



FURG

Dissertação de Mestrado

ESTUDO DE MÉTODOS EMPREGANDO SPE, QuEChERS e LC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE PARABENOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E LODO DE ETA

Ana Victoria Marta Sanchez

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

**ESTUDO DE MÉTODOS EMPREGANDO SPE, QuEChERS e LC-MS/MS
PARA DETERMINAÇÃO DE PARABENOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E
LODO DE ETA**

por

ANA VICTORIA MARTA SANCHEZ

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

2017

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

**ESTUDO DE MÉTODO EMPREGANDO SPE, QuEChERS e LC-MS/MS
PARA DETERMINAÇÃO DE PARABENOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E
LODO DE ETA**

elaborada por

ANA VICTORIA MARTA SANCHEZ

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

COMISSÃO EXAMINADORA

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

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

Prof. Dr. Renato Zanella (Universidade Federal de Santa Maria - RS)

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

Rio Grande, 30 de Janeiro de 2017.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a **Deus** por cada dia de vida e saúde para mim e meus seres queridos, por sempre me guiar, por me ensinar a valorizar as pequenas recompensas do dia a dia e por sempre colocar no meu caminho pessoas de bom coração. A **Virgen de Coromoto** padroeira da Venezuela por essa segunda oportunidade de vida.

Ao **Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel** pela oportunidade de pertencer a seu grupo de pesquisa, pelas orientações, pela amizade, pela confiança e pelos momentos de reflexão. Bençoes para você e a sua família sempre!

A **Dra. Sergiane Caldas Barbosa**, pelas palavras de incentivo, sugestões e ideias sempre oportunas, a minha infinita gratidão. Muita obrigada a você e a sua família por me abrir as portas da seu lar, infinitas bençoes.

A **Prof. Dra. Daiane Diaz** pela disposição na participação do exame de qualificação, pelas valiosas sugestões na finalização deste estudo e por suas orientações ao longo do mestrado nas disciplinas de Química Analítica e Estagio de Docência.

A **Dra. Liziane Vaz Cardoso**, pela disposição em participar no exame de qualificação e pelas valiosas sugestões que permitiram acrescentar o estudo. Assim como, pela amizade e por sua sempre disponibilidade em ajudar. Sucesso eterno para você e a sua família.

A **Dra. Larine Kuspki**, pelas valiosas sugestões na finalização deste estudo. Você é exemplo de uma pessoa realmente apaixonada pelo que faz, minha admiração por isso.

Ao **Prof. Dr. Renato Zanella**, pela disposição na participação na defesa da dissertação e pelas valiosas sugestões que permitiram acrescentar o estudo.

Ao **Prof. Dr. Bruno Meira Soares**, pela disposição em participar na defesa da dissertação e pelas valiosas sugestões que acrescentaram o estudo. Além disso, pela amizade e apoio durante o mestrado. Sucesso para você na vida acadêmica.

Aos meus amores meus pais, **Ana Maria e Francisco**, obrigada por me dar a vida, pelos valores, pela educação e por sempre me apoiar e confiar em mim. Suas palavras no dia a dia foram meu combustível à distância ao longo deste desafio. A **Azabache** por sempre estar fazendo um barulhinho no Skype.

A **minha família** sanguínea e de coração, German, Saul, Maria, Myriam, Flor, Maria del Carmen, Alfonso, Susana, Daniel, Isabel, Eneida e demais amigos que sempre torceram por mim. Obrigada por sempre estar presente, bençoes para vocês.

Aos meus **Panas Venezuelanos** minha família de coração, Ana, Emily, Soleil, Monica, Yuleibiz, Leidy, Egilda, Rodmary, Romarie, Rosana, Carlos, Rafael, Edmig, Alirio, Sergio, Anthony, Eloy. Porque a distância é relativa quando a amizade é verdadeira.

A os meus irmãos **Centro-americanos**. A Dianita por todos os momentos de diversão ao longo da convivência, pelas conversas e os momentos de reflexão lembranças inesquecíveis. Jahircito, obrigada pela convivência, pelas brincadeiras e por todo o apoio no laboratório. Só sucesso na suas vidas!

A minha **Família internacional OEA-2014**, Veronica, Maria, Paola, Karen, Ileana, Cesar P., Cesar R., Robert e aos adotados Diego e Hadã pessoas maravilhosas. Obrigada por me permitir conhecer através de vocês um pouco da diversidade cultural nas Américas. Sucesso galera!

A **Jean e a Antunielle**, por todo o apoio recebido desde o primeiro dia no LACOM, por me abrir as portas de seu lar e sua compartilhar com sua família. Eternamente agradecida como vocês. Minha família carioca-gaúcha!

Aos **Colegas do LACOM**, os quais me acompanharam nestes dois anos do mestrado obrigada pela acolhida, pela parceria e ajuda. Me levo muitas experiências e um grande aprendizado do "Time LACOM".

A **Joanita a Elisane** pela acolhida e pelos momentos de desconcentração no dia a dia do laboratório, muitas lembranças com vocês.

A **Sônia Maria**, minha admiração por você por sua valentia e perseverança, com certeza a gente vai se reencontrar novamente.

A **Andressita**, pela amizade e ajuda. Muito sucesso colega!

Ao **Augustito**, pela sua ajuda e parceria.

Aos **ICs** do LACOM por sua valiosa ajuda, sempre proativos e dispostos, muito obrigada.

Às **Prof. Maria Prado** e a **Prof. Angela Boeno** pelas aulas de português e pelas vivencias que me ajudaram na minha formação e no cumprimento das minhas atividades acadêmicas.

Ao todo o pessoal da EQA, em especial a **Rosane** por sua ajuda sempre oportuna nos tramites durante o mestrado.

A **OEA** e o **Grupo Coimbra**, pela oportunidade e pela experiência como “Becaria”.

A **FURG**, pela acolhida e a oportunidade acadêmica.

Ao **Programa de Pós-graduação de QTA** pela acolhida como estudante estrangeira, em especial ao professores que participaram na minha formação como mestranda.

A **CAPES** pela bolsa e demais órgãos de fomento pelos recursos fornecidos para o desenvolvimento do projeto.

Ao **Brasil**, por me brindar a oportunidade de conhecer outra cultura, suas tradições e brincadeiras.

Aos **meus amigos Brasileiros** pela acolhida na chegada no país e pelos momentos de confraternização.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

“É na experiência da Vida que o homem evolui.”
Harvey Spencer Lewis

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xv
RESUMO.....	xviii
1. INTRODUÇÃO	20
2. OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 Desreguladores endócrinos.....	23
3.2 Parabenos.....	24
3.2.1 Fontes de exposição ambiental	27
3.2.2 Ocorrência de parabenos em seres humanos	29
3.2.3 Ocorrência na biota.....	30
3.2.4 Legislação internacional e nacional	32
3.3 Preparo de amostra.....	32
3.3.1 Extração em fase sólida (SPE)	40
3.3.2 QuEChERS.....	41
3.4 Determinação de PBs por cromatografia.....	42
3.4.1 Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série (LC-MS/MS).....	42
3.5 Amostras ambientais	45
3.5.1 Qualidade das águas e saneamento	45
3.5.2 Água de abastecimento	45
3.6 Amostra comercial.....	47

3.6.1 Água mineral.....	47
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
4.1 Instrumentação.....	49
4.2 Reagentes, solventes e materiais	49
4.3 Preparo das soluções analíticas.....	51
4.4 Seleção dos analitos para o estudo	51
4.5 Amostras	51
4.5.1 Água de abastecimento	51
4.5.2 Água mineral sem gás	51
4.5.3 Lodo.....	52
4.6 Sistema cromatográfico para determinação de parabenos em amostras ambientais	52
4.6.1 Preparo da fase móvel.....	52
4.6.2 Escolha da composição, vazão da fase móvel e modo de eluição em coluna C18 capeada	53
4.6.3 Condições do espectrômetro de massas.....	53
4.7 Extração em fase sólida (SPE).....	53
4.8 QuEChERS	54
4.9 Validação dos métodos	56
4.9.1 Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ).....	56
4.9.2 Curva analítica e linearidade	57
4.9.3 Efeito Matriz (EM)	58
4.9.4 Exatidão.....	59
4.9.5 Precisão.....	60
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	61
5.1 Seleção das melhores condições de detecção no espectrômetro de massas	61
5.3 SPE	70
5.3.1 Efeito do pH para amostras aquosas.....	70
5.3.2 Condições da SPE selecionada.....	72
5.3.3 Validação do método empregando SPE e LC-MS/MS.....	73

5.3.4 Comparação da SPE validada para a determinação de parabenos, incluindo isômeros com outros métodos SPE empregados em amostras aquosas.....	81
5.4 QuEChERS	84
5.4.1 Teste preliminar	84
5.4.2 Validação do método empregando QuEChERS e LC-MS/MS.....	84
5.4.3 Comparação do QuEChERS validado para a determinação de parabenos com outros métodos empregados em amostras sólidas ambientais	91
6. CONCLUSÕES	95
7. TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS	96
8. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS.....	97
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
10. PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	110

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fontes de exposição para seres vivos e vias de contaminação no ambiente por PBs Adaptado de (BŁĘDZKA <i>et al.</i> , 2014)	28
Figura 2. Método de preparo de amostra nas etapas de identificação e quantificação do método oficial da EU para determinação de parabenos em cosméticos (EU, 1996).....	34
Figura 3. Etapas envolvidas na SPE (CALDAS <i>et al.</i> , 2011).....	40
Figura 4. Diagrama dos componentes gerais do acoplamento de cromatografia líquida com a espectrometria de massas (LC-ESI-MS/MS) e análises por SRM. Adaptação de (BOJA e RODRIGUEZ, 2011; CHROMACADEMY, 2016b)	44
Figura 5. Fluxograma do tratamento de água	46
Figura 6. Fluxograma do método QuEChERS utilizado na análises de parabenos em lodo de ETA úmido.....	55
Figura 7. Relação sinal/ruído para o cálculo de limites instrumentais.	56
Figura 8. Condições de fragmentação e espectro de massa obtido no modo SRM para cada um dos PBs em uma solução padrão 1 mg L ⁻¹	62
Figura 9. Área do pico para os analitos ionizados no modo negativo empregando como modificador o ácido acético 0,1%, acetato de amônio 5 mM e sem modificador. Condições de eluição MeOH/água 60:40, Isocratico, 0,2 mL min ⁻¹ . Barras de erro representam o desvio padrão relativo (n=3, 3 injeções).....	65
Figura 10. Isômeros IsPPB, PPB, IsBPB e BPB	65
Figura 11. Área do pico para os analitos ionizados no modo negativo com o uso de ácido fórmico 0,1% como modificador e sem modificador em fase móvel ternária (ACN/MeOH/água 25:75, Gradiente, 0,4 mL min ⁻¹) no modo gradiente. Barras de erro representam o desvio padrão relativo (n=3, 3 injeções).....	66
Figura 12. Separação cromatográfica obtida para a mistura de padrões em fases móveis binárias: ACN/água 25:75 (a), MeOH/água 40:60 (b) e ternária ACN/MeOH 50:50 /água 25:75 (c) em coluna capeada Kinetex C18 Phenomenex.....	68
Figura 13. Variação na percentagem (%) de dissociação do metilparabeno e sua espécie dissociada	72
Figura 14. Efeito matriz (água de abastecimento) para os analitos na condição acidificada (pH=3)	77

Figura 15. Recuperações dos PBs estudados na concentração de $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ em lodo de ETA	84
Figura 16. Efeito matriz dos parabenos em lodo de ETA	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. EDCs comumente usados na vida diária. Adaptado de (KABIR <i>et al.</i> , 2015)	23
Tabela 2. Concentrações de PBs encontradas em matrizes ambientais	24
Tabela 3. Características físico-químicas dos parabenos	25
Tabela 4. Estudos recentes em diversas matrizes biológicas humanas onde foram encontrados parabenos.....	29
Tabela 5. Comparação de valores predito (PBT profiler) de bioconcentração e toxicidade crônica em peixe comparados com valores encontrados em estudos ambientais. Adaptação de (FATTA-KASSINOS <i>et al.</i> , 2009)	31
Tabela 6. LMP quanto ao uso de parabenos em produtos cosméticos	32
Tabela 7. Revisão de trabalhos para extração de parabenos em amostras aquosas ...	36
Tabela 8. Revisão de trabalhos para extração de parabenos em amostras ambientais sólidas	38
Tabela 9. Revisão de estudo que utilizaram colunas C18 na separação de isômeros de PBs.....	69
Tabela 10. Condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS	70
Tabela 11. Condições de eluição empregadas no modo gradiente.....	70
Tabela 12. Recuperações (R%) para a condição não acidificada (pH=6) e acidificada (pH=3) na concentração 0,05 mg L ⁻¹ em água de abastecimento	71
Tabela 13. Limite de detecção instrumental (LODi), Limite de Quantificação instrumental (LOQi), limite de detecção do método (LODm) e limite de quantificação do método (LOQm)	73
Tabela 14. Resultados obtidos para as curvas analíticas no solvente e no extrato da matriz	74
Tabela 15. Recuperações (%) e precisão (RSD) em termos de repetitividade e precisão intermediária para os analitos nos diferentes níveis de fortificação	76
Tabela 16. Propriedades físico-químicas para as amostras aquosas usadas na verificação da aplicabilidade do método validado	78
Tabela 17. Concentrações dos analitos detectados em diferentes amostras de água mineral	80

Tabela 18. Estudos recentes que determinaram parabenos em matrizes aquosas usando SPE	82
Tabela 19. Limite de detecção instrumental (LODi), Limite de Quantificação instrumental (LOQi), limite de detecção do método (LODm) e limite de quantificação do método (LOQm)	85
Tabela 20. Resultados obtidos para as curvas analíticas no solvente e no extrato da matriz	86
Tabela 21. Recuperações (%) e precisão (RSD) em termos de repetitividade e precisão intermediária para os analitos nos diferentes níveis de fortificação	88
Tabela 22. Propriedades físico-químicas para as amostras de lodo de ETA usadas na validação e aplicabilidade do método.....	90
Tabela 23. Concentrações dos analitos detectados em diferentes amostras de lodo de ETA	91
Tabela 24. Estudos recentes que determinaram parabenos em matrizes ambientais sólidas ambientais.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

1. ϵ , força eluotrópica
2. ADN, ácido de desoxirribonucleico
3. \bar{A}_n , Média das media aritmética em replicada
4. APCI, ionização química a pressão atmosférica, do inglês *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*
5. ASTM, Associação americana para ensaios e materiais, do inglês *American Society for Testing and Materials*
6. BA μ E, Microextração por barra adsorptiva, do inglês *Bar Adsorptive Microextraction*
7. BA μ E- μ LD, Microextração adsorptiva com desorção em microlíquido, do inglês *Bar Adsorptive Microextraction with Microliquid Desorption*
8. BPB, Butilparabeno
9. BzPB, Benzilparabeno
10. CORSAN, Companhia Riograndense de Saneamento
11. DAD, Detector de arranjo de diodos
12. d-SPE, Extração em fase sólida dispersiva, do inglês *Dispersive Solid Phase Extration*
13. EDCs, Desreguladores endócrinos químicos, do inglês *Endocrine Disrupting Chemicals*
14. EDS, Espectroscopia de Energia Dispersiva, do inglês *Energy Dispersive Spectroscopy*)
15. LLE, Extração líquido-líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*
16. EM, Efeito matriz
17. EPA, Agência de proteção ambiental, do inglês *Enviromental Protection Agency*
18. EPB, Etilparabeno
19. ESI, Ionização por eletronebulização, do inglês ESI, *Eletrospray Ionization*
20. ETA, Estação de Tratamento de água
21. ETE, Estação de tratamento de esgoto
22. HpPB, Heptilparabeno
23. IsBPB, Isobutilparabeno

24. ISO, Organização internacional de standardização, do inglês *International Organization for Standardization*
25. IsPPB, Isopropilparabeno
26. LC, Cromatografia líquida, do inglês *Liquid Chromatography*
27. LC-MS/MS, Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série, do inglês *Liquid chromatography tandem mass spectrometry*
28. LMP, Limites máximos permissíveis
29. LOD, Limite de detecção, do inglês *Limit of Determination*
30. LODi, Limite de detecção instrumental
31. LODm, Limite de detecção do método
32. Log K_{oc}, Coeficiente de adsorção de carbono orgânico
33. Log K_{ow}, Coeficiente de partição octanol-água
34. LOQ, Limite de quantificação, do inglês *Limit of Quantitation (Quantification)*
35. LOQi, Limite de quantificação instrumental
36. LOQm, Limite de quantificação do método
37. MEV, Microscopia Eletrônica de Varredura
38. MPB, Metilparabeno
39. SRM, Monitoramento de reação selecionada, do inglês *Selected Reaction Monitoring*
40. MS/MS, Espectrometria de massas em série, do inglês *Tandem Mass Spectrometry*
41. MSPD, Dispersão da matriz em fase sólida, do inglês *Matrix Solid Phase Dispersion*
42. OcPB, Octilparabeno
43. PBs, Parabenos
44. PePB, Pentilparabeno
45. pHBA, ácido p-hidroxibenzóico
46. PhPB, Fenilparabeno
47. pKa, Constante de dissociação ácida
48. PLE, Extração por líquido pressurizado, do inglês *Pressurized Liquid Extraction*
49. PPB, Propilparabeno
50. PPCPs, Fármacos e Produtos de cuidado pessoal, do inglês *Pharmaceuticals and Personal Care Products*

- 51. PTFE, Politetrafluoroetileno
- 52. QuEChERS, do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*.
- 53. r, Coeficiente de correlação
- 54. R², Coeficiente de determinação
- 55. R, Percentagem de recuperação do analito
- 56. RSD, Desvio padrão relativo percentual
- 57. s, Estimativa do desvio padrão absoluto
- 58. s/r, relação sinal/ruído
- 59. SBSE, Extração sortiva em barra de agitação, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*
- 60. SPE, Extração em fase sólida, do inglês *Solid Phase Extration*
- 61. SPME, Microextração em fase sólida, do inglês *Microextration Phase Solid*
- 62. t_R, tempo de retenção
- 63. UE, União Europeia, do inglês *European Union*
- 64. UV-Vis, Ultravioleta visível
- 65. VA-D-m-SPE, Microextração em fase sólida assistida por vortex dispersivo, do inglês *Vortex-Assisted Dispersive Micro-Solid-Phase Extraction*

RESUMO

Título: ESTUDO DE MÉTODOS EMPREGANDO SPE, QuEChERS e LC-MS/MS PARA EXTRAÇÃO DE PARABENOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA E LODO DE ETA

Autor: Eng. Ana Victoria Marta Sanchez

Orientador: Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel

O desenvolvimento de técnicas de preparo de amostra para a determinação de contaminantes com efeitos estrogênicos como os parabenos, os quais são utilizados em diversos fármacos e produtos de cuidado pessoal representam um desafio na ciência dado seu amplo uso em produtos de consumo massivo. Técnicas como a extração em fase sólida (SPE) e o QuEChERS tem sido utilizados na extração de parabenos em matrizes ambientais. Dessa forma, este estudo teve como objetivo estudar dois métodos empregando técnicas consideradas oficiais para a análises de diversos compostos, para extração de nove parabenos em amostras aquosas e em lodo de estação de tratamento de água (ETA). As determinações foram realizadas por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série. A exatidão foi avaliada nos níveis equivalentes ao limite de quantificação (LOQ), 5LOQ e 10LOQ. Os valores estiveram entre 70-115% para a SPE e 58-96% para o QuEChERS, com desvios padrões relativos menores que 20% para ambos. As curvas analíticas apresentaram valores de coeficientes de correlação $r > 0,99$ para ambos métodos. O efeito matriz avaliado foi baixo para a maioria dos compostos nas matrizes aquosas e no lodo de ETA. A aplicabilidade do método SPE validado foi realizada em amostras de água de abastecimento e água mineral. A aplicabilidade do QuEChERS foi realizada em amostras de lodo de ETA. Metilparabeno (MPB) foi detectado na maioria das amostras. Comparado com outros métodos da literatura os métodos validados apresentam as vantagens de serem simples e de baixo custo.

