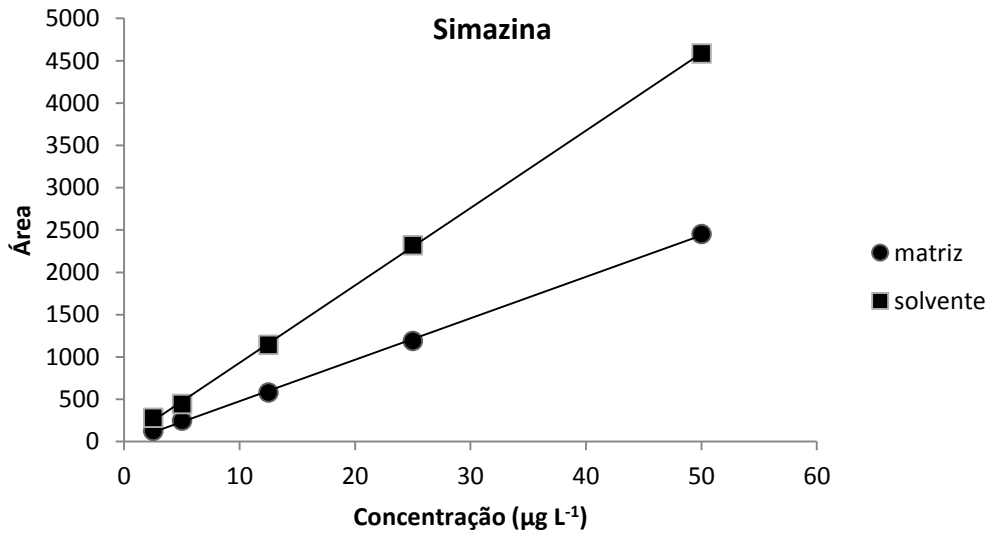


Figura 13. Curvas no solvente e na matriz para simazina

Atrazina apresentou supressão de 25% e foi observado que nas concentrações mais baixas o efeito é baixo. O mesmo foi observado para clomazona, que apresentou supressão de 22%.

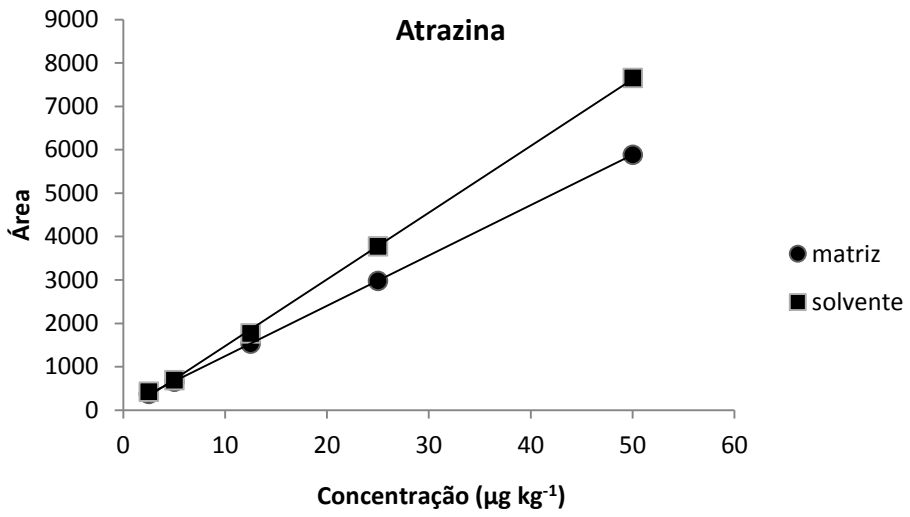


Figura 14. Curvas no solvente e na matriz para atrazina

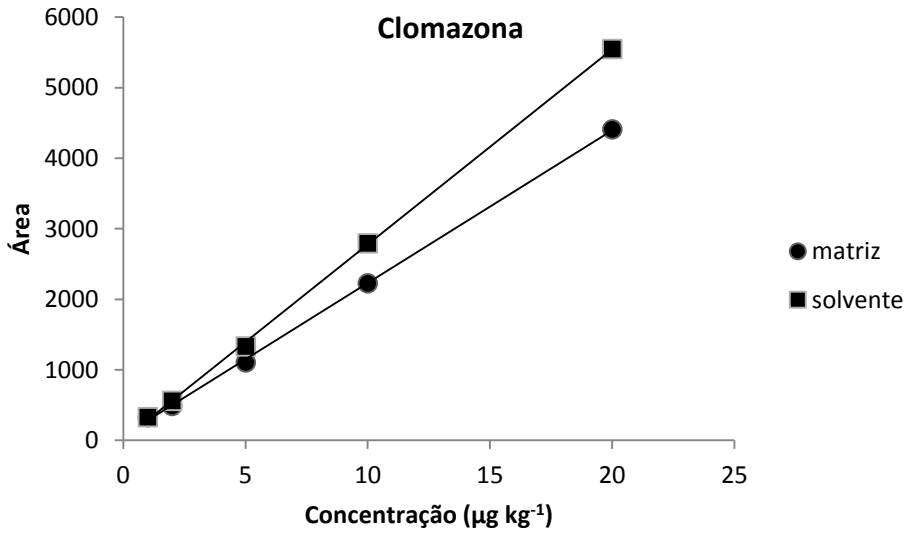


Figura 15. Curvas no solvente e na matriz para clomazona

Tebuconazol apresentou efeito matriz baixo, 15% de supressão, apenas no nível do LOQ o efeito matriz foi considerado médio.

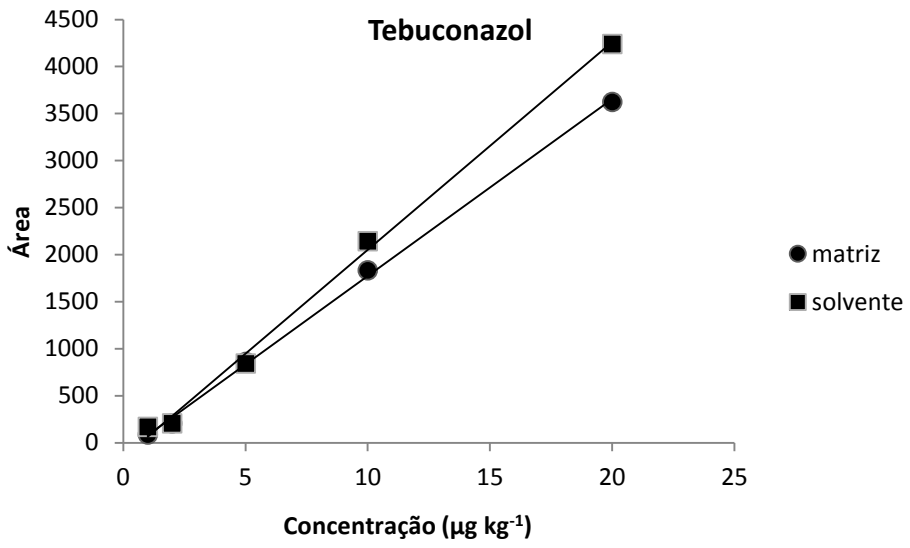


Figura 16. Curvas no solvente e na matriz para tebuconazol

O efeito matriz para amitriptilina foi de 36% de supressão, sendo que nos níveis mais baixos foram observados efeitos altos com supressões de até 80%.

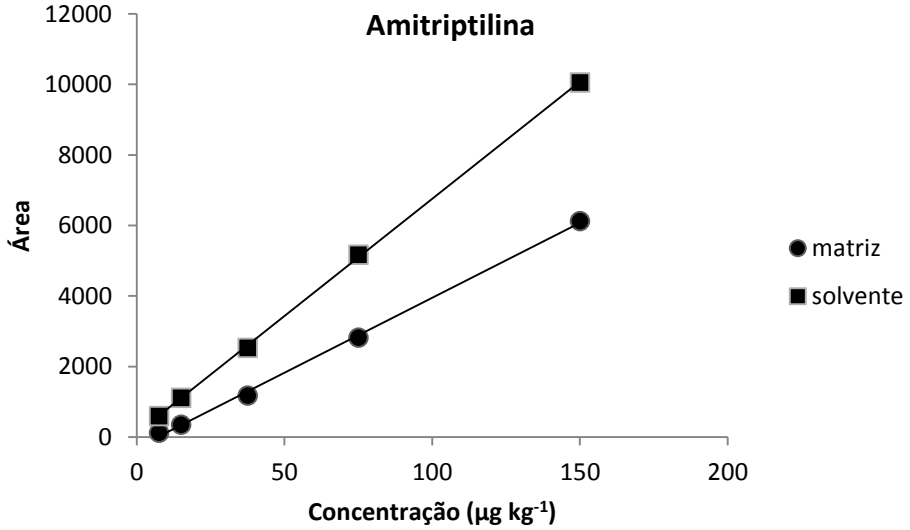


Figura 17. Curvas no solvente e na matriz para amitriptilina

Cafeína apresentou supressão de 30% e supressões maiores nas menores concentrações.