Palavras-chaves: PPCPs; SPE; QuEChERS; Parabenos; Desregulador Endócrino.

ABSTRACT

Title: STUDY OF METHODS SPE, QuEChERS AND LC-MS / MS FOR DETERMINING PARABENS AQUEOUS MATRIX AND TREATMENT SLUDGE.

Author: Eng. Ana Victoria Marta Sanchez

Advisor: Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel

Development of sample preparation techniques for the determination of contaminants with estrogenic effect as the parabens used in various pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) represent a challenge for science given its widespread use in consumer products. Technics such as Solid Phase Extraction (SPE) and QuEChERS has been used in the extraction of parabens in environmental matrices. The aim of this study was to evaluate two methods employing technics that are considered official for the analysis of various compounds, for the extraction of nine parabens in water samples and drinking water treatment sludge. Determinations were performed by Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry. Accuracy was assessed at limit of quantification (LOQ), 5LOQ, and 10LOQ levels. Values were between 70-115% for SPE and 58-96% for QuEChERS. Relative standard deviations were lower than 20% for both. Analytical curves showed correlation coefficient values $r > 0.99$ in both methods. Matrix effect showed to be low for most of the compounds in aqueous matrices and in the drinking water treatment sludge. Applicability of the validated SPE method was applied to drinking and mineral water samples. QuEChERS applicability was carried out in drinking water treatment sludge samples. Methylparaben (MPB) was detected in almost all samples. Compared with previous published methods, the proposed ones have the advantage of being simple and inexpensive.

Keywords: PPCPs; SPE; QuEChERS; Parabens; Endocrine Disruptor.

1. INTRODUÇÃO

O estudo da ocorrência dos contaminantes emergentes nos ecossistemas representa um desafio para a química analítica, visto que com o constante desenvolvimento de novos compostos químicos deixando evidente a necessidade de novos estudos que determinem a presença destes compostos exógenos no ser vivo e o ambiente. A água doce é um recurso natural limitado representando só 2,5% da água na hidrosfera (SHIKLOMANOV e RODDA, 2004). Além disso, ela é essencial para a vida humana e a sustentabilidade ambiental sendo uma das matrizes ambientais mais complexa e dinâmica comumente avaliada como parte da implementação de medidas legislativas que fiscalizam a contaminação química da água e os riscos associados (BARCELO e LÓPEZ, 2008).

A poluição em ambientes aquáticos por contaminantes como os parabenos (PBs) tem sido evidenciada por diversos autores em estudos ambientais no mundo (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2015). Os PBs são amplamente usados como conservantes em fármacos e produtos de cuidado pessoal (PPCPs, do inglês *Pharmaceutical and Personal Care Products*) (BŁĘDZKA *et al.*, 2014), tendo como principais vias de exposição humana a ingestão, a inalação e a exposição dérmica (LARSSON *et al.*, 2014).

PBs são considerados Desreguladores Endócrinos (EDCs, do inglês *Endocrine Disrupting Chemicals*) e tem sua origem nas atividades humanas. Existem diversas vias de contaminação do ambiente pelos PBs, sendo os efluentes residuais umas das principais. O uso de conservantes tem sido relacionado com perturbações na atividade estrogênica do sistema endócrino em seres vivos (MÁRQUEZ-SILLERO *et al.*, 2010), sendo mais prejudicial nos primeiros anos de vida onde este sistema comanda os processos de formação dos organismos (RODRÍGUEZ-GÓMEZ *et al.*, 2014). Outros efeitos evidenciados são a diminuição do peso dos órgãos reprodutores (KANG *et al.*, 2002), a redução na qualidade do sêmen, diminuição na secreção de testosterona (OISHI, 2002), incidência e redução da eficácia nos tratamentos de câncer de mama (BYFORD *et al.*, 2002), incremento no crescimento de células de câncer (DARBRE e CHARLES, 2010) e alterações no ácido desoxirribonucleico (DNA) (PARK *et al.*, 2012).

Sendo os PPCPs a principal fonte destes compostos (BŁĘDZKA *et al.*, 2014), o foco principal das legislações é o uso controlado de parabenos na formulação de

produtos cosméticos sendo permitido seu uso na quantidade de 0,4% como uso individual e 0,8% como mistura (EU, 2014b).

Embora a detecção de parabenos em matrizes ambientais nas últimas décadas tenha sido amplamente reportada, não existem métodos oficiais na legislação Brasileira e internacional que regulem sua ocorrência no meio ambiente. Estudos em efluentes residuais já tratados (LI *et al.*, 2015a), lodo de ETA e lodo de estação de tratamento de efluentes (ETE), evidenciam a presença de parabenos não eliminados pelos diferentes processos físico-químicos nas ETE, tendo as reservas hídricas como destino de disposição final destes efluentes tratados. Resíduos sólidos gerados nas ETA e ETE (lodo) classificados como inertes (ABNT, 2004a), são fontes de contaminação de recursos hídricos (IBGE, 2008) uma vez que estudos evidenciaram a presença de PBs (YU *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2015a).

A Agência de Proteção Ambiental (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) conta com um método para determinação de 12 PPCPs em água potável (EPA, 2016b), assim como, mais de 70 PPCPs em matrizes ambientais (água bruta, solo, sedimentos, biosólidos) (EPA, 2007). No entanto, os parabenos não estão contemplados. Ambos métodos estão baseados na Extração em Fase Sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) como técnica de preparo de amostra. Diante do exposto destaca-se a importância de estudar métodos rápidos e precisos para a determinação de parabenos em matrizes ambientais que auxiliem no monitoramento destes compostos, e possibilitem a geração de dados para o estabelecimento de limites máximos permissíveis (LMP).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Validar métodos empregando SPE, QuEChERS e LC-MS/MS para determinação simultânea de nove parabenos, incluindo isômeros lineares e ramificados, em amostras de água e lodo de ETA.

2.2 Objetivos específicos

1. Seleção das matrizes, considerando sua importância como recurso para a vida humana e a sustentabilidade dos ecossistemas, frequência como via de exposição em seres humanos e impacto no meio ambiente como fonte de contaminação.
2. Seleção dos parâmetros instrumentais, considerando parâmetros qualitativos como resposta do instrumento e separação cromatográfica, incluindo isômeros lineares e ramificados em coluna C18 capeada.
3. Estudo da viabilidade dos métodos de preparo de amostra, SPE e QuEChERS para análise de amostras de água e lodo de ETA.
4. Seleção e validação dos métodos, avaliando: efeito matriz, curva analítica, linearidade, limites de quantificação e detecção, exatidão e precisão, critérios estabelecidos em guias internacionais e nacionais para a validação de métodos de analíticos.
5. Avaliação da ocorrência de parabenos em água de abastecimento, água mineral e lodo de ETA em Rio Grande, RS, Brasil.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Desreguladores endócrinos

Os EDCs são definidos como agentes exógenos que interferem com a produção, liberação, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais no organismo responsáveis pela manutenção da homeostase e a regulação de processos de desenvolvimento (BŁĘDZKA *et al.*, 2014).

As misturas complexas de poluentes que ocorrem no ambiente têm mostrado atividade antiestrogênica, incluindo mais de 800 compostos que foram encontrados no ar, na terra, na água potável, alimentos de origem vegetal e animal, produtos para cuidados pessoais, combustíveis, produtos farmacêuticos e hormônios sintéticos (DE COSTER e VAN LAREBEKE, 2012).

Existe uma extensa lista de EDCs potenciais entre eles os plastificantes (bisfenol A, ftalatos), surfactantes (fenóis alquilados), conservantes em produtos cosméticos e farmacêuticos (parabenos), bifenilas policloradas (PCBs) (do inglês, *polychlorinated biphenyls*), entre outros (SCOGNAMIGLIO *et al.*, 2016). Na Tabela 1, são apresentados os EDCs comumente usados na vida diária.

Tabela 1. EDCs comumente usados na vida diária. Adaptado de (KABIR *et al.*, 2015)

EDCs	Uso comum
DDT, Atrazina, Glifosato	Agrotóxicos
Chumbo, Ftalatos, Cadmio	Produtos para crianças
Ftalatos	PPCPs, peças plásticas
Triclosan	Antibacteriais
Parabenos, Ftalatos	PPCPs, Produtos de limpeza
Alquifenois	Surfactantes usados em detergentes
Esteroides sintéticos	Anticonceptivos

Nos últimos anos preocupações têm sido levantadas sobre o potencial de desregulação endócrina de parabenos em níveis de exposição elevados (EPA, 2013), tornando claro que exercem uma série de efeitos adversos, quando são introduzidos em ambientes naturais e conseqüentemente aos organismos vivos (FLASIŃSKI *et al.*, 2016) nas primeiras etapas de crescimento. Na Tabela 2, são apresentadas concentrações de

PBs encontradas em diferentes matrizes ambientais, evidenciando a presença de estes compostos exógenos em diferentes compartimentos e biota.

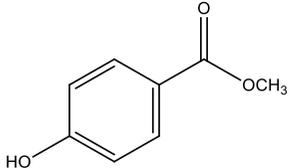
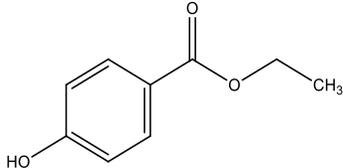
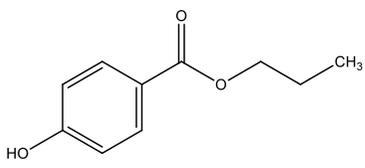
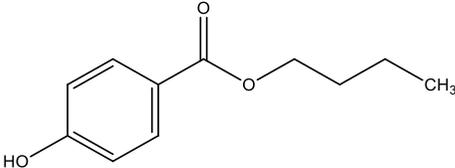
Tabela 2. Concentrações de PBs encontradas em matrizes ambientais

Matriz	Concentração encontrada	Referência
Poeira	A partir de 0,0035 ng g ⁻¹	(LABORIE <i>et al.</i> , 2016)
águas residuais	A partir de 15 ng L ⁻¹	(CARMONA <i>et al.</i> , 2014)
águas superficiais	A partir de 0,2 ng L ⁻¹	(RENZ <i>et al.</i> , 2013)
Lodo de ETE	A partir de 400 ng g ⁻¹	(LI <i>et al.</i> , 2015b)
Solo	A partir de 1500 ng g ⁻¹	(FERREIRA <i>et al.</i> , 2011)
Sedimento	A partir de 3 ng g ⁻¹	(CARMONA <i>et al.</i> , 2014)
Plantas e biota	A partir de 21300 ng L ⁻¹	(HAN <i>et al.</i> , 2016)

3.2 Parabenos

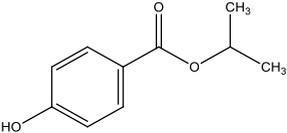
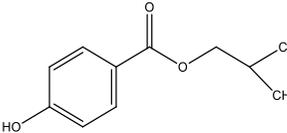
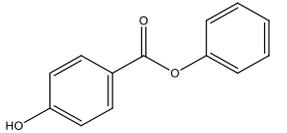
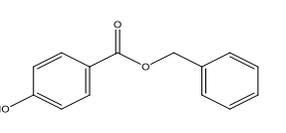
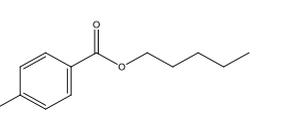
Em termos de estrutura química os PBs, são ésteres do ácido p-hidroxibenzóico (pHBA), com substituintes alquila variando de metil até butil ou grupos benzil (BŁĘDZKA *et al.*, 2014). Na Tabela 3, são apresentadas as diversas propriedades físico-químicas dos PBs comumente usados em PPCPs e determinados em matrizes biológicas e ambientais: metilparabeno (MPB), etilparabeno (EPB), propilparabeno (PPB), isopropilparabeno (IsPPB), butilparabeno (BPB), isobutilparabeno (IsBPB), benzilparabeno (BzPB), fenilparabeno (PhPB) e pentilparabeno (PePB); os quais apresentam caráter ácido, moderada lipofilicidade e moderada solubilidade em água.

Tabela 3. Características físico-químicas dos parabenos

Parabeno	Metilparabeno (MPB)	Etilparabeno (EPB)	Propilparabeno (PPB)	Butilparabeno (BPB)
Formula molecular	C ₈ H ₈ O ₃	C ₉ H ₁₀ O ₃	C ₁₀ H ₁₁ O ₃	C ₁₁ H ₁₄ O ₃
Estrutura Molecular				
Peso molecular (g mol ⁻¹)	152,15	166,17	180,20	194,23
pKa	8,17	8,22	8,35	8,37
Log K _{ow}	2,0	2,49	2,98	3,47
Log K _{oc}	2,099	2,365	2,631	2,896
Solubilidade em água a 25 °C (mg L ⁻¹)	5981	1894	529,3	159

Fonte: (ALMEIDA e NOGUEIRA, 2014; CABALEIRO *et al.*, 2014; CHEMSPIDER, 2015)

Tabela 3. Características físico-químicas dos parabenos (Continuação)

Parabeno	Isopropilparabeno (IsPPB)	Isobutilparabeno (IsBPB)	Fenilparabeno (PhPB)	Benzilparabeno (BzPB)	Pentilparabeno (PePB)
Formula molecular	$C_{10}H_{12}O_3$	$C_{11}H_{14}O_3$	$C_{13}H_{10}O_3$	$C_{14}H_{12}O_3$	$C_{12}H_{16}O_3$
Estrutura molecular					
Peso molecular (g mol ⁻¹)	180,22	194,23	214,21	228,24	208,25
pKa	n.d	8,17	8,40	8,18	8,50
Log K _{ow}	2,91	3,40	3,21	3,70	3,96
Log K _{oc}	2,554	2,820	3,438	3,703	3,162
Solubilidade em água a 25 °C (mg L ⁻¹)	689,7	223,7	253	107,8	62,47

n.d: não disponível Fonte: (ALMEIDA e NOGUEIRA, 2014; CABALEIRO *et al.*, 2014; CHEMSPIDER, 2015)

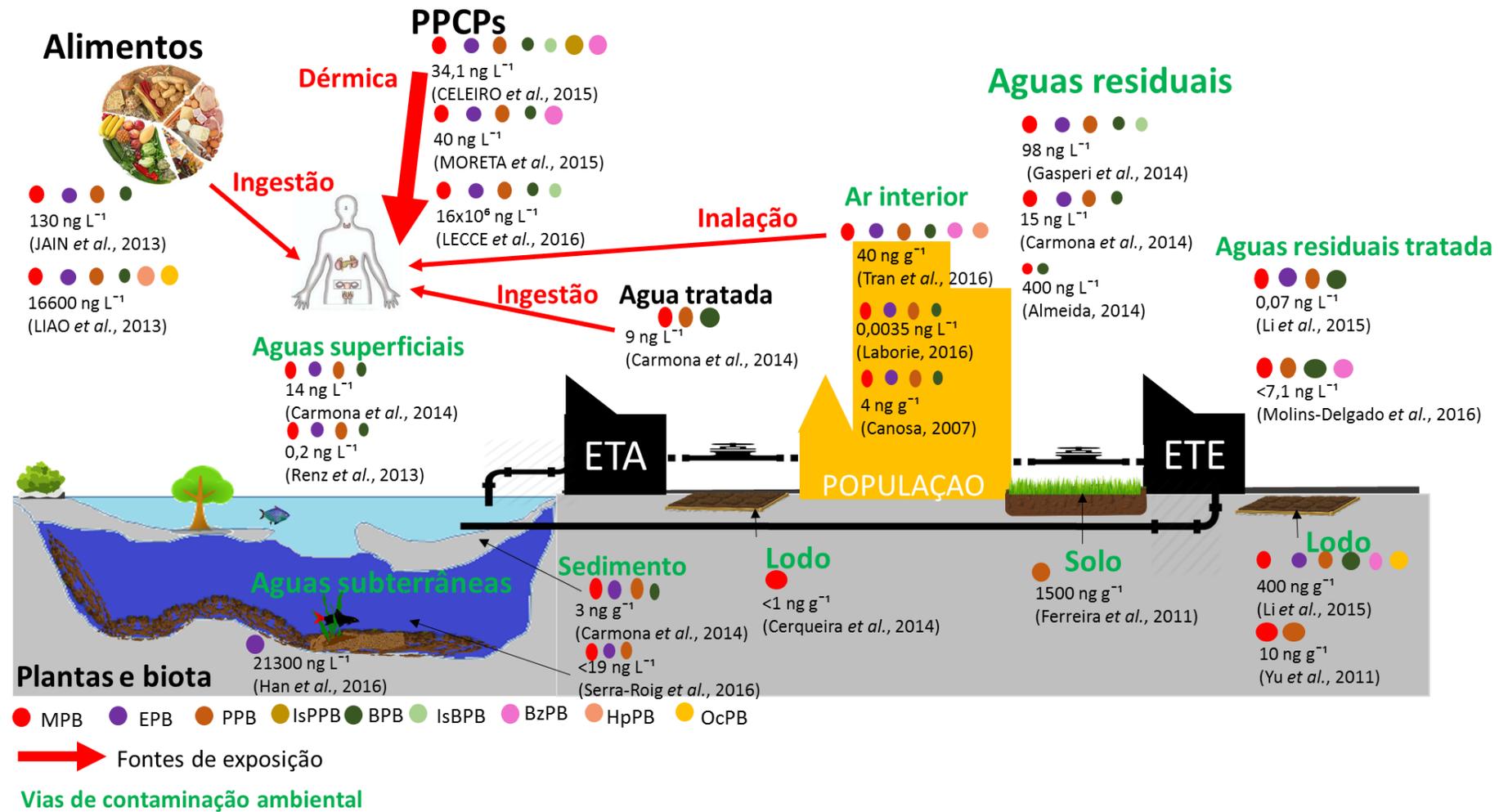
3.2.1 Fontes de exposição ambiental

Os PPCPs constituem a principal fonte de exposição a parabenos (BŁĘDZKA *et al.*, 2014). O amplo uso em todo o mundo de PBs tem resultado na ocorrência ubíqua destes compostos no meio ambiente (BŁĘDZKA *et al.*, 2014) gerando preocupação sobre seus possíveis efeitos a longo prazo na saúde humana e na vida silvestre (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2009).