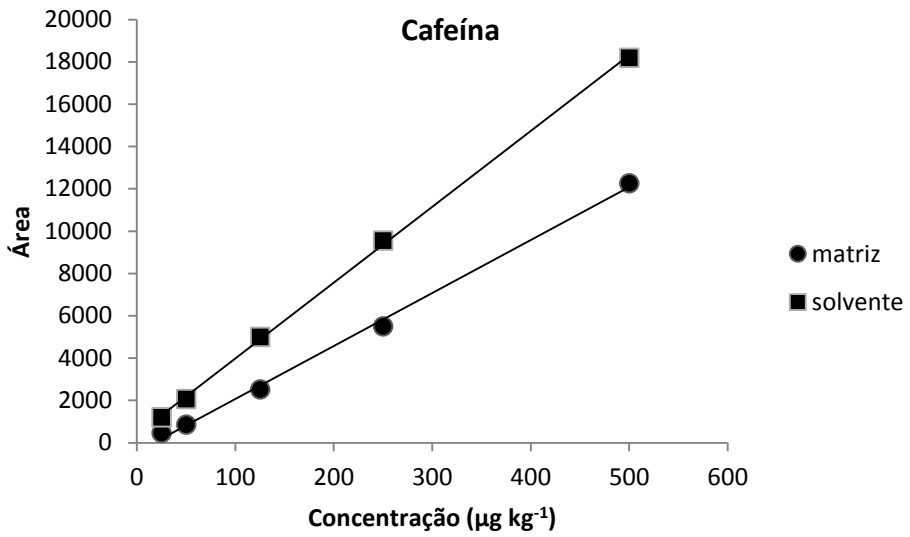


Figura 18. Curvas no solvente e na matriz para cafeína

Cabe ressaltar que para a quantificação da cafeína na amostra, a curva na matriz foi feita do LOQ até 250 µg kg^{-1}.

O efeito matriz para diclofenaco foi baixo, com supressão de 8%, sendo observadas supressões maiores nos menores níveis.

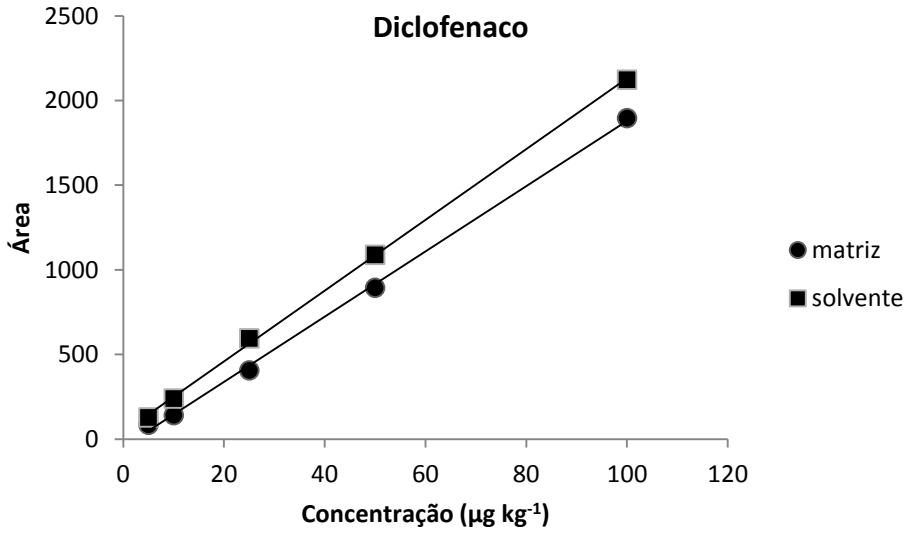


Figura 19. Curvas no solvente e na matriz para diclofenaco

Para o ibuprofeno foi observado um efeito matriz baixo, com supressão de 3%.

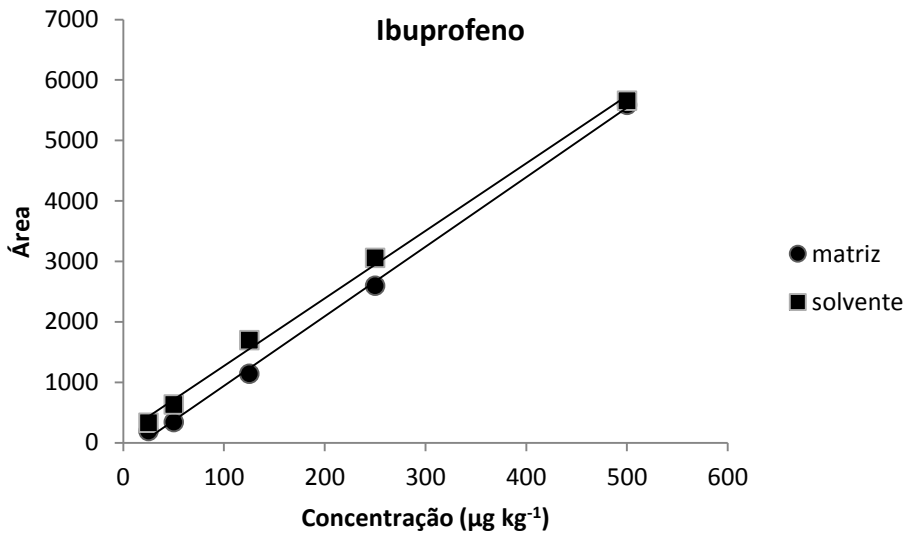


Figura 20. Curvas no solvente e na matriz para ibuprofeno

Para o metilparabeno ocorreu supressão de 49%, sendo observados efeitos matriz altos em todos os níveis, alcançando supressão de 95% no nível correspondente ao LOQ do composto.

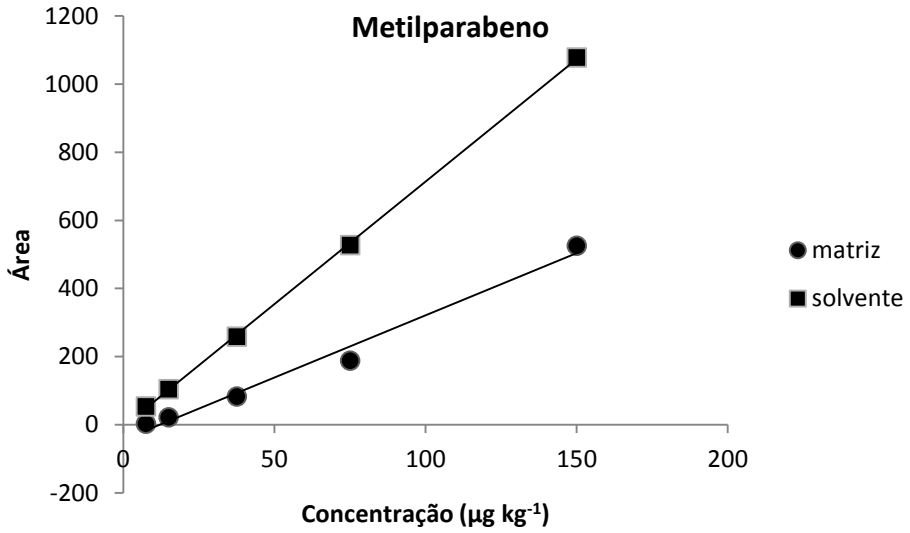


Figura 21. Curvas no solvente e na matriz para metilparabeno

Para a quantificação do metilparabeno na amostra, a curva na matriz foi feita do LOQ até 75 µg kg^{-1}.

Propilparabeno apresentou efeito matriz baixo com supressão de apenas 3%. Em todos os níveis também foram observados efeitos baixos, exceto no nível correspondente ao LOQ, que apresentou uma supressão de 21%.

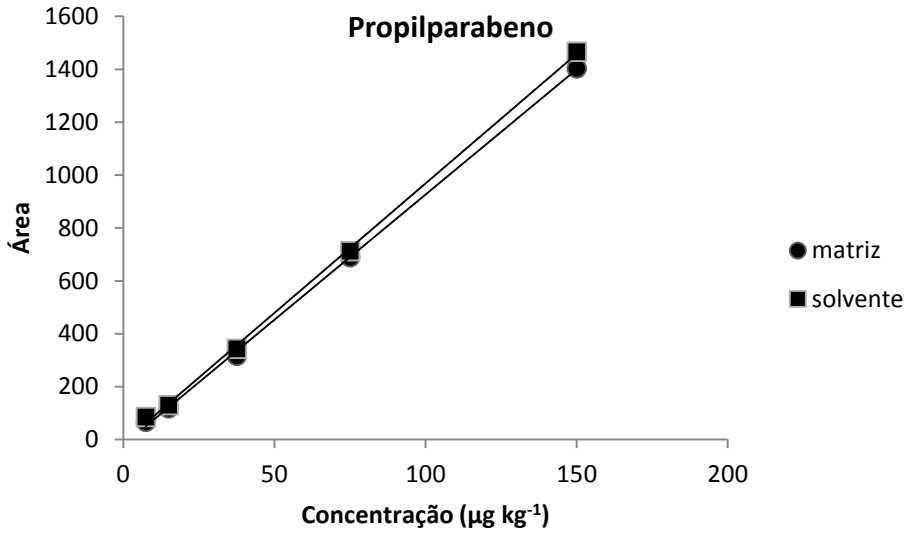


Figura 22. Curvas no solvente e na matriz para propilparabeno

O efeito matriz para o triclocarban foi baixo com enriquecimento de 15%. Assim como para o ibuprofeno, o triclocarban também apresentou supressão do sinal nos níveis estudados, chegando a supressões de até 63%, exceto no nível mais alto, onde foi observado o enriquecimento de 10%.