Na última década diversos estudos evidenciaram a presença de PBs em diversas matrizes ambientais (Figura 1), como em águas continentais, cuja presença pode ser atribuída em grande parte à descargas de ETE e fábricas (HAMAN *et al.*, 2015).

Da mesma maneira, parabenos já foram detectados em solos (FERREIRA *et al.*, 2011), sedimentos (CARMONA *et al.*, 2014), plantas e biota marinha (HAN *et al.*, 2016), lodo de ETA (CERQUEIRA *et al.*, 2014), lodo de ETE (YU *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2015a), bem como no ar interior e poeira em zonas urbanas (ALMEIDA e NOGUEIRA, 2014; LABORIE *et al.*, 2016; TRAN *et al.*, 2016). No entanto, na revisão da literatura só foi encontrado um estudo em lodos de ETA que avalio a presença de PBs (MPB e PPB) (CERQUEIRA *et al.*, 2014).

Figura 1. Fontes de exposição para seres vivos e vias de contaminação no ambiente por PBs Adaptado de (BŁĘDZKA *et al.*, 2014)



3.2.2 Ocorrência de parabenos em seres humanos

PBs têm sido utilizados com sucesso em produtos cosméticos por mais de meio século, seja individualmente ou em combinação, em todas as categorias de formulação de produtos cosméticos (SONI *et al.*, 2005).

Ao longo dos anos, os PBs foram considerados os conservantes perfeitos em alimentos e produtos de higiene pessoal (FLASIŃSKI *et al.*, 2016), no entanto, estudos evidenciaram a presença de PBs em matrizes biológicas humanas (BRAUSCH e RAND, 2011) (Tabela 4), sendo suficientes concentrações baixas para gerar efeitos adversos na saúde no sistema endócrino, assim como, distúrbios metabólicos.

Tabela 4. Estudos recentes em diversas matrizes biológicas humanas onde foram encontrados parabenos

Amostra	MPB	EPB	PPB	IsPPB	BPB	IsBPB	BzPB	IsPPB+ PPB	IsBPB+ BPB	Referência
Tecido de placenta	x	x	x		x					(VELA-SORIA, RODRÍGUEZ, <i>et al.</i> , 2014)
	x	x						x	x	(VELA-SORIA, BALLESTEROS, <i>et al.</i> , 2014)
	x	x	x		x					(LARSSON <i>et al.</i> , 2014)
	x	x	x							(KOCH <i>et al.</i> , 2014)
	x	x	x	x	x	x				(MOOS <i>et al.</i> , 2014)
	x	x	x		x					(DEWALQUE <i>et al.</i> , 2014)
	x	x	x		x					(HINES <i>et al.</i> , 2015)
	x	x	x		x		x			(CRISTINA JARDIM <i>et al.</i> , 2015)
Urina	x	x	x	x	x	x				(AZZOUZ <i>et al.</i> , 2016)
	x	x	x		x					(RODRÍGUEZ-GÓMEZ <i>et al.</i> , 2014)
	x	x	x		x					(HINES <i>et al.</i> , 2015)
	n.d	n.d	n.d		n.d					(ALSHANA <i>et al.</i> , 2015)
	x	x	x		x					(SOUZA <i>et al.</i> , 2016)
	x	x		x	x	x				(AZZOUZ <i>et al.</i> , 2016)
	x	x	x		x					(HINES <i>et al.</i> , 2015)
	x	x	x		x					(SAJID <i>et al.</i> , 2015)
Leite materno									(SAJID <i>et al.</i> , 2015)	
Soro de lactante									(SAJID <i>et al.</i> , 2015)	
Tecido canceroso de ovário									(SAJID <i>et al.</i> , 2015)	
Sangue	x	x		x	x	x			(AZZOUZ <i>et al.</i> , 2016)	
Sangue menstrual	x	x	x		x				(JIMÉNEZ-DÍAZ <i>et al.</i> , 2016)	
Cabelo	x	x	x		x				(RODRÍGUEZ-GÓMEZ <i>et al.</i> , 2016)	

3.2.3 Ocorrência na biota

A toxicidade de PBs tem sido comparada com a toxicidade de outros xenobióticos como Bisfenol A, Ftalatos e Tamoxifen, pela similaridade no modo de ação (baixo efeito estrogênico) (FATTA-KASSINOS *et al.*, 2009). Estes compostos encontram-se incluídos na lista de produtos químicos de uso doméstico para os quais tem-se níveis máximos permitidos em legislações ambientais, no entanto, os PBs não estão incluídos. Devido à pouca disponibilidade de dados sob a toxicidade aguda ou crônica dos PBs nos organismos aquáticos diversos softwares têm sido usados na estimativa de valores de persistência e bioacumulação (Ex. PBT Profiler).

Na Tabela 5, são apresentadas a comparação das concentrações encontradas em biota marinha e valores estimados do fator de bi concentração (BFC) e toxicidade crônica em peixes. Pode-se observar que com o incremento da cadeia alquílica, ocorre o aumento do BFC e sua toxicidade em peixes. RENZ *et al.* (2013), detectou em cérebro de peixe concentrações de MPB, PPB e BPB acima dos valores estimados como tóxicos.

Tabela 5. Comparação de valores predito (PBT profiler) de bioconcentração e toxicidade crônica em peixe comparados com valores encontrados em estudos ambientais. Adaptação de (FATTA-KASSINOS *et al.*, 2009)

Analito	Fator de bioacumulação (BCF)	Toxicidade crônica em peixe (ng L ⁻¹)	Concentrações encontradas em biota (ng g ⁻¹)
MPB	6,4	0,18 (tóxico)	1,6-7 ^a <LOQ -84,69 ^b ; <3500 ^c 2,2-17,3 ^d (ng L ⁻¹); 605-1580 ^f
EPB	16	0,12 (tóxico)	<LOQ-0,37 ^a ; <LOQ -0,82 ^b ; <500 ^c ; 21,3-36,4 ^e ; 46,6-195 ^f
PPB	44	0,078 (altamente tóxico)	<LOQ-0,56 ^a ; <LOQ -7,43 ^b ; <1500 ^c ; 9,2-12 ^d (ng L ⁻¹); 46,6-195 ^f
BPB	110	0,051 (altamente tóxico)	<LOQ ^a ; <500 ^c ; 0,2 ^d (ng L ⁻¹); 6,61-37,3 ^f
BzPB	110	0,0047 (altamente tóxico)	<LOQ -0,42 ^b ; <LOQ-1,83 ^c

^aMexilhão, Ostra, Moluscos, Espanha (VILLAVERDE-DE-SÁA *et al.*, 2016) ^bPeixe (Musculo); Espanha (JAKIMSKA *et al.*, 2013); ^cPeixe (musculo); Filipinas (RAMASWAMY *et al.*, 2011); ^dPeixe (Cérebro); USA (RENZ *et al.*, 2013); ^ePeixe (Casca); China (HAN *et al.*, 2016); ^fPeixe (Musculo); INDIA (KIM *et al.*, 2011).

3.2.4 Legislação internacional e nacional

Por enquanto, não se tem conhecimento de legislações desses compostos na área ambiental (EPA, 2013). Na Tabela 6, são apresentados os Limites Máximos Permitidos (LMP) para o uso de parabenos em cosméticos.

Tabela 6. LMP quanto ao uso de parabenos em produtos cosméticos

Órgão	Diretiva	Concentrações máximas permitidas	Observações
União Europeia (UE)	Regulação Europeia (EC) No. 1223/2009	Para as substâncias do Anexo V: 0,4% (como ácido) para éster individual, 0,8% (como ácido) para misturas de ésteres.	- Exceto PPB e BPB: 0,14% para misturas destes. - Inclusão de cinco ésteres no Anexo II Sustâncias Proibidas: IsPPB, IsBPB, PhPB, BePB, PePB.
Brasil	Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA RSD N° 4)	0,4% (como ácido) para éster individual, 0,8% (como ácido) para misturas de ésteres	—
MERCOSUL		Valores estabelecidos por UE	
Comunidade Andina		Valores estabelecidos por UE	

Fonte: (ANVISA, 2014; EU, 2014b; a)

Embora os limites máximos permitidos para cosméticos estejam na ordem de porcentagem, as concentrações encontradas nas amostras discutidas neste trabalho estão abaixo dos limites. Desta forma, métodos de preparo amostra capazes de fornecerem bons fatores de pré concentração são requeridos para a quantificação.

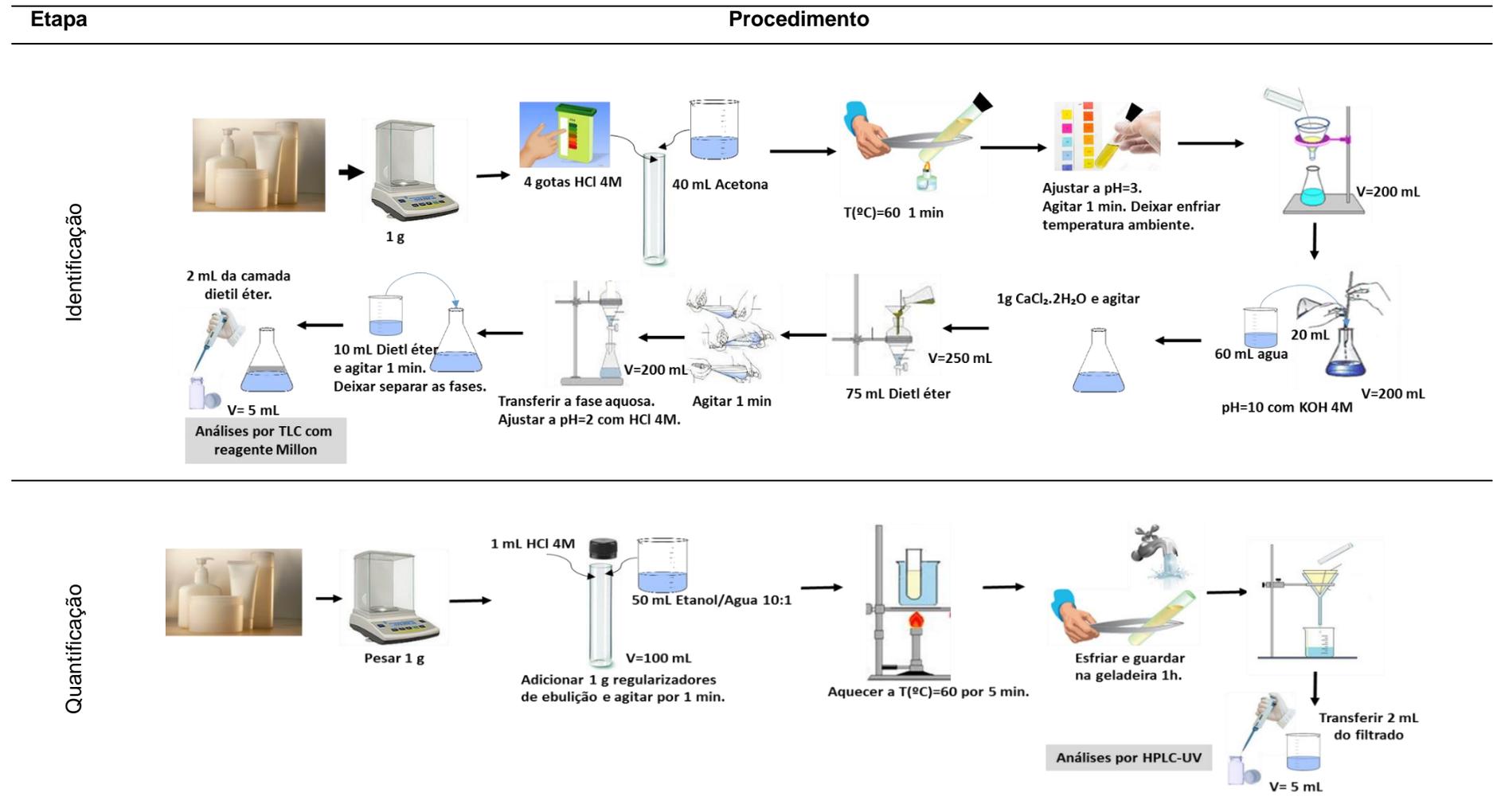
3.3 Preparo de amostra

O preparo de amostras é uma das etapas mais críticas durante o processo analítico durante o isolamento e extração de analitos (PIAO *et al.*, 2014), influenciando no tempo total requerido para completar o análise, assim como, na qualidade dos resultados obtidos (RAMOS, 2012). Além disso, o desenvolvimento de métodos exatos e rápidos para a determinação de um número crescente de diferentes analitos em níveis

traças em amostras ambientais complexas têm estimulado investigações neste campo de pesquisa (RAMOS, 2012).

O único método de preparo de amostra oficial estabelecido para a determinação de parabenos é baseado em uma Extração Líquido-Líquido (LLE) abrangendo somente a determinação em produtos cosméticos. O procedimento consiste de duas etapas que apresenta um procedimento exaustivo e longo (Figura 2). Neste método o MPB e o EPB não são separados na etapa de identificação, assim como pode ocorrer co-eluição de muitos outros conservantes e aditivos cosméticos durante a etapa de quantificação (EU, 1996).

Figura 2. Método de preparo de amostra nas etapas de identificação e quantificação do método oficial da EU para determinação de parabens em cosméticos (EU, 1996)



A nível ambiental, a EPA conta com métodos para a determinação de PPCPs em água bruta, solos, sedimentos e biosólidos (EPA, 2007) e água potável, mas não abrange os PBs (EPA, 2016b).

Devido a isso, diversas técnicas de preparo tem sido utilizadas nas análises de PBs em matrizes ambientais (água bruta, solo, sedimentos, lodo ETA e lodo ETE). Dentre elas, podemos citar a SPE (CARMONA *et al.*, 2014; SERRA-ROIG *et al.*, 2016), Dispersão da matriz em fase sólida (MSPD, do inglês *Matrix Solid Phase Dispersion*) (ALBERO *et al.*, 2012b), Extração por Líquido Pressurizado (PLE, do inglês *Pressurized Liquid Extraction*) (LI *et al.*, 2015a), QuEChERS (CARMONA *et al.*, 2014; CERQUEIRA *et al.*, 2014), Extração Sortiva em Barra de Agitação (SBSE, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*) (FERREIRA *et al.*, 2011) e Extração Sólido-Líquido (WANG e KANNAN, 2016). O preparo de amostras sólidas comumente requer extrações sucessivas (PEYSSON e VULLIET, 2013). A PLE e o uso de ultrassom mostram-se como métodos de extração efetivos para a extração de parabenos (YU *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2015a) em amostras sólidas. No entanto, a PLE requer equipamentos sofisticados e caros além de apresentar um maior consumo de energia (MASIÁ *et al.*, 2015), em relação ao QuEChERS.

Técnicas alternativas como o método QuEChERS, desenvolvido por ANASTASSIADES *et al.* (2003) para a determinação de agrotóxicos em frutas e verduras, têm sido utilizadas com sucesso na extração de parabenos em lodo de ETA (CERQUEIRA *et al.*, 2014) e sedimentos (CARMONA *et al.*, 2014). Na Tabela 7 e Tabela 8 é apresentada uma revisão bibliográfica de trabalhos para a extração de PBs em matrizes aquosas e matrizes sólidas ambientais, pode-se observar o uso recorrente da SPE para o análise de PBs em matrizes aquosas e o uso limitado do QuEChERS em análise de PBs em matrizes ambientais. Devido a isso, considera-se importante o estudo destes métodos na determinação de PBs de longa cadeia alquílica e seus isômeros em matrizes ambientais.