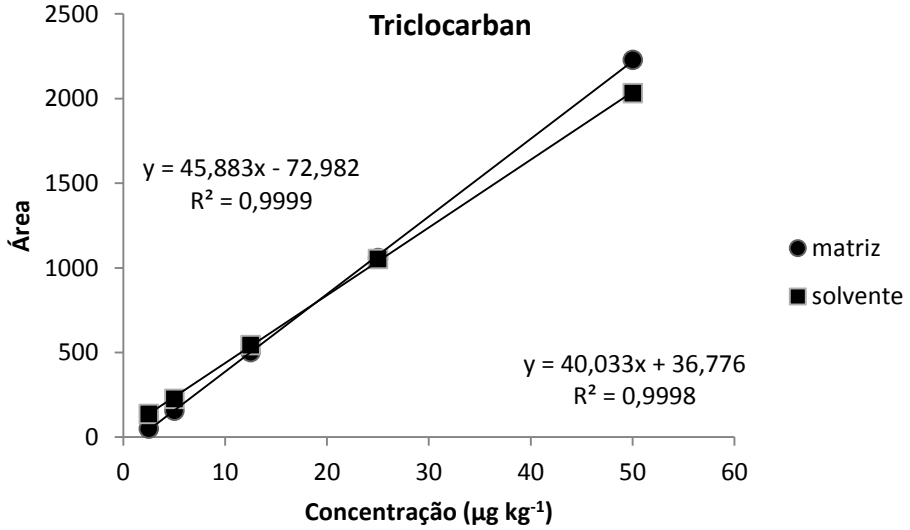


Figura 23. Curvas no solvente e na matriz para triclocarban

Por fim, o efeito matriz para o bisfenol A foi de 50% de enriquecimento. Nos três primeiros níveis da curva analítica foi observada supressão do sinal, chegando a 59%no nível do LOQ. Nos dois últimos níveis foi observado enriquecimento do sinal chegando a 38% no nível correspondente a uma concentração igual a vinte vezes o LOQ.

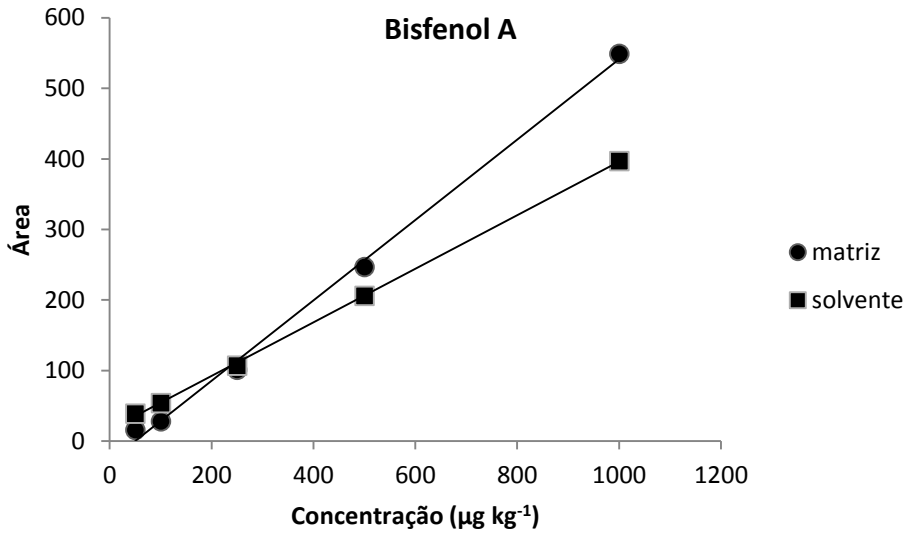


Figura 24. Curvas no solvente e na matriz para bisfenol A

Para a quantificação do bisfenol A na amostra, a curva na matriz foi feita do LOQ até 500 µg kg^{-1}.

Na Tabela 14, pode-se perceber que há bastante diferença no efeito matriz para alguns compostos em diferentes níveis de concentração. Por esse motivo, o uso da curva analítica é mais indicado, uma vez que nos dá o efeito matriz ao longo da faixa linear. Quando o efeito matriz é avaliado ponto a ponto, o ideal é que se tenha uma ideia da concentração esperada na amostra para ser avaliado em níveis próximos a esta concentração.

Tabela 14. Efeito matriz para os compostos em estudo

Analito	Nível de concentração (µg kg^{-1})	EM (%)	Analito	Nível de concentração (µg kg^{-1})	EM (%)	Analito	Nível de concentração (µg kg^{-1})	EM (%)
Simazina	2,5	-55	**Amitriptilina**	7,5	-80	**Metilparabeno**	7,5	-95
	5	-44		15	-68		15	-80
	12,5	-49		37,5	-54		37,5	-68
	25	-49		75	-56		75	-64
	50	-47		150	-39		150	-51
Atrazina	2,5	-12	**Cafeína**	25	-62	**Propilparabeno**	7,5	-21
	5	-5		50	-58		15	-8
	12,5	-13		125	-50		37,5	-8
	25	-21		250	-42		75	-3
	50	-23		500	-33		150	-4
Clomazona	1	-1	**Diclofenaco**	5	-33	**Triclocarban**	2,5	-63
	2	-13		10	-41		5	-31
	5	-17		25	-32		12,5	-15
	10	-20		50	-18		25	0
	20	-21		100	-11		50	10
Tebuconazol	1	-47	**Ibuprofeno**	25	-41	**Bisfenol A**	50	-59
	2	-1		50	-46		100	-48
	5	2		125	-33		250	-5
	10	-14		250	-15		500	20
	20	-15		500	-1		1000	38

5.3.6 Eficiência do processo

A eficiência do processo (EP) é a característica de desempenho global do método e envolve tanto a recuperação como o efeito matriz. Mesmo com altas recuperações, a supressão do sinal provocada pelo efeito matriz pode causar baixa EP, assim como o enriquecimento do sinal ocasiona um aumento da EP (Varga *et al*., 2011).

Valores de EP próximos a 100%, geralmente indicam que as recuperações do método estão próximas a 100% e o efeito matriz é baixo.

Conforme os valores de EP, apresentados na Tabela 15, pode-se observar que para simazina, apesar das recuperações serem relativamente altas, a EP foi de 45 – 52% devido à elevada supressão do sinal. Já para os compostos atrazina e clomazona apresentaram EP próximas a 100%, nos níveis mais baixos, uma vez que o EM foi baixo nessas concentrações.

Tebuconazol apresentou EP de 38% no nível do LOQ, já que houve uma supressão do sinal e a recuperação do composto foi de 71%. A EP de 118% observada

na concentração 5 LOQ se deve ao alto valor de recuperação, assim como o pequeno enriquecimento do sinal.

As EP para amitriptilina e para metilparabeno foram bem baixas, variando de 18 – 36% e 6 – 36% respectivamente. No nível do LOQ, as EP foram as mais baixas devido aos elevados efeitos matriz.

Cafeína apresentou EP na faixa de 32 e 37%, e propilparabeno 73 e 95%. Para os fármacos diclofenaco e ibuprofeno a EP foi de 64 – 75% e 49 – 75% respectivamente.

A EP para o triclocarban foi de 74 a 94%, com exceção do nível do LOQ, que apresentou EP de 33%, já que o EM foi alto nessa concentração. Já para o composto bisfenol A, as EP foram entre 33 e 128%, sendo observada baixa EP no nível do LOQ, devido a supressão do sinal de 59%, já nos níveis maiores (10 e 20 LOQ) as EP foram maiores devido ao enriquecimento do sinal de 20 e 38% respectivamente.

Apesar de a EP ter sido baixa para a maioria dos analitos, as recuperações dos compostos foram satisfatórias, pois o efeito matriz foi compensado quando a quantificação foi realizada através da superposição da matriz.

Tabela 15. Efeito matriz (EM), recuperação (R%) e eficiência do processo (EP) para os analitos

Analitos	Nível de concentração (µg kg^{-1})	EM[a] (%)	R (%)	EP (%)	Analitos	Nível de concentração (µg kg^{-1})	EM[a] (%)	R (%)	EP (%)
Simazina	2,5	45	115	52	**Diclofenaco**	5	67	112	75
	5	56	90	50		10	59	108	64
	12,5	51	93	47		25	68	95	65
	25	51	87	45		50	82	85	69
	50	53	89	48		100	89	77	69
Atrazina	2,5	88	119	105	**Ibuprofeno**	25	59	97	58
	5	95	109	103		50	54	90	49
	12,5	87	98	85		125	67	105	70
	25	79	89	70		250	85	80	68
	50	77	94	72		500	99	76	75
Clomazona	1	99	105	104	**Metilparabeno**	7,5	5	118	6
	2	87	102	89		15	20	105	21
	5	83	107	89		37,5	32	97	31
	10	80	92	73		75	36	100	36
	20	79	94	74		150	49	72	35
Tebuconazol	1	59	71	38	**Propilparabeno**	7,5	79	92	73
	2	99	73	72		15	91	84	77
	5	102	116	118		37,5	91	105	95
	10	86	92	79		75	97	84	81
	20	85	83	71		150	96	83	79
Amitriptilina	7,5	20	86	18	**Triclocarban**	2,5	37	90	33
	15	32	78	24		5	69	107	74
	37,5	46	73	34		12,5	85	106	90
	75	54	60	33		25	100	93	94
	150	61	59	36		50	110	85	93
Cafeína	25	38	97	37	**Bisfenol A**	50	41	80	33
	50	42	77	32		100	52	109	56
	125	50	72	36		250	95	91	86
	250	58	60	34		500	120	80	96
	500	67	50	34		1000	138	92	128

[a] O cálculo do EM (%) foi realizado comparando as áreas obtidas do padrão do extrato e as áreas obtidas do padrão no solvente

5.4 Aplicabilidade

O método empregando QuEChERS e LC-ESI-MS/MS, após ser otimizado e validado, foi aplicado em amostras de lodo de ETA coletadas nos decantadores e no leito de secagem (amostra coletada em 19 de dezembro) na Estação de Tratamento de Água do município de Rio Grande.

Dos compostos em estudo, metilparabeno e tebuconazol foram encontrados nas amostras, sendo que os mesmos estavam em concentrações menores que o LOQ.

Metilparabeno é um conservante presente em diversos produtos de cuidado pessoal e em alguns alimentos industrializados. No estudo realizado por Silveira (2012) foi constatada a presença do composto na água do Canal São Gonçalo. Também foi relatada a presença de metilparabeno em lodo de ETE (Nieto *et al*., 2009; Ferreira *et al.*, 2011).

O herbicida tebuconazol é amplamente utilizado nas lavouras de arroz e desde 2008 esse composto é encontrado nas águas de superfície e abastecimento do município de Rio Grande.

Os cromatogramas no modo MRM da detecção dos compostos na amostra são apresentados nas Figuras 25 e 26.

Tabela 16. Resultados da aplicabilidade do método em amostras de lodo de ETA (µg kg^{-1})

Analitos	30 abril	01 junho	27 junho	01 agosto	11 setembro	20 novembro	19 dezembro
Simazina	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Atrazina	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Clomazona	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Tebuconazol	< LOQ	< LOQ	n.d	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
Amitriptilina	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Cafeína	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Diclofenaco	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Ibuprofeno	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Metilparabeno	< LOQ	< LOQ	< LOQ	n.d	< LOQ	< LOQ	n.d
Propilparabeno	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Triclocarban	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Bisfenol A	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d

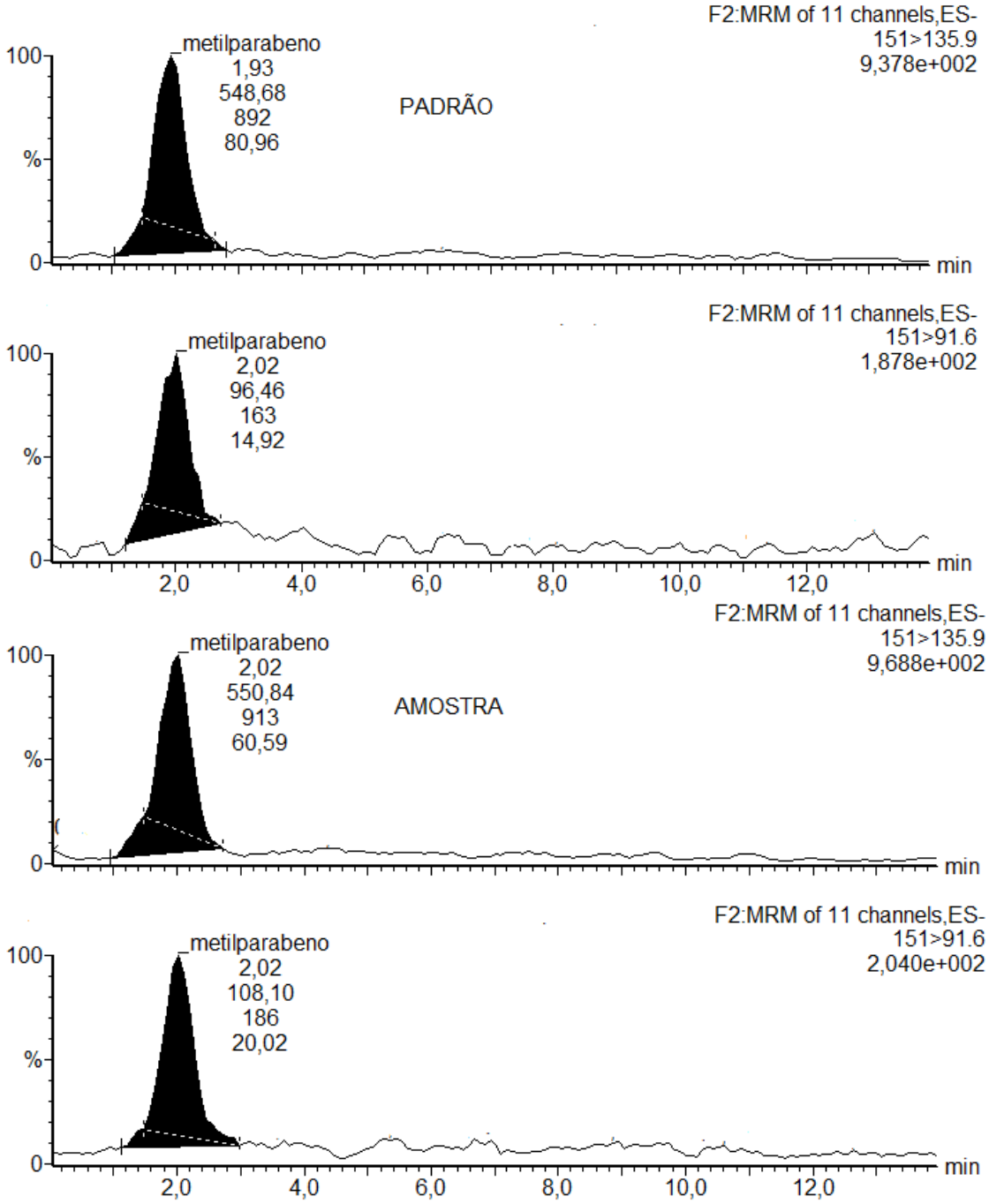


Figura 25. Cromatogramas no modo MRM para metilparabeno na amostra e no extrato na concentração 1 LOQ