Tabela 7. Revisão de trabalhos para extração de parabenos em amostras aquosas

Água	Volume (mL)	Analitos	Método de extração	Solvente (Volume)	Técnica de determinação	Limites de detecção (ng L ⁻¹)	Referência
Potável, de piscina	20	BPB, BzPB	Microextração em fase sólida (SPME)	-	GC-FID	1500; 3400	(LÓPEZ-DARIAS <i>et al.</i> , 2010)
De abastecimento, de piscina e de spa	20	MPB, EPB, IsPPB, PPB, IsBPB, BPB, BzPB	Microextração em fase sólida assistida por vortex dispersivo (VA-D-m-SPE)	Metanol (2 mL)	LC-DAD	300; 400; 100; 600; 200; 100; 100;	(ROCÍO-BAUTISTA <i>et al.</i> , 2015)
Superficiais	10	MPB, EPB, BPB, PPB	SPE	Acetonitrila (5 mL)	LC-MS/MS	100-300	(RENZ <i>et al.</i> , 2013)
Residuais, de piscinas, de estuários	25	MPB, EPB, PPB, BPB	Microextração adsorptiva com desorção em microlíquido (BA μ E- μ LD)	Metanol (200 μ L)	LC-DAD	100000; 100000; 100000; 100000	(ALMEIDA e NOGUEIRA, 2014)

Tabela 7. Revisão de trabalhos que extração de parabenos em amostras aquosas (Continuação)

Água	Volume (mL)	Analitos	Método de extração	Solvente (Volume)	Técnica de determinação	Limites de detecção (ng L ⁻¹)	Referência
Superficiais	2000	MPB, EPB, PPB, BPB, IsBPB	SPE	Metanol/Acetonitrila 1:1 v/v (6 mL)	GC-MS/MS	16000; 14000; 14000; 44000; 25000	(LUIZETE, 2013)
Potável, de rio	250	MPB, EPB, PPB, BPB	SPE	Metanol (6 mL)	LC-MS/MS	0,1; 0,3; 0,2; 0,1	(CARMONA <i>et al.</i> , 2014)
De Lagoa	15	MPB, EPB	Microextração por barra adsorptiva (BA μ E)	Acetonitrila/Metanol 50:50 (100 μ L)	LC-DAD	300-500	(DIAS <i>et al.</i> , 2015)
De rio, subterrânea	5	MPB, BPB, EPB, BzPB	SPE on line	Acetonitrila/água com 0,1% ácido fórmico (5 mL)	LC-MS/MS	-	(SERRA-ROIG <i>et al.</i> , 2016)
Residuais	100	MPB, EPB, PPB, BPB, BzPB, HpPB	SPE	MeOH (9 mL)	LC-MS/MS	0,01-10	(WANG e KANNAN, 2016)

Tabela 8. Revisão de trabalhos para extração de parabenos em amostras ambientais sólidas

Amostra	Massa (g)	Analitos	Método de extração	Solvente extrator (Volume)	Técnica de determinação	Limites de detecção (ng g ⁻¹)	Referência
Lodo de ETE	0,1	MPB, EPB, PPB, BPB	Inclui pretratamento de liofilização e tamisação, posteriormente slurry, vortex 2 min, ultrassom 15 min, centrifugação 5 min 3000 rpm. O procedimento foi repetido 3 vezes e misturados os sobrenadantes.	Acetonitrila-água 5:3 v/v (8 mL) e diluição em água ultrapura para limpeza por SPE	LC-DAD	-	(YU <i>et al.</i> , 2011)
	1,0	MPB, EPB, IsPPB, PPB, IsBPB, BPB, BzPB	MSPD	Etilacetato:Metanol 90:10 v/v (10 mL)	GC-MS/MS	0,1-1,7	(ALBERO <i>et al.</i> , 2012)
	0,1	MPB, EPB, PPB, BPB, BzPB, HpPB	Extração Solido-liquido	MeOH/Água 5:3 v/v (5 mL) e purificação por SPE	LC-MS/MS	-	(WANG e KANNAN, 2016)
	0,1	MPB, EPB, PPB, BPB, BzPB, HpPB, OcPB	PLE SPE	- MeOH (4 mL)	LC-MS/MS	0,1-0,8	(LI <i>et al.</i> , 2015a)

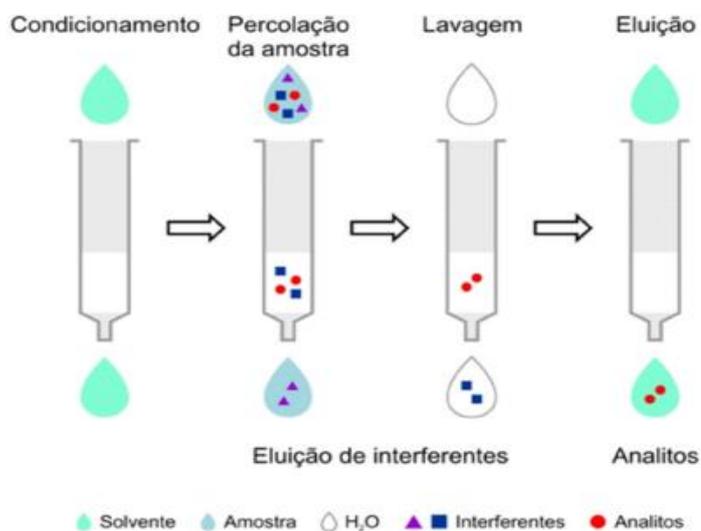
Tabela 8. Revisão de trabalhos para extração de parabenos em amostras ambientais sólidas (Continuação)

Amostra	Massa (g)	Analitos	Método de extração	Solvente extrator (Volume)	Técnica de determinação	Limites de detecção (ng g ⁻¹)	Referência
Lodo de ETA	10	MPB, PPB	QuEChERS	Acetonitrila 1% HCOOH (10 mL)	LC-MS/MS	0,3-1,5	(CERQUEIRA <i>et al.</i> , 2014)
Solo	0,5	MPB, IsPPB, PPB, BPB	SBSE Tempo de extração 60 min 1000 rpm	Ácido acético anidrido (400 µL)	GC-MS/MS	0,08-1,06	(FERREIRA <i>et al.</i> , 2011)
Sedimentos	1,0	MPB, EPB, PPB, BPB	QuEChERS	Acetonitrila (10 mL)	LC-MS/MS	-	(CARMONA <i>et al.</i> , 2014)

3.3.1 Extração em fase sólida (SPE)

A SPE é um método de extração líquido-sólido baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão (LANÇAS, 2004). As etapas do método são apresentadas na Figura 3 e resumem-se na ativação do sorvente, percolação da amostra/sorção dos analitos no sorvente, eluição dos analitos e posterior concentração do composto de interesse (CALDAS *et al.*, 2011).

Figura 3. Etapas envolvidas na SPE (CALDAS *et al.*, 2011)



A SPE é o método mais comumente escolhido devido a sua simplicidade e efetividade na extração (MÁRQUEZ-SILLERO *et al.*, 2010). A SPE é método oficial na extração de uma ampla gama de compostos em matrizes aquosas utilizado por diversos órgãos (EPA, 2016a; ISO, 2016). Esta tem sido utilizada na determinação de parabenos em águas superficiais (RENZ *et al.*, 2013; ALMEIDA e NOGUEIRA, 2014; CARMONA *et al.*, 2014; SERRA-ROIG *et al.*, 2016), água de abastecimento (LÓPEZ-DARIAS *et al.*, 2010; CARMONA *et al.*, 2014; ROCÍO-BAUTISTA *et al.*, 2015) e águas subterrâneas (ALMEIDA e NOGUEIRA, 2014; WANG e KANNAN, 2016).

O método, desde seu desenvolvimento buscou simplicidade e o consumo limitado de solventes orgânicos (ANDRADE-EIROA *et al.*, 2016), em comparação com os volumes requeridos pela extração líquido-líquido (LLE) utilizada no método oficial na determinação de PBs em cosméticos. Além disso, a técnica tem se mostrado eficiente na remoção de interferentes da matriz (MARTINS *et al.*, 2011).

3.3.2 QuEChERS

O método QuEChERS tem como vantagens ser um método rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro (ANASTASSIADES *et al.*, 2003). O método foi desenvolvido com o objetivo de superar limitações práticas dos métodos multirresíduos de extração disponíveis na época para a extração de agrotóxicos a partir de frutas e legumes. O método tem sido utilizado com sucesso na extração PBs em matrizes ambientais (CARMONA *et al.*, 2014; CERQUEIRA *et al.*, 2014).

O método original baseia-se na extração com acetonitrila, seguido por uma partição líquido-líquido induzida após a adição de sais e de uma extração em fase sólida dispersiva (D-SPE) chamada de etapa de limpeza. A acidificação da acetonitrila permite recuperações satisfatórias para analitos sensíveis a variação de pH uma vez que proporciona a extração em uma ampla faixa de polaridade, além de uma menor extração de compostos lipofílicos presentes na matriz (ANASTASSIADES *et al.*, 2003; 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 tem necessidade de lavagem do homogeneizador no intervalo entre as extrações e a possibilidade de realizar a extração a campo (ANASTASSIADES *et al.*, 2003; CERQUEIRA *et al.*, 2014)

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). A etapa de limpeza é essencial, uma vez que ela remove co-extrativos presentes na matriz que podem interferir posteriormente nas análises (CERQUEIRA *et al.*, 2014).

O uso de parâmetros de desempenho analíticos avaliando o método QuEChERS mostraram que este método é eficiente na extração de PBs em matrizes ambientais (CARMONA *et al.*, 2014; CERQUEIRA *et al.*, 2014).

3.4 Determinação de PBs por cromatografia

Os métodos expostos são compatíveis com as técnicas cromatográficas. Na determinação de parabenos o uso de Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) (LÓPEZ-DARIAS *et al.*, 2010; ALBERO *et al.*, 2012b) e Cromatografia Líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*) (CERQUEIRA, 2013; CARMONA *et al.*, 2014; WANG e KANNAN, 2016) tem sido amplamente reportado em matrizes ambientais. Sendo a LC a técnica mais comumente utilizada (PIAO *et al.*, 2014).

3.4.1 Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em série (LC-MS/MS)

A Cromatografia Líquida é uma das técnicas de separação mais amplamente utilizada na determinação de parabenos (PIAO *et al.*, 2014), sendo uma ferramenta muito importante para a separação de misturas que contém um grande número de compostos similares (COLLINS *et al.*, 2006).

No caso de amostras ambientais o número de métodos que utilizam a LC acoplada a detectores de ultravioleta-visível (UV-vis) ou arranjo de diodos (DAD) é limitado provavelmente devido à baixa sensibilidade atingida nos acoplamentos destes equipamentos (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2015).

Na busca da melhora na sensibilidade a LC tem sido acoplada a detectores de espectrometria de massas em série (MS/MS, do inglês *Tandem Mass Spectrometry*) atingindo níveis traços de PBs em matrizes ambientais. Este acoplamento é um dos mais comumente usados para análises de parabenos em matrizes ambientais complexas (PIAO *et al.*, 2014). Além disso, a separação de isômeros de hidroxiácidos aromáticos representa um verdadeiro desafio na LC (FASCIANO e DANIELSON, 2016), considerando o mesmo peso molecular mas diferentes propriedades físico-químicas para os compostos isoméricos.

A grande aplicabilidade da LC é atribuída a sua sensibilidade, capacidade de quantificação e de separação de moléculas não voláteis e de baixa estabilidade térmica, que constituem 80% dos compostos sintéticos naturais (DEMOLINER, 2008).

A espectrometria de massas é uma técnica poderosa de detecção para a cromatografia, já que o espectrômetro é sensível a pequenas quantidades do analito permitindo identificar de maneira inequívoca e simultânea em apenas um análise diferentes compostos, obtendo informações mais específicas em comparação com

outros detectores que geram bandas de absorção, tais como o sensor de um detector por UV-Vis (HARRIS, 2003; OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2015).

O sistema básico de um acoplamento LC-MS/MS é apresentado na Figura 4 e constitui-se principalmente pelos componentes: sistema de injeção de amostra, fonte de íons, analisador e separador de massas, detector e sistema de dados.

Geralmente, a ionização dos parabenos é feita no modo negativo (CANOSA RODRÍGUEZ, 2009), por diferentes fontes de ionização como a ionização química a pressão atmosférica (APCI, do inglês *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*) (LI *et al.*, 2016) e ionização por eletronebulização (ESI, do inglês *Eletrospray Ionization*) (RENZ *et al.*, 2013; MUÑOZ PEÑA, 2016; SERRA-ROIG *et al.*, 2016). Sendo mais amplamente usado o acoplamento LC-ESI-MS/MS no modo negativo (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2015), devido as hidroxilas presentes na sua estrutura que tendem a perder um próton.

Durante o monitoramento no MS/MS uma das ferramentas comumente utilizada na detecção de PBs é o Monitoramento de Reação Seleccionada (SRM) (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2009), a fim de garantir a identidade dos analitos através de duas transições sendo o de maior intensidade o íon de quantificação e o segundo como íon de confirmação (EU, 2002). O acoplamento da LC-MS/MS para a determinação de parabenos em amostras ambientais permite a identificação inequívoca (OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2015), por comparação de espectros de massa diminuindo o risco de falsos positivos (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2011). Assim como, uma melhor detectabilidade devido à diminuição do ruído e aumento no sinal para os íons monitorados.

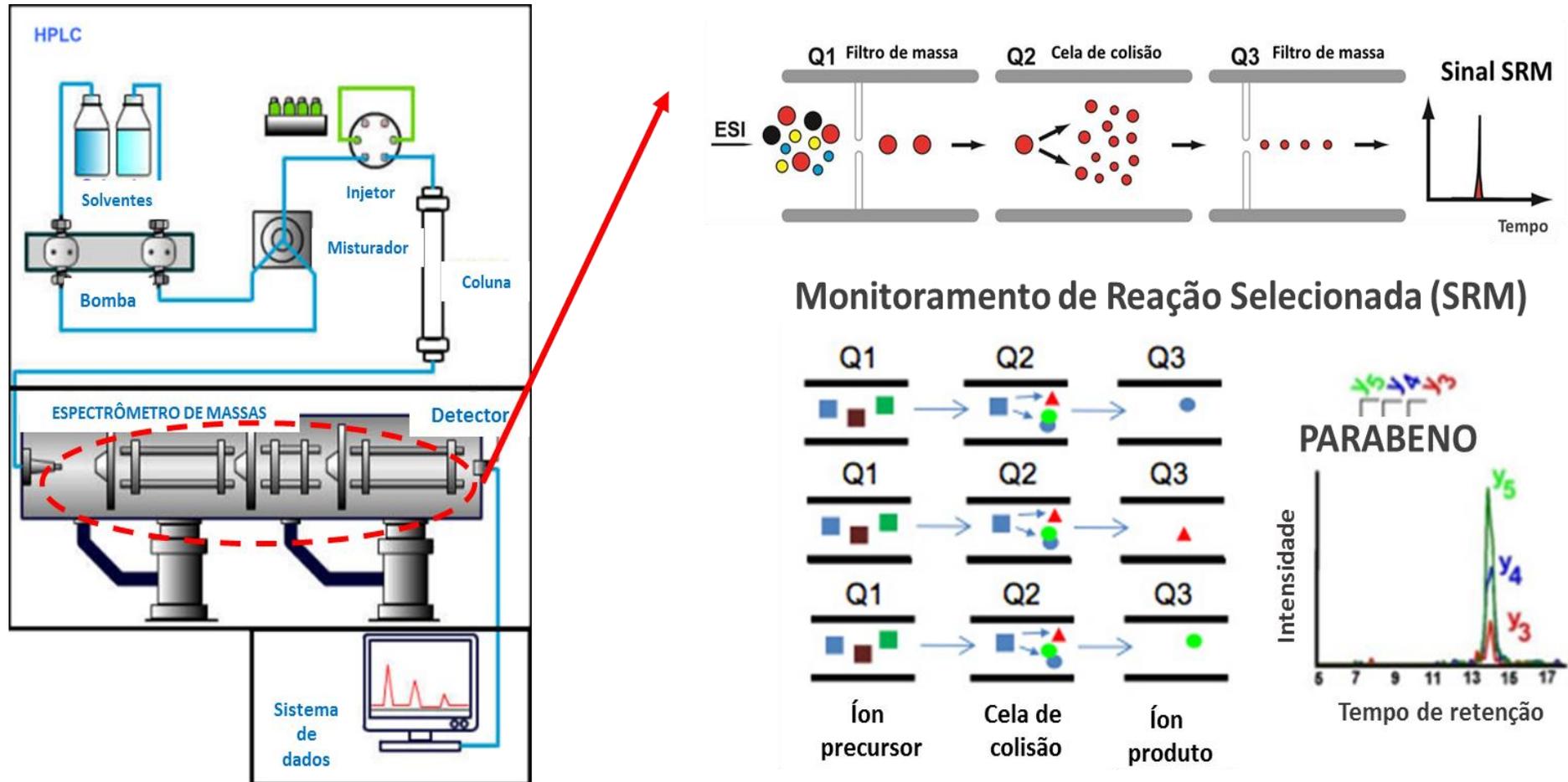


Figura 4. Diagrama dos componentes gerais do acoplamento de cromatografia líquida com a espectrometria de massas (LC-ESI-MS/MS) e análises por SRM. Adaptação de (BOJA e RODRIGUEZ, 2011; CHROMACADEMY, 2016b)

3. 5 Amostras ambientais

3.5.1 Qualidade das águas e saneamento

O problema da poluição da água e das doenças humanas está intimamente associado à disponibilidade global de recursos hídricos (PIMENTEL *et al.*, 2004).