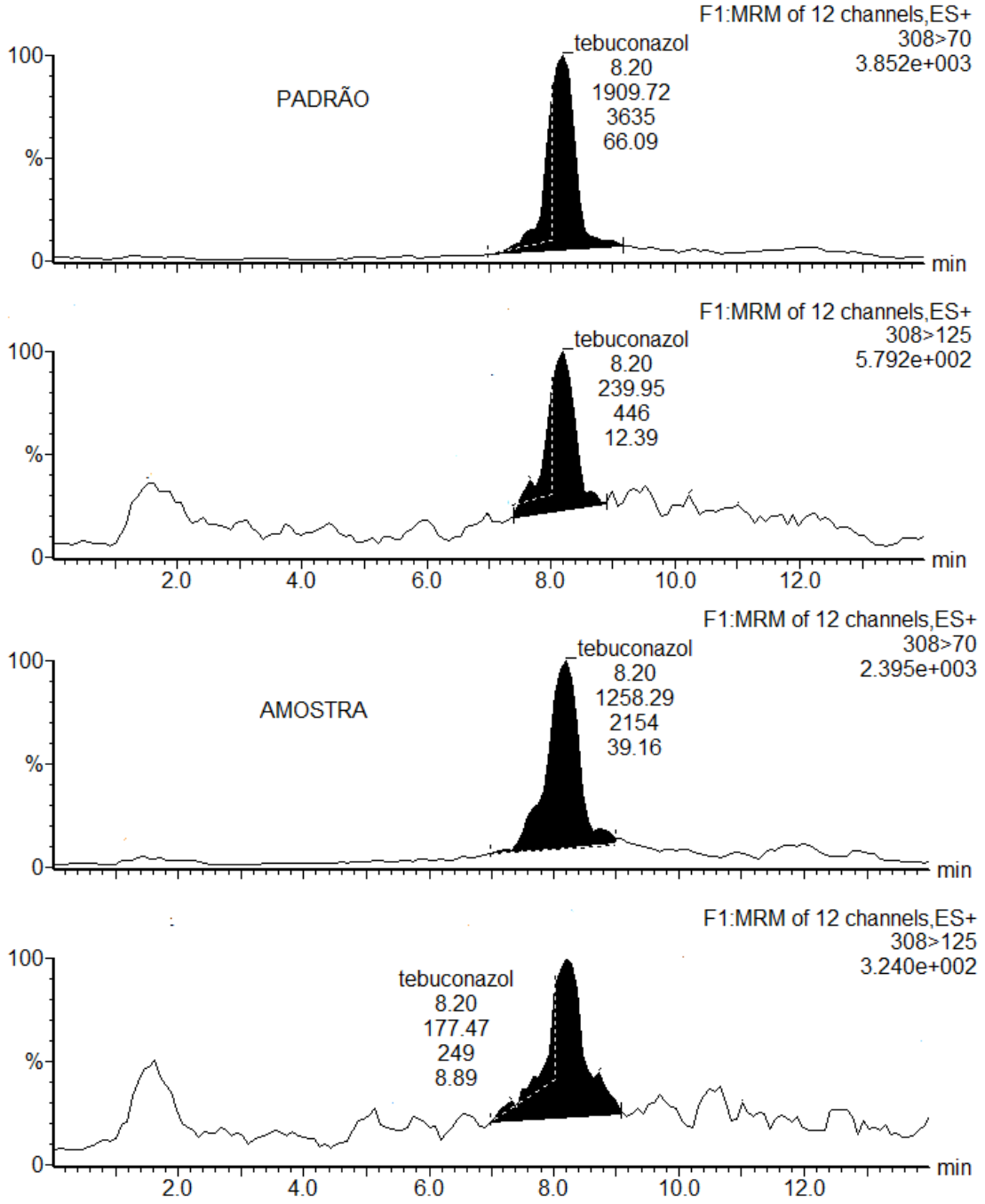


Figura 26. Cromatogramas no modo MRM para tebuconazol na amostra e no extrato na concentração 1 LOQ

5.5 Comparação do método proposto

Pela revisão bibliográfica realizada, pode-se observar que o método QuEChERS proposto neste trabalho, para determinação simultânea de agrotóxicos, fármacos e PCP, apresenta como vantagens a simplicidade, rapidez, custo e baixo consumo de solvente orgânico (10 mL). O uso de quitina como sorvente na etapa de limpeza torna o

método mais barato e ambientalmente correto, já que a mesma foi produzida a partir de resíduos de casca de camarão, substituindo o uso de PSA e C_{18}, sorventes com um custo mais elevado. O tempo de interação dos analitos na etapa de fortificação também foi avaliado. Além disso, o método mostrou-se exato e preciso com resultados de recuperação e RSD adequados.

Tabela 17. Comparação do método proposto com os métodos desenvolvidos para determinação de compostos orgânicos em lodo de ETA

Matriz	Analitos	Preparo de Amostra	Análise	LOQ_m (µg kg^{-1})	Concentrações encontradas nas amostras (µg kg^{-1})	Referência
Lodo ETA	Produtos de degradação de detergentes	UAE e SPE	LC-ESI-MS	5 - 25	0,6 - 3200	Petrovic et al., 2001
Lodo ETA	Produtos de degradação de detergentes	PLE	LC-ESI-MS/MS	0,5 – 1,5	7,0 - 150	Petrovic et al., 2003
Lodo ETA	Fármacos de diferentes classes* produtos de degradação de detergentes; retardantes de chamas; plastificantes fragrâncias; HPAs; esteroides; pesticidas e PCPs	PLE	LC-MS* GC-MS	0,76 – 67*	0,76 - 67	Stackelberg et al., 2007
Lodo ETA	Agrotóxicos	SLE	LC-ESI-MS/MS	1000	< 10	Moracci, 2008
Lodo ETA	Fragrâncias	PLE	GC-MS/MS	< 25	1,3 – 9,9	Wombacher e Hornbuckle, 2009
Lodo ETA	Agrotóxicos, fármacos e PCPs	QuEChERS	LC-ESI-MS/MS	1 - 50	< LOQ	Método proposto

*os autores não relataram LOQ, somente os níveis encontrados nas amostras

6. CONCLUSÕES

A determinação dos analitos por LC-ESI-MS/MS permitiu a realização de uma análise qualitativa, obtida a partir de fragmentos de massa característicos de cada analito, e quantitativa, através do modo de aquisição MRM. As condições cromatográficas otimizadas para determinação permitiram a identificação e quantificação das substâncias em estudo, em um tempo total de análise de 14 minutos.

O trabalho desenvolvido é inovador, uma vez que não foram relatados na literatura trabalhos que empregassem o método QuEChERS para extração simultânea de agrotóxicos, fármacos e PCPs em amostras de lodo de ETA. Outra grande inovação é o emprego da quitina, obtida a partir de cascas de camarão, como sorvente na etapa de limpeza, tornando o método mais barato, substituindo o uso de PSA e C_{18}, sorventes com um custo mais elevado.

Na validação do método, as curvas analíticas apresentaram valores de coeficiente de correlação maiores que 0,98 para as faixas de concentração necessárias às aplicações. Os limites de quantificação variaram de 1 a 50 µg kg^{-1}.

O método empregando QuEChERS e determinação por LC-ESI-MS/MS apresentou resultados de recuperações dentro da faixa recomendada pela literatura (50 e 120%) com valores de estimativa de desvio padrão relativo ≤ 15% para os compostos em estudo. O estudo do efeito matriz indicou a necessidade da correção do mesmo através da utilização da superposição na matriz.

Durante a aplicabilidade do método em amostras de lodo coletadas nos decantadores da Estação de Tratamento de Água, foi constatada a presença de metilparabeno e tebuconazol e os mesmos apresentaram concentrações menores que o LOQ.

Deste modo, conclui-se que o método se mostrou adequado à determinação simultânea de agrotóxicos, fármacos e produtos de cuidado pessoal em lodo de ETA, atendendo satisfatoriamente os objetivos traçados para este trabalho.

7. DESTINO DOS RESÍDUOS GERADOS

Os resíduos gerados no desenvolvimento deste trabalho foram coletados, separados em frascos rotulados e armazenados adequadamente, aguardando o procedimento a ser adotado pela instituição. Além disso, estão sendo desenvolvidos e otimizados, no LACOM, trabalhos com o objetivo de degradação dos resíduos de agrotóxicos, fármacos e PCP gerados no laboratório.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. NBR – 10004: *Resíduos Sólidos – Classificação*. Rio de Janeiro, 2004a.

ABNT. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. NBR – 10007: *Amostragem de Resíduos Sólidos*. Rio de Janeiro, 2004b.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F.J. **Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the Determination of Pesticide Residues in Produce**. *Journal of AOAC International*, v. 86, p. 412-43, 2003.

ANASTASSIADES, M.; SCHERBAUM, E.; TASDELEN, B.; STAJNBAHER, D. **Crop Protection, Public Health, Environmental Safety.** Germany: Wiley-VCH, 2007. 439 p.

AOAC (Official Method 2007.01: **Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulphate**, AOAC International (2007).

ARDREY, R. E. **Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction**, Wiley: Huddersfield, 2003.

ASENSIO-RAMOS, M.; HERNÁNDEZ-BORGES, J.; RAVELO-PÉREZ, L. M.; RODRÍGUEZ-DELGADO, M. A. **Evaluation of a modified QuEChERS method for the extraction of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils.** *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 396, p. 2307–2319, 2010.

BIDONE, F.; SILVA, A. P.; MARQUES, D. M. **Lodos Produzidos nas Estações de Tratamento de Água (ETAs): Desidratação em Leitos de Secagem e Codisposição em Aterros Sanitários**. In: In: *Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final* - Rio de Janeiro: RiMa, 282 p. - ABES, 2001.

BRAGANÇA, I.; PLÁCIDO, A.; PAÍGA, P.; DOMINGUES, V. F.; DELERUE-MATOS, C. **QuEChERS: A new sample preparation approach for the determination of ibuprofen and its metabolites in soils**. *Science of the Total Environment*, v. 433, p. 281–289, 2012.

BRASIL. Portaria nº 375, de 29 de agosto de 2006. Define critérios e procedimentos, para o uso agrícola de lodos de esgoto gerados em estações de tratamento de esgoto sanitário e seus produtos derivados, e dá outras providências. . **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 de agosto de 2006. Disponível em: < **http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf**>. Acesso em janeiro de 2013.