Dado que o Brasil possui 12% da disponibilidade de água doce superficial do mundo, o conhecimento sobre a qualidade das águas brasileiras é primordial com a finalidade de avaliar os impactos ambientais, sociais e econômicos da degradação da qualidade das águas os quais traduzem-se na perda da biodiversidade, no aumento de doenças de veiculação hídrica e no aumento do custo de tratamento das águas destinadas ao abastecimento doméstico (ANA, 2012).

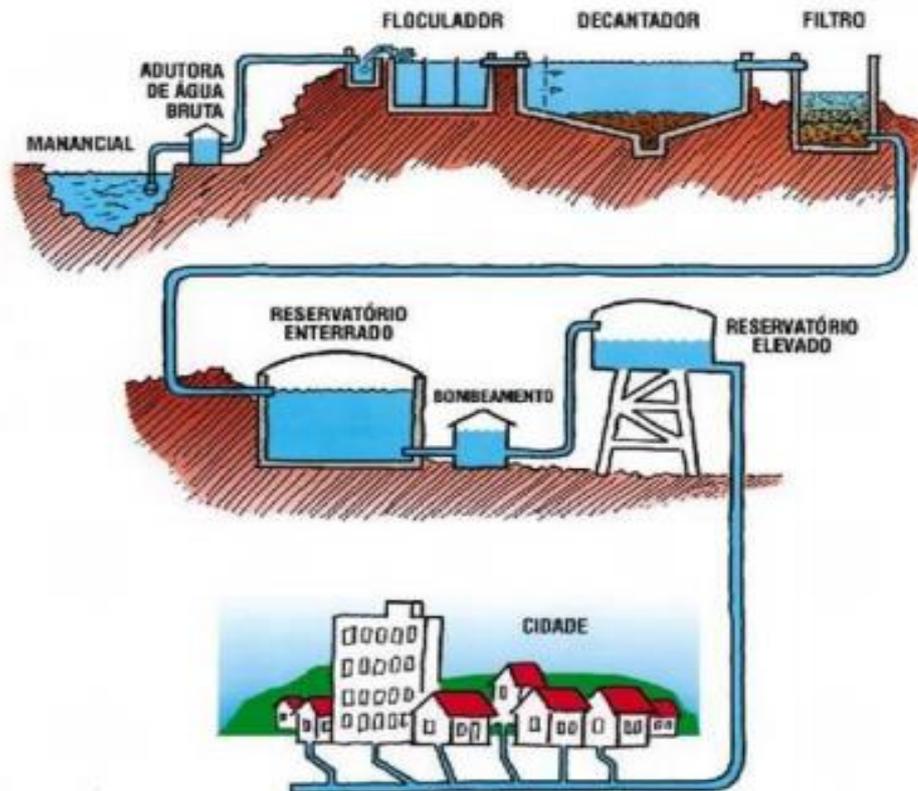
De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE), 88% das mortes por diarreias no mundo são causadas pelo saneamento inadequado, morrendo mais de 28 mil pessoas no país segundo estatísticas da Organização Mundial da Saúde (OMS), além disso, diversas doenças como hepatite A, febre tifoide, rotavírus, cólera e leptospirose são provocadas por água contaminada (BRASIL, 2014).

Considera-se que as diversas medidas legislativas já adotadas gradualmente para evitar poluição química da água e os riscos têm ajudado a aliviar parcialmente esta situação. No entanto, a crescente demanda por água e a contínua descoberta de novos contaminantes potencialmente nocivos deixa clara a necessidade de mais pesquisas em todas as áreas (BARCELO e LÓPEZ, 2008).

3.5.2 Água de abastecimento

Visando atender aos padrões de potabilidade, as águas superficiais são submetidas a processos físicos, químicos ou combinação dos dois (Figura 5) (BRASIL, 2011) antes da disposição nas redes de abastecimento pública. A presença de compostos exógenos não contemplados na legislação em águas de abastecimento, especificamente de PBs têm sido relatada ao redor do mundo (PIAO *et al.*, 2014; OCAÑA-GONZÁLEZ *et al.*, 2015).

Figura 5. Fluxograma do tratamento de água



Devido a que, não se conta com uma legislação no mundo e no Brasil para o monitoramento de PBs em águas de consumo é vital o desenvolvimento de métodos analíticos a fim de monitorar estes compostos nas águas e gerar padrões de qualidade para medidas legislativas.

3.5.3 Lodo de ETA

São considerados os resíduos sólidos resultantes dos diferentes processos e operações em uma estação de tratamento de água (ACHON *et al.*, 2008), sendo na maioria dos casos resíduos provenientes do processo de floculação nas ETAs (Figura 5).

De acordo ao Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 27% dos lodos gerados na região sul do Brasil são dispostos diretamente em rios e arroios (IBGE, 2008), gerando um impacto ambiental na qualidade das reservas hídricas e saúde da biota presente nestes ecossistemas. (CERQUEIRA *et al.*, 2014). Baseado na revisão da literatura observa-se que as pesquisas avaliam em sua maioria a presença de PBs em lodos de ETE (YU *et al.*, 2011; ALBERO *et al.*, 2012a; LI *et al.*, 2015a; WANG e KANNAN,

2016). No entanto, não foram encontrados estudos que evidenciam a presença de PBs em lodos de ETA.

3.6 Amostra comercial

3.6.1 Água mineral

Considera-se uma água bacteriologicamente sana, de origem de águas subterrâneas, com uma composição caracterizada por um teor de sais minerais e com uma pureza original que conserva estas características ao longo do tempo (MONDARIZ, 2017), sendo classificadas de acordo a seu composição química (oligominerais, radíferas, alcalino-bicarbonatadas e alcalino-terrosos, sulfatadas, sulfurosas, nitradas, cloretadas, ferruginosas, radioativas, toriativas ou carbogasosas) ou de acordo as fontes em quanto aos gases (radioativas, toriativas ou sulfurosas) ou quanto a temperatura (frias, hipotermiais, mesotermiais, isotermiais, hipertermiais) (CPRM, 2017).

A presença de EDCs tem sido amplamente investigada em águas minerais dado o incremento no consumo de água mineral no mundo (DORIA, 2006), principalmente por ser mais higiênica e com mais qualidade desde do ponto de vista nutricional em relação a água de abastecimento (PINTO e REALI, 2009). No entanto, diversos EDCs como ftalatos (GUART *et al.*, 2011), parabenos (CARMONA *et al.*, 2014) entre outros têm sido detectados em águas minerais.

A perda de PBs por desorção de PPCPs em recipientes plásticos têm sido estudado durante décadas por diversos autores que relataram perdas das propriedades antimicrobianas de PPCPs, durante o armazenamento de soluções aquosas (AUTIAN, 1968; KAKEMI *et al.*, 1971; BERGQUIST *et al.*, 2006). Não obstante poucos estudos têm avaliado a contaminação por desorção de PBs em peças plásticas envolvidas em processos industriais. KAKEMI *et al.* (1971), ressaltou a importância da interação hidrofóbica na adsorção dos PBs através de peças plásticas, assim como, o efeito da temperatura na adsorção e desorção. Considerando que tubulações plásticas estão envolvidas nos processos físico-químicos prévios realizados na produção de água engarrafada; isto pode ser um indicativo de fonte de contaminação. WAGNER e OEHLMANN (2009), evidenciaram como possível fonte de contaminação da água

mineral a migração de EDCs do material de embalagem, assim como, a presença de PBs nas fontes de água subterrâneas usadas para engarrafamento.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

- ✓ Balança Analítica de precisão modelo FA 2104N, Bioprecisa (Curitiba, PR, Brasil);
- ✓ Bomba à vácuo Tecnal TE-058 (Piracicaba, SP, Brasil);
- ✓ Micropipetadores automáticos com capacidade variável (100 – 1000 µL), Labmate Digipet, (Polônia);
- ✓ pHmetro Hanna pH20 pH21 – eletrodo de vidro combinado (São Paulo, SP, Brasil);
- ✓ Sistema de filtração em membrana, Phenomenex (Torrance, CA, EUA);
- ✓ Sistema de Purificação de água Milli-Q Direct-Q UV3® Millipore (Bedford, MA, USA);
- ✓ Ultrassom Quimis modelo Q335D, Quimis® (Diadema, SP, Brasil);
- ✓ Centrífuga de tubos microprocessada modelo Q222T, Quimis® (Diadema, SP, Brasil);
- ✓ Cromatógrafo a líquido *Alliance Separations* modelo 2695 Waters (Milford, MA, USA) equipado com amostrador automático, bomba quaternária, sistema de degaseificação, Detector MS, Micromass® Quatro Micro™ API Waters, utilizando o modo de ionização por Eletrospray (ESI), sistema de aquisição de dados através do software Masslynx 4.0 Waters;
- ✓ Coluna analítica Kinetex C18 (3,0 mm × 50 mm i.d., 2,6 µm) Phenomenex (Torrance, CA, EUA);
- ✓ Sistema gerador de nitrogênio Peak Scientifics, Instruments Ltda (Escócia).
- ✓ Turbidímetro digital portátil modelo 2100P Hach (Loveland, CO, USA)
- ✓ TOC-L (Total Organic Carbon Analysis) -SSM 5000 A Shimadzu (USA)

4.2 Reagentes, solventes e materiais

- ✓ Ácido fosfórico 0.1 M, Merck (RJ, Brasil);
- ✓ Ácido fórmico, Merck (RJ, Brasil);
- ✓ Acetato de amônio, Merck (RJ, Brasil);
- ✓ Ácido acético, J.T Baker (Mallinckrodt, NJ, USA);
- ✓ Água destilada;

- ✓ Água Ultrapura, purificada em sistema Direct-Q UV3[®] Millipore (resistividade 18,2 MΩ cm);
- ✓ Acetonitrila e metanol grau HPLC J.T Baker (Mallinckrodt, NJ, USA);
- ✓ Ácido acético (CH₃COOH) glacial 96%, Merck (RJ, Brasil);
- ✓ Cloreto de sódio (NaCl) P.A., Merck (RJ, Brasil);
- ✓ 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*);
- ✓ Sulfato de magnésio (MgSO₄) anidro J.T. Baker (Mallinckrodt; USA);
- ✓ Detergente Extran[®] neutro, Merck (RJ, Brasil);
- ✓ Padrões analíticos: metilparabeno (nipagin), propilparabeno (nipazol), benzilparabeno, isopropilparabeno, fenilparabeno foram provenientes da Sigma Aldrich (USA); etilparabeno, butilparabeno provenientes da Chem Service (Estados Unidos) isobutilparabeno, pentilparabeno provenientes da C/D/N Isotopes (Canada);
- ✓ A pureza dos padrões analíticos foi superior a 96% para todos os analitos, e, se necessário, foi feita a correção de pureza durante o preparo;
- ✓ Gás argônio analítico 5.0 usado como gás de colisão no sistema LC-MS/MS (White Martins, Brasil);
- ✓ Detergente Extran[®] neutro, Merck (RJ, Brasil);
- ✓ Membrana filtrante Politetrafluoretileno (PTFE) 0,45 μm de diâmetro de poro e 47 mm de diâmetro, Merck Millipore (SP, Brasil);
- ✓ Membrana filtrante de acetato celulosa 0,45 μm de diâmetro de poro e 47 mm de diâmetro (Madrid, Espanha);
- ✓ Cartucho para extração em fase sólida Strata C18-E (55 μm, 70 Å) 500 mg 3 mL, Phenomenex (CA, USA)
- ✓ Frascos de vidro (*vial*), capacidade de 2,0 mL;
- ✓ Vidraria comum de rotina (balões volumétricos, pipetas volumétricas, béquer, funil, etc).
- ✓ Tubos de polipropileno, com tampas rosqueáveis, capacidade de 15 e 50 mL de capacidade, Sarstedt (Alemanha);

4.3 Preparo das soluções analíticas

Foram preparadas as soluções estoque, contendo 1000 mg L⁻¹ de cada composto pela dissolução dos padrões sólidos em acetonitrila, considerando o grau de pureza. A partir das soluções estoques de 1000 mg L⁻¹ foram preparadas soluções trabalho na concentração de 100 mg L⁻¹ de cada substância em acetonitrila.

Uma solução trabalho contendo a mistura dos nove analitos na concentração de 1 mg L⁻¹ foi preparada a partir da solução de 100 mg L⁻¹. Diluições desta solução trabalho na fase móvel foram preparadas diariamente para o estudo e validação do método. As soluções foram armazenadas em frascos âmbar e estocadas a -18 °C.

4.4 Seleção dos analitos para o estudo

A escolha foi baseada na ocorrência em amostras ambientais, frequência no uso como conservantes de PPCPs, assim como, seu comportamento baseado nas suas propriedades físico-químicas: polaridades, solubilidade em água e acidez. Sendo selecionados os seguintes parabenos: MPB, EPB, IsPPB, PPB, PhPB, IsBPB, BPB, BzPB e PePB.

4.5 Amostras

4.5.1 Água de abastecimento

As amostras de água empregadas na validação do método foram coletadas diretamente da rede municipal de abastecimento de água (na torneira do laboratório).

Para a aplicabilidade do método foram coletadas quatro amostras de água tratada na planta de abastecimento da CORSAN nos meses de Agosto até Novembro. As amostras foram coletadas de acordo com o Guia Nacional de coleta e preservação de amostras em frascos de vidro âmbar, armazenadas sob refrigeração e levada ao laboratório para extração e análise no mesmo dia da coleta (BRANDÃO *et al.*, 2011). As amostras foram filtradas antes da extração.

4.5.2 Água mineral sem gás

Para a aplicabilidade em água mineral sem gás foram adquiridas garrafas de quatro marcas (1 amostra/marca) de fácil aquisição nas apresentações de 1 L e 1,5 L no

mercado local, as quais foram nomeadas como amostras A até H. Para todas as amostras foram medidos os parâmetros de pH e turbidez. Nenhuma etapa prévia à extração, como por exemplo, filtração, foi necessária nas amostras de água mineral. As amostras foram coletadas de acordo com o item 11.3 da Resolução nº 310 (ANVISA, 1999).

4.5.3 Lodo

As amostras de lodo empregadas na validação do método foram coletadas nos meses de Setembro e Outubro diretamente da estação municipal de abastecimento de água CORSAN.

Para a aplicabilidade do método foram coletadas amostras de lodo proveniente do processo de centrifugação na planta de abastecimento da CORSAN com o uso de uma pá de jardineiro segundo procedimento B.4.1 (ABNT, 2004b). Para todas as amostras foram medidos os parâmetros de pH (H₂O) segundo o Manual de Métodos de Análises de Solo (EMBRAPA, 1997), a turbidez da água sobrenadante no lodo de ETA foi realizada pelo Método Nefelométrico (DE ALMEIDA *et al.*, 2010) e os valores de Carbono Total CO(%) e Carbono Inorgânico CI(%) foram realizados no Laboratório de Oceanografia Geológica. A fim de preservar as propriedades físico-químicas o armazenamento da amostra foi realizado a -4 °C, sendo só descongelado 12 h antes de seu uso.

4.6 Sistema cromatográfico para determinação de parabenos em amostras ambientais

4.6.1 Preparo da fase móvel

Os solventes empregados na fase móvel foram filtrados a vácuo (600 mmHg) através de membranas nylon (0,45 µm). A água ultrapura utilizada apresentou uma resistividade de 18,2 MΩ cm (25°C).

Os solventes foram degaseificados em ultrassom por 15 min, a temperatura controlada (25°C). A fase móvel foi armazenada em frascos de vidro translúcidos, os quais foram rotulados.

4.6.2 Escolha da composição, vazão da fase móvel e modo de eluição em coluna C18 capeada

A fase móvel ideal deve solubilizar todos os componentes da amostra, apresentar baixa ou nenhuma reatividade, possuir baixa viscosidade e toxicidade e estar disponível em elevado grau de pureza (LANÇAS, 2004; COLLINS *et al.*, 2006).

Devido à similaridade nas propriedades físico-químicas dos analitos (polaridade, pKa, entre outras) foram testados sistemas binários (Metanol/Água, Acetonitrila/Água) e ternários (Água/Metanol/Acetonitrila), em diferentes modos de eluição (isocrático e gradiente), com e sem a adição de ácidos orgânicos (acético e fórmico), assim como com e sem a adição de uma base orgânica (acetato de amônia). Definiu-se como parâmetros qualitativos para a escolha da melhor fase móvel a separação cromatográfica dos picos entre os eluentes e a resposta dos analitos (intensidade do sinal).

4.6.3 Condições do espectrômetro de massas

Com o objetivo de obter as melhores condições na fragmentação foram injetadas de maneira individual soluções do padrão analítico na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$, no espectrômetro de massas. O modo de ionização selecionado foi o electrospray negativo (-), baseado na revisão da literatura. Os demais parâmetros como *dwell time*, temperatura da fonte, temperatura de dessolvatação, vazão de gás de dessolvatação para secagem do solvente também foram otimizados.

4.7 Extração em fase sólida (SPE)

O método empregado para as amostras aquosas foi baseado em um estudo desenvolvido inicialmente para a determinação de agrotóxicos e PPCPs de diferentes classes (CALDAS *et al.*, 2013), o qual utiliza 250 mL de amostra aquosa, condicionamento dos cartuchos com 3 mL de MeOH, 3 mL de água ultrapura e 3 mL de água ultrapura pH 3, e eluição em duas alíquotas de 1 mL de MeOH.