BRASIL. Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei nº 7802/1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 jan 2002. Disponível em: <www.planalto.gov.br/ccivil_03/Decreto/2002/D4074.htm>. Acesso em fevereiro de 2013.

BUCHBERGER, W. W. **Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment**. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, p. 603–618, 2011.

CABRERA, L.C.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. **Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região Sul do Estado do RS**. *Química Nova*, v. 31, p.1982-1986, 2008.

CABRERA, L. C.; MARTINS, M. L.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. **Extração em Fase Sólida Dispersiva na determinação de resíduos e contaminantes em alimentos**. *Scientia Chromatographica*, v. 4, p. 227-240, 2012.

CABRERA L. **Estudo do efeito matriz na determinação de agrotóxicos em diferentes tipos de arroz pelo método QuEChERS modificado e LC-MS/MS**. *Tese de Doutorado*. Universidade Federal de Santa Maria; Programa de Pós-Graduação em Química, 2012.

CALDAS, S. S.; BOLZAN, C. M.; CERQUEIRA, M. B.; TOMASINI, D.; FURLONG, E. B.; FAGUNDES, C. PRIMEL, E. G. **Evaluation of a Modified QuEChERS Extraction of Multiple Classes of Pesticides from a Rice Paddy Soil by LC-APCI-MS/MS.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 11918–11926, 2011.

CALDAS S. S.; BOLZAN, C. M.; GUILHERME, J. R.; SILVEIRA, M. A. K.; ESCARRONE, A. L. V.; PRIMEL, E. G. **Determination of pharmaceuticals, personal care products and pesticides in surface and treated waters: method development and survey**. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2013 Article in press.

CHA, J.; CUPPLES, A. M. **Detection of the antimicrobials triclocarban and triclosan in agricultural soils following land application of municipal biosolids**. *Water Research*, v. 43, p. 2522–2530, 2009.

CHEMSPIDER. *The free chemical database*. Disponível em: < **http://www.chemspider.com/**>. Acesso em 17 mai. 2012.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. **O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos**. *Química Nova*, v. 31, p. 623-636, 2008

CHU, S.; METCALFE, C. D.; **Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in municipal biosolids by liquid chromatography tandem mass spectrometry**. *Journal of Chromatography A*, v. 1164, p. 212 – 218, 2007.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006. 456 p.

CORDEIRO, J. S. **Importância do tratamento e disposição adequada dos lodos de ETAs**. In; *Noções gerais de tratamento e disposição final de lodos de estações de tratamento de água* - Rio de Janeiro: ABES, 240 p., 1999

CORDEIRO, J. S. **Processamento de lodos de Estações de Tratamento de Água (ETAs)**. In: *Resíduos sólidos do saneamento: processamento, reciclagem e disposição final* - Rio de Janeiro: RiMa, 282 p. - ABES, 2001.

CORREIA-SÁ, L.; FERNANDES, V. C.; CARVALHO, M.; CALHAU, C.; DOMINGUES, V. F.; DELERUE-MATOS, C. **Optimization of QuEChERS method for the analysis of organochlorine pesticides in soils with diverse organic matter**. *Journal of Separation Science*, v. 35, p. 1521–1530, 2012.

DABROWSKI, L.; GIERGIELEWICZ-MOZAJSKA, H.; BIZIUK, M.; GACA, J.; NAMIESNIK, J. **Some aspects of the analysis of environmental pollutants in sediments using pressurized liquid extraction and gas chromatography–mass spectrometry**. *Journal of Chromatography A*, v. 957, p. 59 - 67, 2002.

DEMOLINER, A.; CALDAS, S.S.; COSTA, F. P.; GONÇALVES, F. F.; CLEMENTIN, R. M.; MILANI, M. R.; PRIMEL, E. G.; **Development and Validation of a Method Using SPE and LC-ESI-MS-MS for the Determination of Multiple Classes of Pesticides and Metabolites in Water Samples**. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 21, No. 8, p. 1424 - 1433, 2010.

DING, W.; FANN, J. C. H. **Application of pressurized liquid extraction followed by gas chromatography–mass spectrometry to determine 4-nonylphenols in sediments**. *Journal of Chromatography A*, v. 866, p. 79–85, 2000.

DING, Y.; ZHANG, W.; GU, C.; XAGORARAKI, I.; LI, H. **Determination of pharmaceuticals in biosolids using accelerated solvent extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry**. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, p. 10–16, 2011.

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

EPA, 2009. Biosolids: Targeted National Sewage Sludge Survey Report. Disponível em: < **http://water.epa.gov/scitech/wastetech/biosolids/tnsss-fs.cfm**>. Acesso em: março de 2013.

EPA, 2011. Drinking Water Treatment Plant Residuals Management Technical Report. Disponível em: **http://water.epa.gov/scitech/wastetech/guide/treatment/upload/residuals_management_report.pdf**. Acesso em: março de 2013.

EPA, 2012. Biennial Review of 40 CFR Part 503 As Required Under the Clean Water Act Section 405(d)(2)(C). Disponível em: <

http://water.epa.gov/scitech/wastetech/biosolids/upload/br2009_summary_final.pdf>. Acesso em: março de 2013.

EUROPEAN COMMISSION. Directiva do Conselho de 12 de junho de 1986 relativa à proteção do ambiente, e em especial dos solos, na utilização agrícola de lamas de depuração (86/278/CEE). Disponível em: < **http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1986:181:0006:0012:PT:PDF**>. Acesso em março de 2013.

EUROPEAN COMMISSION. Organic contaminants in sewage sludge for agricultural use, 2001. Disponível em: <**http://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/pdf/organics_in_sludge.pdf**>. Acesso em: março de 2013.

FERNANDEZ-ALBA, A. **Chromatographic-mass spectrometric food analysis for the trace determination of pesticides residues**. In. Comprehensive analytical chemistry. The Netherlands: Elsevier. 2005, 287 p.

FERREIRA, A. M. C.; MÖDER, M.; LAESPADA, M. E. F. **Stir bar sorptive extraction of parabens, triclosan and methyl triclosan from soil, sediment and sludge with in situ derivatization and determination by gas chromatography–mass spectrometry**. *Journal of Chromatography A*, v. 1218, p. 3837–3844, 2011

GARCÍA-VALCÁRCEL, A. I.; TADEO, J. L. **A combination of ultrasonic assisted extraction with LC–MS/MS for the determination of organophosphorus pesticides in sludge.** *Analytica Chimica Acta,* v. 641, p. 117 – 123, 2009.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. **Interferentes endócrinos no ambiente**. *Química Nova*, v. 30, p. 695-706, 2007.

GÖBEL, A.; THOMSEN, A.; McARDELL, C. S.; ALDER, A. C.; GIGER, W.; THEIB, N.; LÖFFLER, D.; TERNES, T. A. **Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage sludge**. *Journal of Chromatography A*, v. 1085, p. 179–189, 2005.

GÓMEZ, M. J.; PETROVIC, M.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R.; BARCELÓ, D. **Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters**. *Journal of Chromatography A*, v. 1114, p. 224–233, 2006.

GROS, M.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. **Analysis of Emerging Contaminants of Municipal and Industrial Origin.** *The Handbook of Environmental Chemistry*, v. 5, p. 37 – 104, 2008.

HAJSLOVÁ, J.; ZROSTLIKOVÁ, J. **Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices.** *Journal of Chromatography A*, v. 1000, p. 181 – 197, 2003.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 6.ed. Rio de janeiro: LTC Editora, 2003. 876 p.

HOPPEN, C.; PORTELLA, K. F.; JOUKOSKI, A.; TRINDADE, E. M; ANDREÓLI, C. V. **Uso de lodo de Estação de Tratamento de Água centrifugado em matriz de concreto de cimento portland para reduzir o impacto ambiental**. *Química Nova*, v. 29, p. 79-84, 2006.

HUANG, Q.; YU, Y.; TANG, C.; PENG, X. **Determination of commonly used azole antifungals in various waters and sewage sludge using ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry**. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, p. 3481–3488, 2010.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍTICA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?codmun=431560>. Acesso em janeiro de 2013.

INMETRO; INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **DOQ-CGCRE-008**: Orientações sobre validação de métodos analíticos. Brasília, 2010. 20 p.

JELIC, A.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. **Multi-residue method for trace level determination of pharmaceuticals in solid samples using pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry**. *Talanta*, v. 80, p. 363–371, 2009.

JELIC, A.; GROS, M.; GINEBREDA, A.; CESPEDES-SÁNCHEZ, R.; VENTURA, F.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D.; **Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment.** *Water Research,* v. 45, p. 1165 – 1176, 2011.

KVÍCALOVÁ, M.; DOUBRAVOVÁ, P.; JOBÁNEK, R.; JOKEŠOVÁ, M.; OCENÁŠKOVÁ, V.; SÜSSENBEKOVÁ, H.; SVOBODOVÁ, A. **Application of Different Extraction Methods for the Determination of Selected Pesticide Residues in Sediments**. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 89, p. 21–26, 2012.

KRUVE, A., KÜNNAPAS, A. HERODES, K.; LEITO, I. **Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography–mass spectrometry**. *Journal of Chromatography A*, v. 1187, p. 58-66, 2008.

LEHOTAY, S.J., MASTOVSKÁ, K., LIGHTFIELD, A.R. **Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables.** *Journal of AOAC International*, v. 88 p. 615, 2005.

LEHOTAY, S.J. **Determination of Pesticides Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate: Collaborative Study**. *Journal of AOAC International*, v. 90, p. 485 – 520, 2007.

LINDBERG, R. H.; FICK, J.; TYSKLIND, M.; **Screening of antimycotics in Swedish sewage treatment plants – Waters and sludge.** *Water Research,* v. 44, p. 649 – 657, 2010.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. **Determination of some organic contaminants in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry**. *Talanta*, v. 100, p. 38–44, 2012.

MARTÍN, S. H.; PINTO, C. G.; PAVÓN, J. L. P.; CORDERO, B. M. **Determination of trihalomethanes in soil matrices by simplified quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction and fast gas chromatography with electron capture detection**. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, p. 4883–4889, 2010.

MATUSZEWSKI, B.K.,CONSTANZER, M. L.; CHAVEZ-ENG, C.M. **Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC-MS/MS**. *Analytical Chemistry***,** v.75, p. 3019-3030, 2003.

MATUSZEWSKI, B.K. **Standard line slopes as a measure of a relative matrix effect in quantitative HPLC–MS bioanalysis**. *Journal of Chromatography B*, v. 830, p. 293–300, 2006.

MEI, M.; Zhen-Xia, D.; Yun, C. **QuEChERS-Ultra-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry for Determination of Five Currently Used Herbicides**. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, v. 39, p. 1659 –1664, 2011.

MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. Spatial and Seasonal Variations of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 22, p. 1452 – 1462, 2011.

MORACCI, L. F. S. **Resíduos de agrotóxicos em lodo de estação de tratamento de água: validação de metodologia analítica utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em *tandem* (LC-MS/MS).** *Dissertação de Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Materiais*, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, 2008.

MOURA, C.; MUSZINSKI, P.; SCHMIDT, C.; ALMEIDA, J.; PINTO, L. **Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: avaliação do processo em escala piloto**. *Vetor, Rio Grande*, v. 16, p.37-45, 2006.

NIETO, A.; BORRULL, F.; POCURULL, E.; MARCÉ, R. M. **Pressurized liquid extraction of pharmaceuticals from sewage-sludge.** *Journal of Separation Science*, v. 30, p. 979 – 984, 2007.

NIETO, A.; BORRULL, F.; MARCÉ, R. M.; POCURULL, E**. Determination of personal care products in sewage sludge by pressurized liquid extraction and ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry**. *Journal of Chromatography A*, v. 1216, p. 5619–5625, 2009.

NIETO, A.; BORRULL, F.; POCURULL, E.; MARCÉ, R. M. **Pressurized liquid extraction: A useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge**. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 29, p. 752 - 764, 2010.

PETROVIC, M.; DIAZ, A.; VENTURA, F.; BARCELÓ, D. **Simultaneous Determination of Halogenated Derivatives of Alkylphenol Ethoxylates and The Metabolites in Sludges, River Sediments, and Surface, Drinking, and Wastewaters by Liquid Chromatography Mass Spectrometry.** *Analytical Chemistry*, Vol. 73, p. 5886 - 5895, 2001.

PETROVIC, M.; GONZALEZ, S.; BARCELÓ, D. **Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water**. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 22, p. 685 - 696, 2003.

PICÓ, Y. **Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples**. *Trends in Analytical Chemistry*, 2013 Article in press http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2012.12.005

PINTO, C. G.; LAESPADA, M. E. F.; MARTÍN, S. H.; FERREIRA, A. M. C.; PAVÓN, J. L. P.; CORDERO, B. M. **Simplified QuEChERS approach for the extraction of chlorinated compounds from soil samples**. *Talanta*, v. 81, p. 385–391, 2010.

PINTO, C. G.; MARTÍN, S. H.; PAVÓN, J. L. P.; CORDERO, B. M. **A simplified Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe approach for the determination of trihalomethanes and benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soil matrices by fast gas chromatography with mass spectrometry detection**. *Analytica Chimica Acta*, v. 689, p. 129–136, 2011.

PORTAL DA SAÚDE. MS orienta na identificação da Farmácia Popular. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/7682/162/ms-orienta-na identificacao-da-farmacia-popular.html> Acesso em: abril de 2013.

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

PRESTES, O.D.; ADAIME, M,B.; ZANELLA, R. **QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos**. *Scientia Chromatographica*, v. 3(1), p. 51-64, 2011.

PRESTES, O.D.; PADILLA-SÁNCHEZ, J. A.; ROMERO-GONZÁLEZ, R.; GRIO, S. L.; FRENICH, A. G.; MARTÍNEZ-VIDAL, J. L. **Comparison of several extraction procedures for the determination of biopesticides in soil samples by ultrahigh pressure LC-MS/MS**. *Journal of Separation Science*, v. 35, p. 861–868, 2012.

RADJENOVIC, J.; JELIC, A.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. **Determination of pharmaceuticals in sewage sludge by pressurized liquid extraction (PLE) coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)**. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 393, p. 1685–1695, 2009.

RASHID, A.; NAWAZ, S.; BARKER, H.; AHMAD, I.; ASHRAF, M. **Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography–tandem mass spectrometry**. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, p. 2933–2939, 2010.

RAVI KUMAR, M. N. V. **A review of chitin and chitosan applications**. *Reactive & Functional Polymers*, v. 46, p. 1–27, 2000.

RENAME. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais.** Disponível em: < **http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/anexos_rename_2012_pt_533_11_06_2012.pdf**>. Acesso em 18 dez. 2012.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C.; **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** *Química Nova*, v. 27, p. 771 – 780, 2004.

RIBEIRO, F. L. M. **Quantificação e caracterização química dos resíduos da ETA de Itabiritu – MG**. *Dissertação de Mestrado em Engenharia Ambiental* do Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos, Universidade Federal de Ouro Preto, 2007.

ROUVIÈRE, F.; BULETÉ, A.; CREN-OLIVÉ, C.; ARNAUDGUILHEM, C. **Multiresidue analysis of aromatic organochlorines in soil by gaschromatography-mass spectrometry and QuEChERS extraction based on water/dichloromethane partitioning. Comparison with accelerated solvent extraction**. *Talanta,* v. 93, p. 336– 344, 2012.

SALVIA, M. V.; VULLIET, E.; WIEST, L.; BAUDOT, R.; CREN-OLIVÉ, C**. Development of a multi-residue method using acetonitrile-based extraction followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of steroids and veterinary and human drugs at trace levels in soil**. *Journal of Chromatography A*, v. 1245, p. 122– 133, 2012.

SAMARAS, V. G.; THOMAIDIS, N. S.; STASINAKIS, A. S.; LEKKAS, T. D. **An analytical method for the simultaneous trace determination of acidic pharmaceuticals and phenolic endocrine disrupting chemicals in wastewater and sewage sludge by gas chromatography-mass spectrometry**. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 399, p. 2549–2561, 2011.

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

SANCO (EUROPEAN COMMISSION), Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis, 3ª Edição, Documento N° SANCO/10476/2003, 5 de Fevereiro 2004, Bruxelas, Bélgica. 2010.

SILVA, C.M.M.S.; FAY, E.F. **Agrotóxicos e Ambiente***.* Embrapa Informações Tecnológicas - Brasília, 2004, p. 400.

SILVEIRA, M. A. K. **Otimização de método para determinação de PPCPs em água empregando SPE e LC-ESI-MS/MS.** *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, 2012.

SOARES, N. M.; MOURA, C.; VASCONCELOS, S.; RIZZI, J.; PINTO, L. A. A. **Obtenção e Purificação de Quitosana a Partir de Resíduos de Camarão em Escala Piloto.** *Revista UniVap,* v.10, p. 88 -92, 2003

SODRÉ, F. F.; PESCARA, I. C.; MONTAGNER, C. C.; JARDIM, W. F. **Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography–tandem mass spectrometry**. *Microchemical Journal*, v. 96, p. 92–98, 2010a.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. **Occurrence of Emerging Contaminants in Brazilian Drinking Waters: A Sewage-To-Tap Issue**. *Water Air Soil Pollution*, v. 206, p. 57–67, 2010b.

STACKELBERG, P. E.; GIBS, J.; FURLONG, E. T.; MEYER, M. T.; ZAUGG, S. D.; LIPPINCOTT, R. L**. Efficiency of conventional drinking-water-treatment processes in removal of pharmaceuticals and other organic compounds.** *Science of the Total Environment,* v. 377, p. 255 – 272, 2007.