Os testes realizados durante a escolha das melhores condições experimentais para a extração dos nove parabenos em amostras aquosas foram realizadas seguindo as etapas do procedimento de extração, mediante análises em triplicata onde cada replicata foi injetada três vezes no equipamento. O efeito do pH na SPE foi avaliado em

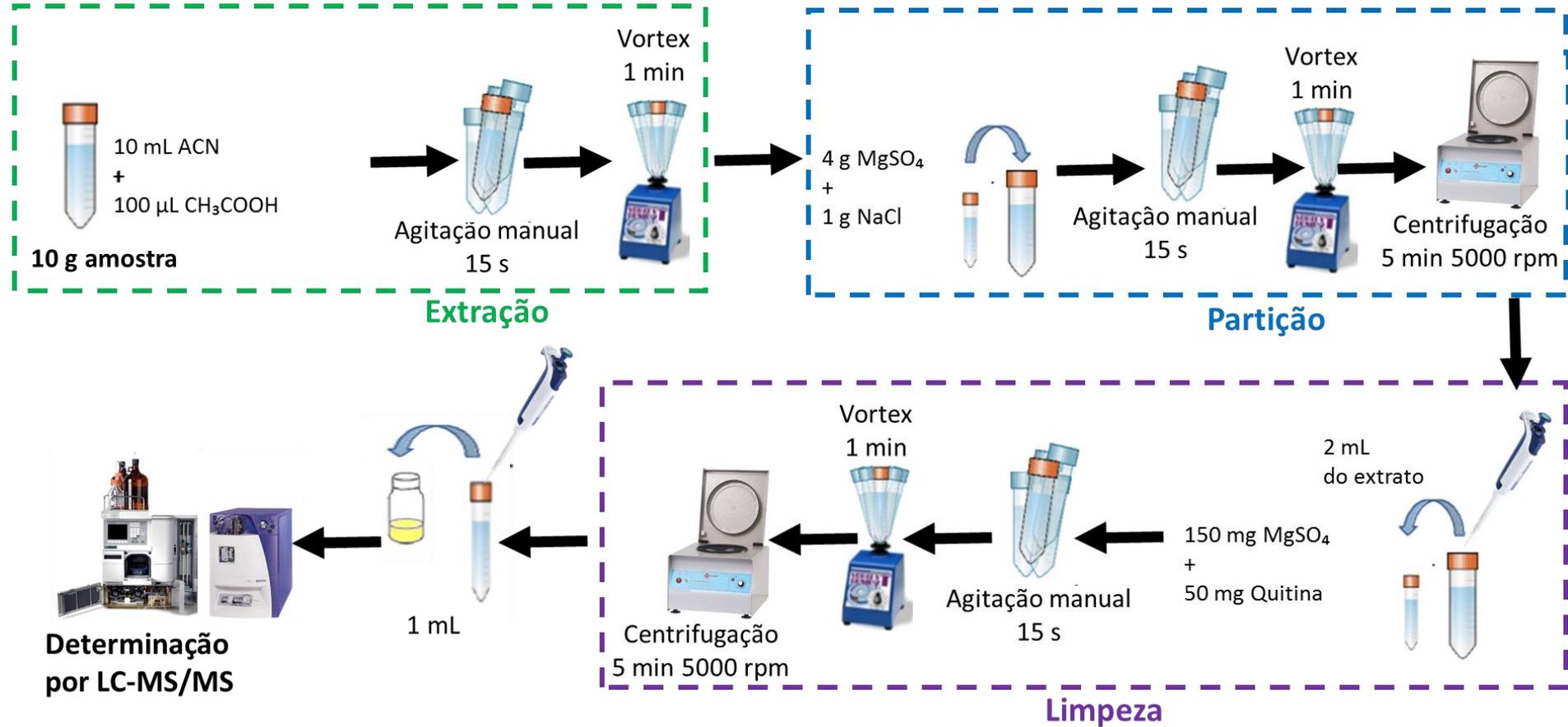
condições não acidificadas (pH=6) e acidificadas (pH=3). O ajuste do pH foi realizado com ácido fosfórico 1:1 (v/v).

4.8 QuEChERS

O método QuEChERS empregado para as amostras de lodo de ETA foi desenvolvido inicialmente para a determinação de PPCPs de diferentes classes. Pode-se observar na Figura 6, as condições experimentais e etapas envolvidas no método (CERQUEIRA, 2013).

Os testes realizados durante a escolha das melhores condições experimentais para a extração dos nove parabenos em amostras de lodo de ETA foram realizadas seguindo as etapas do procedimento de extração, mediante análises em triplicata onde cada replicada foi injetada três vezes no equipamento.

Figura 6. Fluxograma do método QuEChERS utilizado na análises de parabenos em lodo de ETA úmido



4.9 Validação dos métodos

O desenvolvimento de um método analítico, a adaptação ou implementação de método conhecido, envolve processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório (BRITO *et al.*, 2003). A ISO definiu este processo como a confirmação por testes e apresentação de evidências objetivas de que determinados requisitos são preenchidos para um dado uso intencional (ISO, 2005).

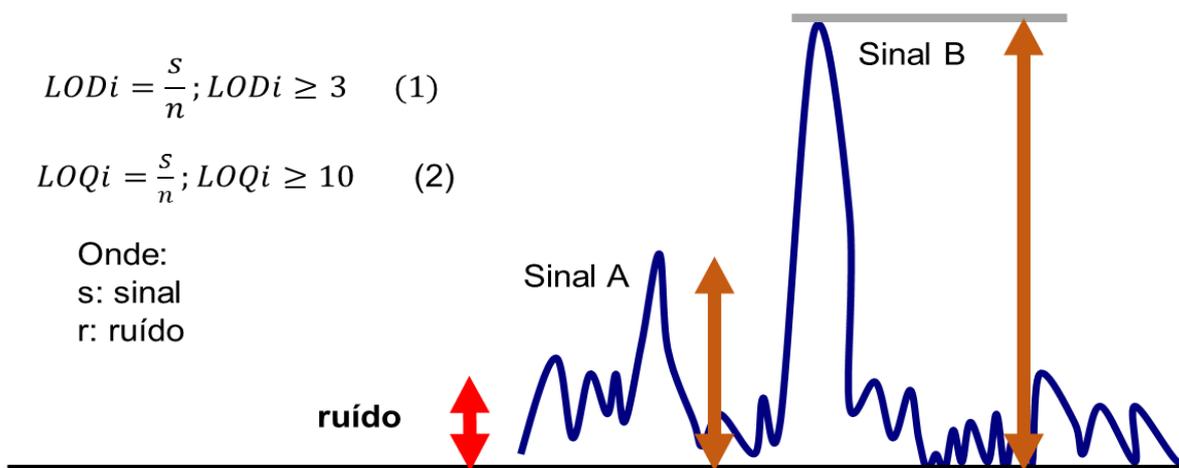
Os parâmetros avaliados neste trabalho foram limite de detecção, limite de quantificação, curva analítica, linearidade, efeito matriz, exatidão e precisão.

4.9.1 Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

O LOD é definido como o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado (INMETRO, 2010), mas não necessariamente quantificado (RIBANI *et al.*, 2004). O LOQ é definido como o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado (INMETRO, 2010) e quantificado.

Os valores do LOD e LOQ instrumentais (LOD_i , LOQ_i) para cada analito foram estimados a partir do método de sinal-ruído (s/n , do inglês *signal-noise*) através do *software* do equipamento, considerando no mínimo 3 e 10 vezes a razão do sinal pela linha de base (ruído) respectivamente, baseadas nas equações (1) e (2) como é apresentado na Figura 7.

Figura 7. Relação sinal/ruído para o cálculo de limites instrumentais.



No caso da SPE o fator de concentração do método (FPC_m) é de 125 vezes. O LOD do método (LOD_m) foi calculado pela divisão no FPC_m segundo equação (3). O LOQ do método (LOQ_m) foi calculado segundo a equação (4).

$$\text{LOD}_m = \frac{\text{LOD}_i}{\text{FPC}_m} \quad (3)$$

$$\text{LOQ}_m = \frac{\text{LOQ}_i}{\text{FPC}_m} \quad (4)$$

Para a confirmação desses limites foram fortificadas amostras nessas concentrações, considerando validados estes valores ao se obter recuperações experimentais entre 70 a 120% e valores de RSD inferiores ou iguais a 20% (SANTE, 2015). O método QuEChERS não apresenta FPC_m, ao considerar um volume de solvente (10 mL ACN) e uma massa de amostra (10 g lodo de ETA).

4.9.2 Curva analítica e linearidade

A linearidade é definida como a capacidade do método em gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito. No caso da curva analítica, pode avaliar-se a qualidade através do coeficiente de correlação (r), uma vez que demonstra a variação dos dados obtidos sendo menor quanto mais próximo de um (1) for o valor de r, considerando-se como evidencia de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão (ANVISA, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

A linearidade do instrumento foi avaliada pela construção das curvas analíticas através de padronização externa no solvente e no extrato branco da matriz. A avaliação da linearidade do método foi feita pela curva trabalho, sendo fortificadas amostras de água e lodo em diferentes níveis com a solução padrão dos analitos. As amostras foram submetidas ao processo de extração (SPE e QuEChERS, respectivamente) para posterior análise por LC-MS/MS.

Para a construção das curvas analíticas, foram preparados três grupos de soluções:

- Grupo 1: Diluições em diferentes concentrações a partir da solução padrão de trabalho no solvente (Metanol na SPE e Acetonitrila acidificada (1% CH₃COOH) no QuEChERS)
- Grupo 2: Diluições em diferentes concentrações a partir da solução padrão de trabalho no extrato branco da matriz (água e lodo) (pós fortificação)

Grupo 3: Soluções obtidas a partir da extração das amostras de água e lodo fortificadas com a solução padrão (pré fortificação)

O grupo 1 e 2 foi utilizado para o cálculo do efeito matriz, e o grupo 3 para o cálculo das recuperações. Todas as soluções foram injetadas em triplicata no equipamento, e cada curva teve no mínimo cinco (5) níveis de concentração.

Através do software do equipamento foram obtidas as equações das curvas obtendo os parâmetros de regressão linear a partir dos quais foram avaliados os coeficientes de correlação linear (r) e coeficiente de determinação (R^2).

4.9.3 Efeito Matriz (EM)

O efeito matriz é definido como a diminuição ou o aumento da resposta instrumental do analito devido a presença de outros compostos (BOQUÉ, 2005). A avaliação do EM foi realizada através da comparação dos coeficientes angulares (α) das curvas analíticas por padronização externa no solvente e no extrato branco da matriz (água da torneira) e lodo de ETA. O cálculo deste parâmetro é obtido pela equação (5).

$$EM = \frac{\alpha_1 - \alpha_2}{\alpha_2} \times 100 \quad (5)$$

Onde:

α_1 : Coeficiente angular da curva para cada analito obtida pelas injeção das soluções analíticas em diferentes concentrações, preparada no extrato branco da matriz.

α_2 : Coeficiente angular da curva para cada analito obtida pela injeção das soluções analíticas em diferentes concentrações, preparada no solvente (metanol ou acetonitrila acidificada (1% CH_3COOH)).

Durante a aplicabilidade, o EM (%) foi avaliado comparando as áreas obtidas das entre as soluções analíticas no solvente (metanol) e no extrato da matriz (água mineral) na concentração LOQ para a maioria dos analitos. O cálculo por áreas e realizado através da equação (6).

$$EM(\%) = \frac{A_1 - A_2}{A_2} \times 100 \quad (6)$$

Onde:

A₁; Média aritmética das áreas obtidas pela injeção das soluções preparadas através de diluições da solução padrão no solvente em uma concentração intermediária para cada analito.

A₂; Média aritmética das áreas obtidas pela injeção das soluções preparadas através de diluições da solução padrão no extrato da matriz em uma concentração intermediária para cada analito.

O EM é classificado de acordo com a faixa do valor, sendo considerado como baixo entre $-20 \leq EM(\%) \leq +20$, como médio entre $-20 \leq EM(\%) \leq -50$ ou $+20 \leq EM(\%) \leq +50$ e como alto entre $-50 < EM(\%)$ ou $EM(\%) > +50$ (ECONOMOU *et al.*, 2009).

4.9.4 Exatidão

Este parâmetro foi avaliado através da concordância entre o valor médio obtido de uma série de resultados (área obtida da amostra fortificada) em relação ao valor de referência (valor verdadeiro) (área obtida do padrão), chamada de recuperação média (SANTE, 2015) para três níveis de concentração para cada analito.

As amostras (água e lodo) foram fortificadas em concentrações equivalentes ao LOQ, 5LOQ e 10LOQ para posteriormente serem submetidas ao processo de extração e determinação por LC-MS/MS em triplicata para cada nível, assim como a injeção em triplicata por cada um dos níveis.

A determinação das recuperações (R), foi calculada utilizando a equação (7), onde foram substituídos os valores médios das áreas para as amostras fortificada (pré fortificação e pós fortificação) e amostras não fortificada (branco).

$$R = \frac{\overline{A_{pref}} - \overline{A_{branco}}}{\overline{A_{posf}}} \times 100 \quad (7)$$

Onde:

$\overline{A_{pref}}$: Média aritmética das áreas obtidas por pré fortificação da amostra.

$\overline{A_{branco}}$: Média aritmética das áreas obtidas da amostra não fortificada.

$\overline{A_{posf}}$: Média aritmética das áreas obtidas no solvente (lodo) e no extrato da matriz (água) (pós fortificação).

4.9.5 Precisão

A precisão do método foi avaliada através do cálculo da estimativa do Desvio Padrão Relativo (RSD). O cálculo foi realizado através da equação (8):

$$RSD = \frac{s}{\bar{A}_r} * 100 \quad (8)$$

Onde:

s: estimativa do desvio padrão absoluto

\bar{A}_r : Média das medidas em replicata

Com o objetivo de avaliar a concordância nas medições sucessivas do método sobre as mesmas condições de repetitividade (mesmo procedimento de extração; mesmo analista; mesmas condições cromatográficas; injeção em triplicata; mesmo local e repetições em um curto intervalo de tempo) (RIBANI *et al.*, 2004) amostras foram fortificadas nos mesmos níveis de concentração no qual foi avaliada a exatidão (LOQ, 5LOQ e 10LOQ), para o cálculo da repetitividade (RSDr).

Outro parâmetro avaliado foi a precisão intermediária (RSDi), a qual foi realizada nas mesmas condições de repetitividade para os níveis (5LOQ e 10LOQ) e em dias diferentes.

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Seleção das melhores condições de detecção no espectrômetro de massas

Com o uso de soluções individuais dos padrões analíticos na concentração de 1 mg L⁻¹ injetadas no espectrômetro de massas se determinou as melhores condições de fragmentação dos íons monitorados nas seguintes condições operacionais: temperatura de fonte de ionização 100 °C, temperatura de gás de solvatação (N₂) de 400 °C, vazão de gás de dessolvatação de 500 L h⁻¹ e vazão de gás de cone de 50 L h⁻¹.

A ESI foi utilizada como fonte de ionização a pressão atmosférica devido a mediana polaridade dos analitos, valores de Log K_{ow} entre 2 e 4 (ALMEIDA e NOGUEIRA, 2014; CABALEIRO *et al.*, 2014; CHEMSPIDER, 2015), assim como, pela estrutura molecular dos analitos que apresentam grupos carboxilas e hidroxilas com uma maior tendência a perda de prótons. De acordo com LEE *et al.* (2006), o modo negativo ESI(-) mostrou-se o melhor para a desprotonação e formação dos íons moleculares negativos [M-H]⁻ de parabenos, sendo utilizado para este estudo o modo negativo o qual apresentou as melhores repostas de intensidade para os fragmentos dos íons monitorados.

Na Figura 8, apresenta-se os parâmetros otimizados no espectrômetro para os nove compostos estudados por ESI(-) no modo SRM, assim como, a sequência de fragmentação monitorada a qual consistiu na maioria dos analitos na perda da cadeia alquila unida ao grupo éster (m/z 136) seguido pela perda de CO₂ (m/z 92). Este padrão de fragmentação já foi reportado em outros estudos (NÚÑEZ *et al.*, 2008; GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2009; BENÍTEZ-VILLALBA *et al.*, 2013; MOOS *et al.*, 2014). O PhPB apresentou um padrão de fragmentação diferente Q 213,16(92,9) q 213,16(64,9), ao encontrado na revisão da literatura Q 213,0(92,9) q 213,01(136,0) (BENÍTEZ-VILLALBA *et al.*, 2013) e ao obtido para a maioria dos analitos.