STAHNKE, H.; KITTLAUS, S.; KEMPE, G.; ALDER, L. **Reduction of Matrix Effects in Liquid Chromatography−Electrospray Ionization−Mass Spectrometry by Dilution of the Sample Extracts: How Much Dilution is Needed?** *Analytical Chemistry,* v. 84, p.1474−1482, 2012

TADEO, J. L.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; ALBERO, B.; GARCÍA-VALCÁRCEL, A. I. **Determination of Pesticide Residues in Sewage Sludge: A Review**. *Journal of AOAC international,* v. 93, p. 1692 - 1702, 2010.

TEIXEIRA, S. R.; SANTOS, G. T. A.; SOUZA, A. E.; ALESSIO, P.; SOUZA, S. A.; SOUZA, N. R. **The effect of incorporation of a Brazilian water treatment plant sludge on the properties of ceramic materials**. *Applied Clay Science*, v. 53, p. 561–565, 2011.

VARGA, R.; SOMOGYVÁRI, I.; EKE, Z.; TORKOS, K. **Determination of antihypertensive and anti-ulcer agents from surface water with solid-phase extraction – liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry**. *Talanta*, v. 83, p.1447–1454, 2011.

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

XU, J.; LAOSHENG; W., CHANG, A. C. **Degradation and adsorption of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in agricultural soils**. *Chemosphere,* v. 77, p.1299-1305, 2009.

WATER RESEARCH FOUNDATION. Water Treatment Residuals Management for Small System. Disponível em: < **http://www.waterrf.org/PublicReportLibrary/91235.pdf**>. Acesso em: março de 2013.

WOMBACHER, W. D.; HORNBUCKLE, K. C**. Synthetic musk fragrances in a conventional drinking water treatment plant with lime softening**. *Journal of Environmental Engineering*, v. 135, p. 1192 – 1198, 2009.

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

ZHANG, J. M.; CHAI, W. G.; WU, Y. L. **Residues of chlorantraniliprole in rice field ecosystem**. *Chemosphere,* v. 87, p. 132–136, 2012.

ZHU, F. D.; CHOO, K. H.; CHANG, H. S.; LEE, B. **Interaction of bisphenol A with dissolved organic matter in extractive and adsorptive removal processes**. *Chemosphere*, v. 87, p. 857–864, 2012.

9. PRODUÇÃO CIENTÍFICA REFERENTE AO TRABALHO

CERQUEIRA, M. B. R.; CALDAS, S. S.; DUARTE, F. A.; PRIMEL, E.G**. Aplicação do método QuEChERS modificado para a extração de contaminantes emergentes em lodo de estação de tratamento de água.** In: 35 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (RASBQ), 2012, Águas de Lindóia. 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (RASBQ), 2012 – Apresentação oral na sessão coordenada de Química Ambiental.

CERQUEIRA, M. B. R**.**; GUILHERME, J. R.; ARIAS, J. L. O. ; MELLO, L. L.; CARDOSO, L. V.; CALDAS, S. S.**;** PRIMEL, E.G.. **ESTUDO DO MÉTODO QUECHERS E LC-ESI-MS/MS NA EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E PCPS EM LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ÁGUA**. In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012, Florianópolis. Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012.

CERQUEIRA, M. B. R.; GUILHERME, J. R.; BOLZAN, C. M.; ARIAS, J. L. O.; CALDAS, S. S**.**; MUNARETTO, J. S.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R**.;** PRIMEL, E.G**.. DETERMINAÇÃO DE PPCPS EM LODO DE ETA EMPREGANDO QUECHERS E UPLC-MS/MS**. In: Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012, Florianópolis. Congresso Latino-Americano de Cromatografia e Técnicas Relacionadas (COLACRO XIV), 2012.

CERQUEIRA, M. B. R.; ARIAS, J. L. O. ; CALDAS, S. S.**;** PRIMEL, E.G.. **Estudo de diferentes sorventes na etapa de DSPE durante a extração de agrotóxicos, fármacos e PCPs em lodo de ETA empregando QuEChERS**. In: XIX Encontro de Química da Região Sul, 2012, Tubarão - SC. XIX Encontro de Química da Região Sul, 2012.

CERQUEIRA, M. B. R.; GUILHERME, J. R.; CALDAS, S. S**.**; CARDOSO, L.V.; PRIMEL, E.G**.. ESTUDO DO MÉTODO QUECHERS E LC-ESI-MS/MS NA EXTRAÇÃO DE AGROTÓXICOS, FÁRMACOS E PCPS EM LODO DE ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ÁGUA**. In: XI Mostra da Produção Universitária, 2012, Rio Grande - RS. XIV Encontro de Pós-Graduação, 2012. – Trabalho destaque

CERQUEIRA, M. B. R.; PRIMEL, E.G.**;** CALDAS, S. S.; SILVEIRA, M. A. K.. **Otimização de método para determinação simultânea de contaminantes emergentes em lodo de Estação de Tratamento de Águas empregando cromatografia líquida**. In: XIII Encontro de Pós-Graduação, 2011, Rio Grande. X Mostra da Produção Universitária, 2011.

Participação da missão de estudo, do projeto Casadinho, no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Anexo I – Descrição dos sorventes empregados no trabalho

1. PSA (amina primária secundária)

O sorvente etilenodiamino-N-propil é uma amina primária e secundária (PSA) que atua como um trocador aniônico e pode interagir com outros compostos através de ligação de hidrogênio ou dipolo-dipolo. Possui forte interação com os compostos da matriz, sendo usado para remoção de vários coextrativos interferentes (Anastassiades *et al*., 2003). O diâmetro da partícula, utilizado foi de 40 µm.

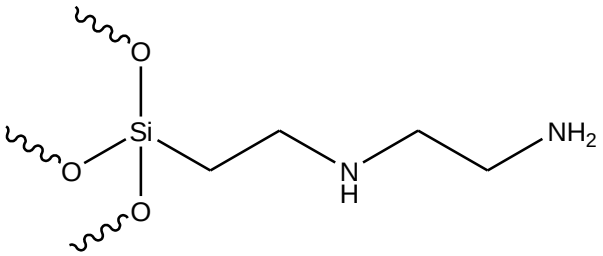


Figura 27. Estrutura da amina primária secundária (PSA)

2. C_{18} (octadecilsilano)

Devido as suas características, o C_{18} é bastante utilizado na remoção de interferentes apolares, tais como substâncias graxas e lipídeos (Lehotay *et al.*, 2005). O sorvente C_{18} utilizado possui 40 µm de diâmetro de partícula.

3. Carvão ativado

O carvão ativado comercial possui uma grande área superficial, com grupos altamente polares, com alto potencial para formação de ligação de hidrogênio. Devido a estas características, ocorre forte retenção de analitos planares que contenham um ou mais grupos ativos em sua estrutura, resultando em baixas recuperações para estes compostos (Anastassiades et al., 2003).

4. Quitina

A quitina, β-(1-4)-N-acetil-D-glucosamina é o segundo biopolímero mais abundante na natureza, depois da celulose, sendo encontrada no exoesqueleto de crustáceos, na parede celular de fungos e em outros materiais biológicos. A diferença

estrutural entre a quitina e a celulose se deve ao grupo hidroxila localizado na posição dois, que na quitina está substituído por grupos acetamino (Ravi Kumar, 2000). A Figura 28 apresenta a estrutura da quitina.

A quitina é insolúvel em água, solventes orgânicos, ácidos diluídos e álcalis, e apresenta uma forma de sólido cristalino ou amorfo. Devido a sua versatilidade, a quitina pode ser utilizada como agente floculante no tratamento de efluentes, como adsorvente na clarificação de óleos e, principalmente, na produção de quitosana (Moura *et al*., 2006).

A quitina utilizada neste trabalho foi obtida de resíduos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis*), produzida no Laboratório de Operações Unitárias da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), conforme procedimento desenvolvido por Soares *et al*., 2003. O diâmetro de partícula da quitina utilizada neste trabalho foi entre 62 – 76 µm.

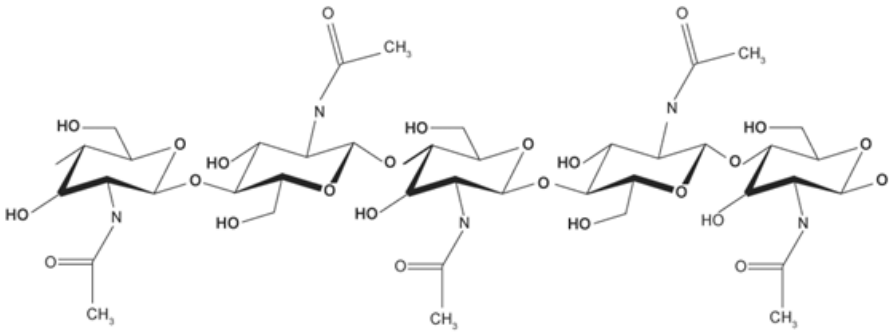


Figura 28. Estrutura da quitina