Figura 8. Condições de fragmentação e espectro de massa obtido no modo SRM para cada um dos PBs em uma solução padrão 1 mg L⁻¹

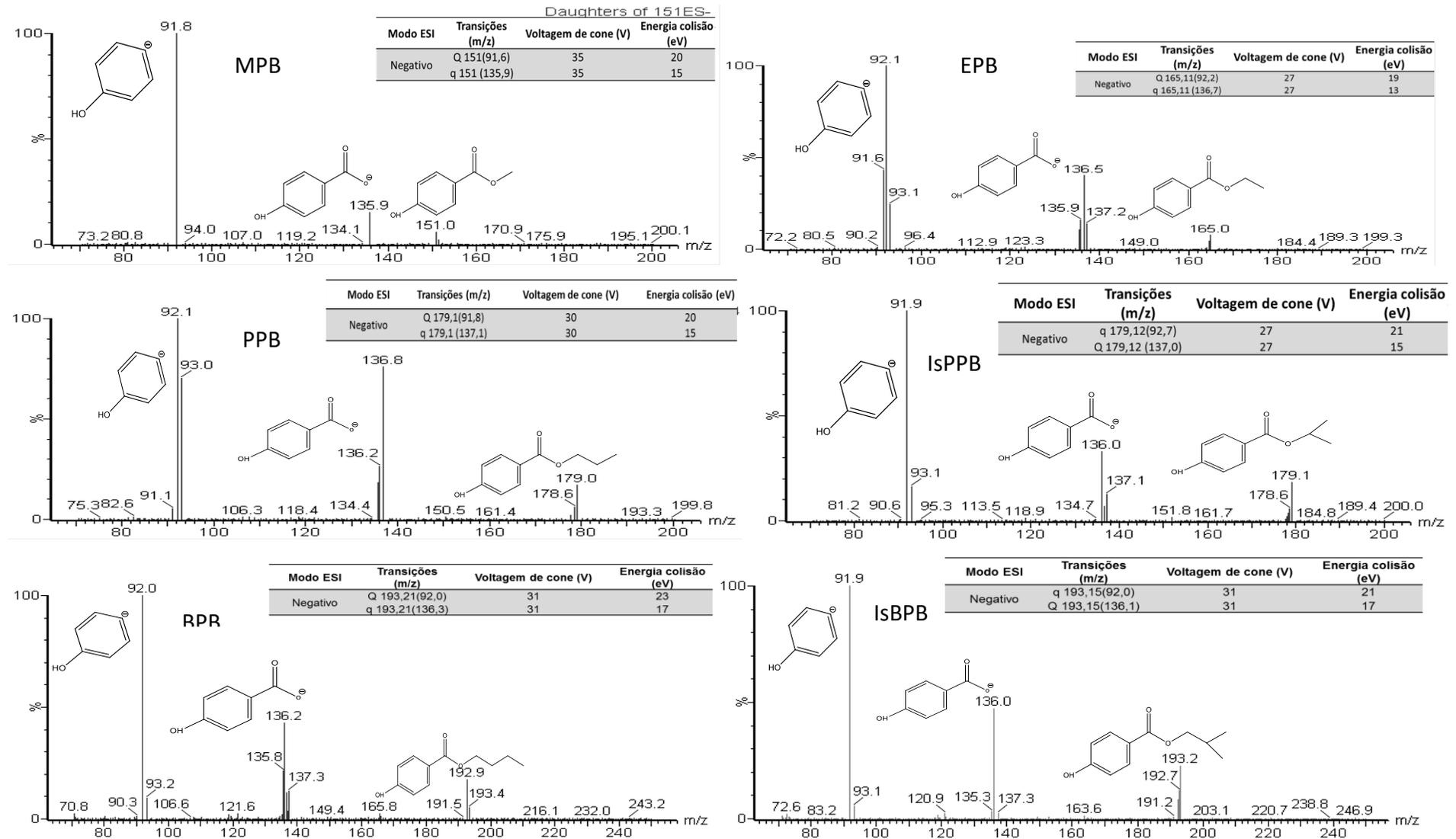
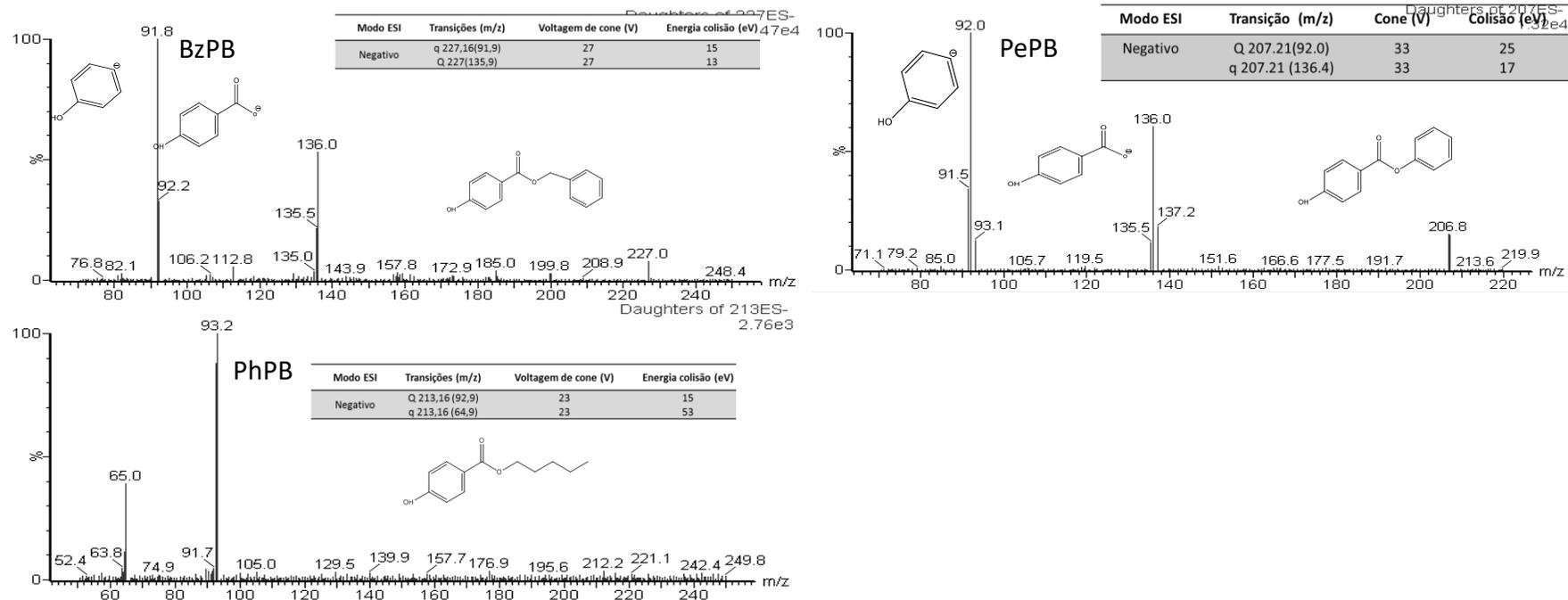


Figura 8. Condições de fragmentação e espectro de massa obtido no modo SRM para cada um dos PBs em uma solução padrão 1 mg L⁻¹



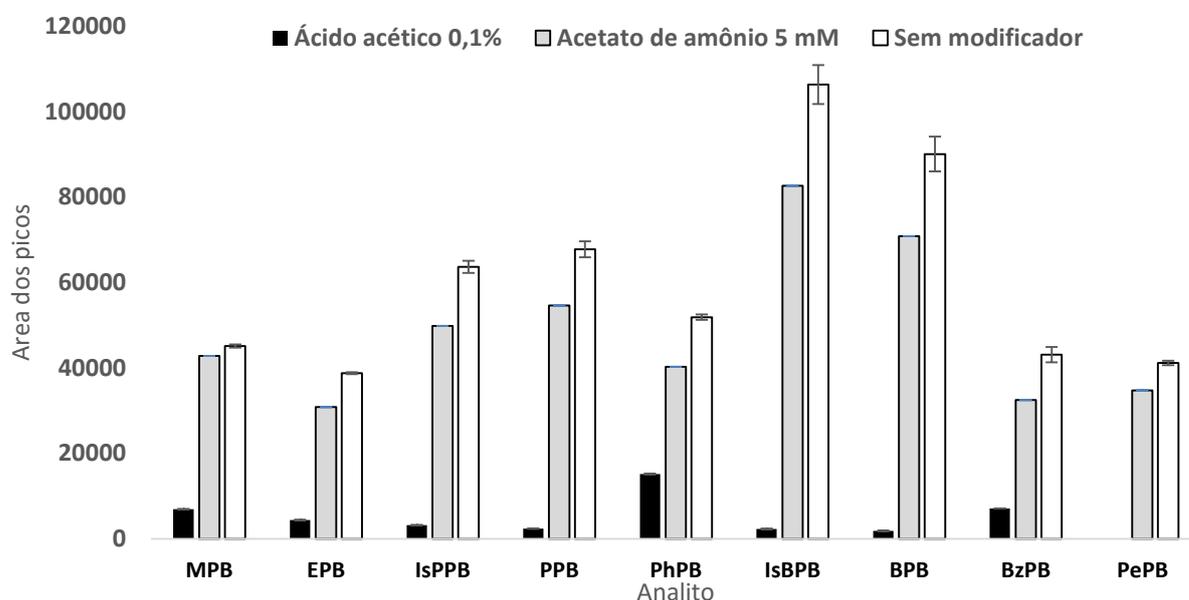
5.2 Escolha da composição e vazão da fase móvel

Definiu-se como parâmetros qualitativos para a escolha da melhor fase móvel: resposta do instrumento (área do pico) e a separação cromatográfica dos picos. O solventes empregados como fase móvel foram água, metanol e acetonitrila.

Na revisão bibliográfica pode-se observar que as fases móveis mais comumente utilizadas na determinação de parabenos são binárias tais como água/metanol (ALMEIDA e NOGUEIRA, 2014; CARMONA *et al.*, 2014) ou água/acetonitrila (RENZ *et al.*, 2013; ROCÍO-BAUTISTA *et al.*, 2015; SERRA-ROIG *et al.*, 2016) com a adição de modificador orgânico (ácido acético, ácido fórmico ou acetato de amônio) ou sem a adição de modificador.

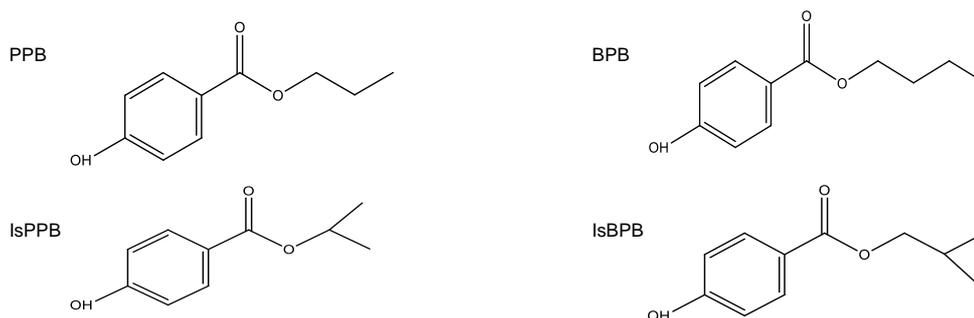
O uso de acetato de amônio (Figura 9) como modificador em uma fase móvel binária (água ultrapura/metanol) apresentou uma diminuição do sinal para os 9 analitos determinados em relação ao uso da mesma fase móvel sem adição de modificador. Este comportamento deve-se ao incremento na concentração de ânions no aerossol competindo com os ânions do composto monitorado pela superfície da gota (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2009). Da mesma forma, o ácido acético (Figura 9) em uma fase binária (água ultrapura/acetonitrila) foi testado como modificador apresentando supressão no sinal dos parabenos, em relação ao uso da mesma sem modificador. Isto deve-se a formação da forma neutra dos compostos a qual gera uma diminuição na resposta no ESI(-) (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2009).

Figura 9. Área do pico para os analitos ionizados no modo negativo empregando como modificador o ácido acético 0,1%, acetato de amônio 5 mM e sem modificador. Condições de eluição MeOH/água 60:40, Isocrático, 0,2 mL min⁻¹. Barras de erro representam o desvio padrão relativo (n=3, 3 injeções)



Foi testada então uma fase móvel ternária composta por A: água ultrapura 0,1% ácido fórmico e B: metanol/acetonitrila 50:50 (v/v) 0,1% ácido fórmico utilizada com sucesso em análises de PBs, incluindo os isômeros IsPPB, PPB, IsBPB e BPB (Figura 10) em colunas C18 Fused-core™ (PERKINELMER, 2011).

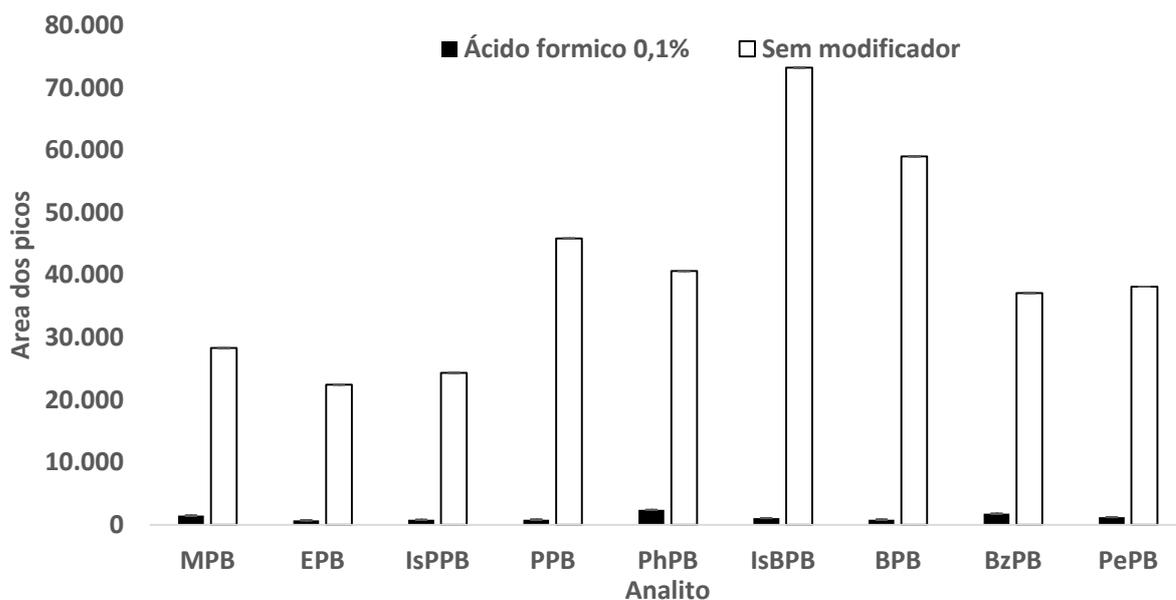
Figura 10. Isômeros IsPPB, PPB, IsBPB e BPB



A condição anteriormente descrita foi testada com e sem a adição do modificador, apresentando a melhor resposta do sinal para os nove analitos em estudo sem a adição de modificador (Figura 11), incluindo os isômeros sendo a condição escolhida. Estudos recentes já reportaram o uso de fases móveis ternárias: água, metanol e acetonitrila na

determinação de conservantes de diferentes classes, incluindo os parabenos (DIAS *et al.*, 2015).

Figura 11. Área do pico para os analitos ionizados no modo negativo com o uso de ácido fórmico 0,1% como modificador e sem modificador em fase móvel ternária (ACN/MeOH/água 25:75, Gradiente, 0,4 mL min⁻¹) no modo gradiente. Barras de erro representam o desvio padrão relativo (n=3, 3 injeções)



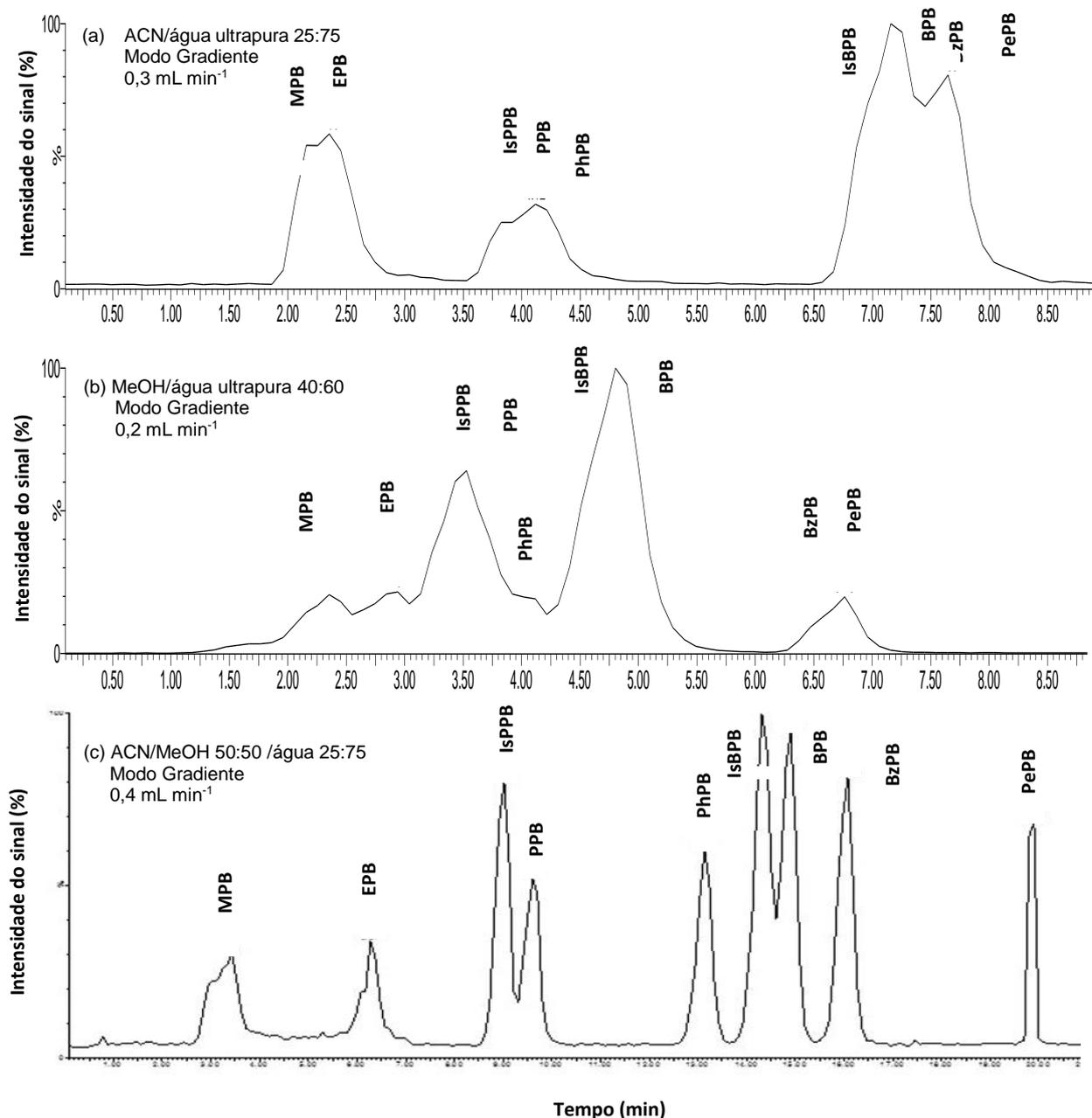
Pode-se observar que com a adição do ácido fórmico ($pK_a = 3,5$) (Figura 10) na fase móvel a diminuição na resposta do sinal é maior, em relação ao ácido acético ($pK_a = 4,5$) (Figura 9). Com o aumento do pH na fase móvel a dissociação dos íons aumenta, enquanto fora este valor mais próximo ao valor do pK_a do analito aumenta-se a suscetibilidade ao efeito do pH e a sua resposta (sinal) (SHIMADZU, 2016). Neste contexto, os analitos em estudo apresentam valores de pK_a na faixa de 8,17 até 8,40, sendo mais próximo ao valor de pK_a do ácido acético.

Foi testado o uso de metanol como solvente na fase móvel em coluna C18 capeada apresentando co-eluição dos analitos como é apresentado na Figura 12 (b). Devido a este resultado foi testado o uso de um solvente com uma maior força eluotrópica ($^{\circ}\epsilon$) com a finalidade de melhorar a separação cromatográfica dos nove analitos, incluindo os isômeros. O uso de acetonitrila ($3,1^{\circ}\epsilon$) a qual apresenta uma força de eluição maior em relação ao metanol ($1,0^{\circ}\epsilon$) em colunas C18 (SANDERKOK., 2007), também apresentou co-eluição dos analitos como é apresentado na Figura 12 (a). Com o uso de fases móveis binárias a separação cromatográfica dos isômeros (IsPPB, PPB,

BPB, IsBPB), não foi ideal quando utilizada a coluna C18 capeada apresentando co-eluição. Este comportamento já foi reportado em diversos estudos na separação de isômeros de parabenos em colunas C18 (GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.*, 2009; MOOS *et al.*, 2014; ROCÍO-BAUTISTA *et al.*, 2015).

O uso de uma fase móvel ternária constituída por A: água ultrapura, B: metanol/acetonitrila 50:50 (v/v), permitiu a separação dos nove compostos, que incluíam isômeros na coluna C18 capeada apresentada na Figura 12 (c), baseada na força eluotrópica intermediária obtida da mistura MeOH:Acetonitrila.

Figura 12. Separação cromatográfica obtida para a mistura de padrões em fases móveis binárias: ACN/água 25:75 (a), MeOH/água 40:60 (b) e ternária ACN/MeOH 50:50 /água 25:75 (c) em coluna capeada Kinetex C18 Phenomenex



Estudo prévios que alcançaram uma separação adequada de isômeros utilizaram colunas C18 Fused-Core™ a fim de se obter uma separação de isômeros de PBs mais seletiva através da redução das caídas de pressão e uma melhor difusão dentro e fora da fase estacionária (Tabela 9). Vale ressaltar a redução no custos quando se utiliza coluna C18 capeada em relação a colunas C18 Fused-core™.

Tabela 9. Revisão de estudo que utilizaram colunas C18 na separação de isômeros de PBs

Coluna	Caraterística	Modificação	Vazão (mL min ⁻¹)	Matriz	Isômeros	Referência
Brownlee HRES C18 Perkin Elmer	50 mm x 2,1 mm; 1,9mm	Fused-core™, redução das caídas de pressão e diminuição da fricção por aquecimento.	0,5	Cosméticos	IsPPB, PPB, BPB, IsBPB	(PERKINELMER, 2011)
Halo™ Advanced material technology	C18 100 mm x 2,1mm; 2,7 mm	Fused-core™ e coluna porosa, melhora na difusão dos solutos dentro e fora da fase estacionária.	0,2	Águas residuais	IsPPB, PPB, BPB, IsBPB	(GONZÁLEZ-MARIÑO <i>et al.</i> , 2009)
Atlantis Waters	dC18 150 mm x 30 mm; 3 µm	Capeada, redução dos sinalóis residuais	0,1-0,4	Urina	IsPPB, PPB, BPB, IsBPB	(MOOS <i>et al.</i> , 2014)
Kinetex Phenomenex	C18 50 mm x 3,0 mm; 2,6 µm	Capeada, retenção hidrofóbica e seletividade em grupos metilenos	0,4	Água de abastecimento, água mineral, lodo de ETA	IsPPB, PPB, BPB, IsBPB	ESTE ESTUDO

A fase móvel escolhida para a separação cromatográfica foi ACN/MeOH/água em uma coluna capeada C18 Kinetex Phenomenex (50 mm×3,0 mm d.i, 2,6 µm), demais parâmetros instrumentais são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS

Parâmetros instrumentais	
Polaridade	ESI (-)
Temperatura de fonte (°C)	100
Temperatura de dessolvatação (°C)	400
Vazão de gás de dessolvatação (L h ⁻¹)	500
Vazão de gás de cone (L h ⁻¹)	50
<i>dwel time</i> (s)	0,3

O modo de eluição escolhido foi o modo gradiente, na Tabela 11 apresenta-se as condições de eluição empregadas com um tempo total de análise de 24 min.

Tabela 11. Condições de eluição empregadas no modo gradiente

T (min)	Água	Metanol	Acetonitrila
0	75	12,5	12,5
2	75	12,5	12,5
4	65	17,5	17,5
8	63	18,5	18,5
13	60	20	20
16	60	20	20
18	20	40	40
19	75	12,5	12,5
24	75	12,5	12,5

5.3 SPE

5.3.1 Efeito do pH para amostras aquosas

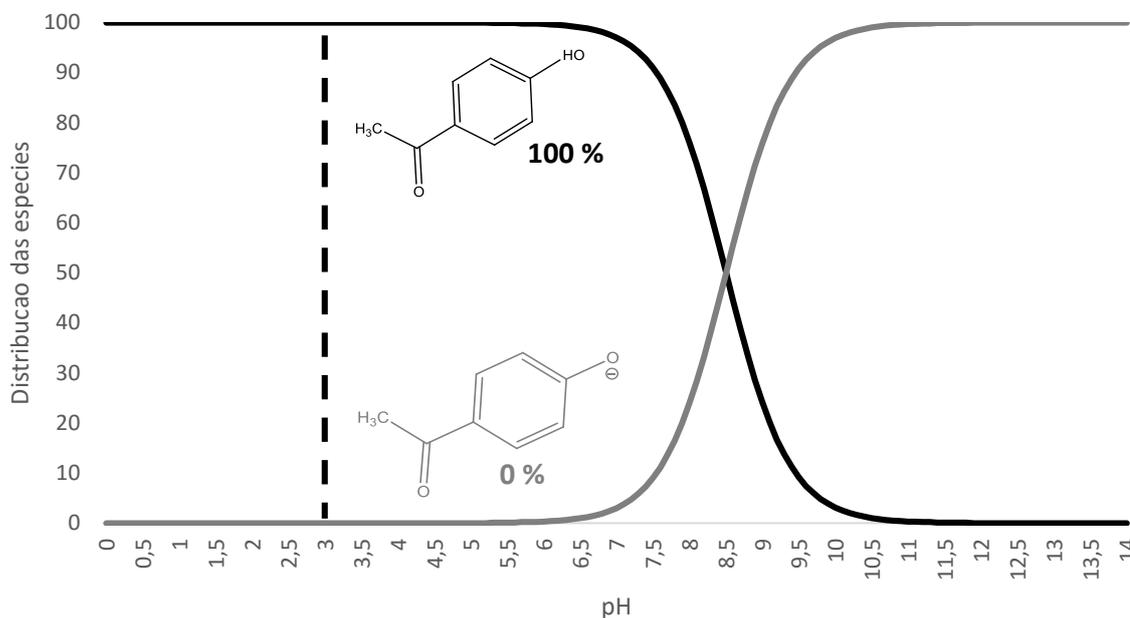
A avaliação do pH foi feita em as duas condições validadas por CALDAS *et al.* (2013) não acidificada (pH=6) e acidificada (pH=3), através de ensaios de recuperação para os nove parabenos (Tabela 12). Também foi avaliado o EM nas duas condições.

Tabela 12. Recuperações (R%) para a condição não acidificada (pH=6) e acidificada (pH=3) na concentração 0,05 mg L⁻¹ em água de abastecimento

Analito	Recuperações		EM (%)	
	R ± RSD (%)		pH=6	pH=3
	pH=6	pH=3		
MPB	109 ± 13	108 ± 3	-7	5
EPB	79 ± 7	116 ± 9	-32	19
IsPPB	94 ± 9	77 ± 7	-7	-2
PPB	150 ± 10	110 ± 11	-14	-21
PhPB	100 ± 5	97 ± 13	-25	-12
IsBPB	77 ± 9	106 ± 3	2	-4
BPB	122 ± 3	97 ± 3	-10	-29
BzPB	169 ± 12	133 ± 9	2	9
PePB	121 ± 7	124 ± 4	-16	-12

Pode-se observar que em ambas condições as recuperações para a maioria dos analitos encontraram-se na faixa de 70-120% estabelecida como aceitável para a validação de métodos analíticos multiresíduos (SANTE, 2015). Este comportamento pode ser explicado em função da estabilidade dos parabenos em uma ampla faixa de pH (BŁĘDZKA *et al.*, 2014). ESRAFILI *et al.* (2014), avaliou o efeito do pH na extração de PBs na faixa de 1-9 evidenciando que não é significativo a variação na extração de PBs. Na Figura 13, pode-se observar para o MPB a forma não dissociada (espécie 1) tem mais afinidade com o sorvente C18 (apolar) na faixa de pH 3 a 6 contida no cartucho aumentando sua retenção. Por outra parte, o EM mostrou-se semelhante nas duas condições sendo baixo (<20%) para a maioria dos analitos em estudo (Tabela 12).

Figura 13. Variação na percentagem (%) de dissociação do metilparabeno e sua espécie dissociada



No entanto, GONZÁLEZ-MARIÑO *et al.* (2011) demonstrou que além dos parabenos ter valores de $pK_a \approx 8$, condições ácidas fracas (pH 3) são melhores para a extração de PBs e seus isômeros em fase reversa, apesar de provocar a retenção dos ácidos húmicos presentes em matrizes aquosas. Estudos prévios utilizaram a SPE com ajuste de pH=3 para extração de MPB em amostras de água potável e água superficial (SILVEIRA *et al.*, 2013) apresentando recuperações acima do 97% e PPB água superficial (CALDAS *et al.*, 2013) apresentando recuperações acima de 76%. Devido a isso, decidiu-se escolher a condição acidificada.

5.3.2 Condições da SPE selecionada

O procedimento SPE empregou 250 mL de amostra, previamente acidificadas a pH=3 e filtradas através de membranas de acetato de celulose (0,45 μm) (CALDAS *et al.*, 2013), com pressão do vácuo de 600 mmHg. Posteriormente as amostras foram percoladas em cartuchos SPE contendo 500 mg de fase estacionária C18 e capacidade de 3 mL, com tamanho médio de partícula de 55 μm onde os cartuchos foram previamente condicionados com 3 mL de metanol, 3 mL água ultrapura e 3 mL água ultrapura (pH=3). A percolação ocorreu a uma pressão do vácuo de 350 mmHg. O tempo do secagem dos cartuchos foi de 15 min a pressão atmosférica.

A eluição dos cartuchos foi realizada com 2 mL de metanol (2 alíquotas de 1 mL) e posterior análises por LC-MS/MS.

5.3.3 Validação do método empregando SPE e LC-MS/MS

5.3.1.1 Limite de detecção e quantificação

Os valores de LOQi e LOQm são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Limite de detecção instrumental (LODi), Limite de Quantificação instrumental (LOQi), limite de detecção do método (LODm) e limite de quantificação do método (LOQm)

Analito	LODi (mg L ⁻¹)	LOQi (mg L ⁻¹)	LODm (ng L ⁻¹)	LOQm (ng L ⁻¹)
MPB	0,003	0,01	24	80
EPB	0,003	0,01	24	80
IsPPB	0,003	0,01	24	80
PPB	0,0015	0,005	12	40
PhPB	0,0015	0,005	12	40
BzPB	0,0015	0,005	12	40
IsBPB	0,0015	0,005	12	40
BzPB	0,0015	0,005	12	40
PePB	0,0015	0,005	12	40

Os valores reportados na Tabela 13 para os valores de LODm foram inferiores ou similares aos encontrados na literatura para a determinação de parabenos 100-300 ng L⁻¹ (MPB, EPB, PPB e BPB) (RENZ *et al.*, 2013), 50-500 ng L⁻¹ (MPB) (SILVEIRA *et al.*, 2013), utilizando a SPE.

Adicionalmente, os valores de LOQm encontram-se na faixa dos valores detectados em estudos em matrizes aquosas. MPB foi detectado em concentrações <LOQ (100 ng L⁻¹) em água de abastecimento no Sul do Brasil (SILVEIRA *et al.*, 2013). CARMONA *et al.* (2014) detectou valores de 40 ng L⁻¹ (MPB) em água mineral e 119 ng L⁻¹ (MPB) e 145 ng L⁻¹ (PPB) em águas superficiais da Riviera Turia, Espanha. Em águas superficiais e subterrâneas da Riviera Besós na Espanha foi detectado a presença do

MPB em concentrações de 38,9 ng L⁻¹ até 194 ng L⁻¹ e PPB em concentrações de 61,9 ng L⁻¹ até 73,3 ng L⁻¹ (SERRA-ROIG *et al.*, 2016).

5.3.1.2 Curva analítica e linearidade

As curvas analíticas por padronização externa (solvente) e padronização externa (extrato) tiveram como primeiro ponto o valor do LOQ e como ponto maior a concentração de 0,5 mg L⁻¹, garantindo que todas as curvas apresentassem no mínimo cinco níveis de concentração. No caso da curva trabalho (amostras pré fortificadas), considerando o processo de extração que tem um fator de preconcentração de 125x vezes a faixa encontrou-se entre o LOQm até 4000 ng L⁻¹.

As curvas analíticas (solvente e extrato) são apresentadas na Tabela 14. Os valores de coeficiente correlação (*r*) variaram entre 0,9934 e 0,9995, em concordância com o critério estabelecido pela ANVISA (*r*>0,99) para todos os analitos.

Tabela 14. Resultados obtidos para as curvas analíticas no solvente e no extrato da matriz

Analito	Faixa linear (mg L⁻¹)	Curva analítica por padronização externa (solvente)	r	Curva analítica por padronização externa (extrato)	r
MPB	0,005-0,5	$y = 21703x + 38,264$	0,9977	$y = 16685x - 18,657$	0,9934
EPB	0,005-0,5	$y = 22912x + 18,392$	0,9994	$y = 20506x - 60,806$	0,9939
IsPPB	0,005-0,5	$y = 26412x + 43,021$	0,9987	$y = 27392x - 55,422$	0,9951
PPB	0,01-0,5	$y = 30803x + 32,858$	0,9988	$y = 31804x - 47,66$	0,9932
PhPB	0,01-0,5	$y = 43246x + 29,121$	0,9983	$y = 48228x - 121,91$	0,9995
IsBPB	0,01-0,5	$y = 37993x + 55,542$	0,9991	$y = 42201x - 34,777$	0,9969
BPB	0,01-0,5	$y = 30520x + 60,555$	0,9990	$y = 35451x - 56,901$	0,9952
BePB	0,01-0,5	$y = 36242x + 46,004$	0,9984	$y = 41935x - 102,31$	0,9944
PePB	0,01-0,5	$y = 41191x + 45,613$	0,9987	$y = 34545x - 74,473$	0,9992

5.3.1.3 Exatidão e precisão

Através de ensaios de recuperação (R) foi avaliada a eficiência da SPE. Os valores de recuperação foram entre 70 e 115%, estando dentro da faixa aceitável (70-120%). Também foi avaliada a precisão intermediária (Tabela 15) nos seguintes níveis 5LOQ e 10LOQ. Os valores obtidos para todos os PBs ficaram entre 70 e 88% e os valores de RSD (%) foram inferiores a 14%.

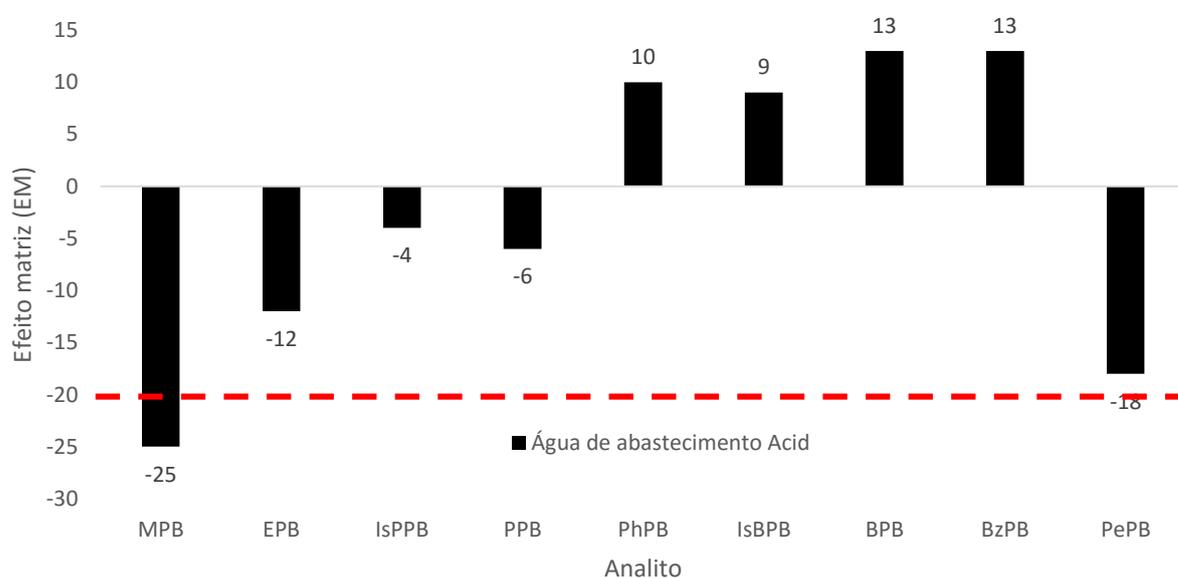
Tabela 15. Recuperações (%) e precisão (RSD) em termos de repetitividade e precisão intermediária para os analitos nos diferentes níveis de fortificação

Analito	LOQ (ng L ⁻¹)	R ± RSD (%)	5LOQ (ng L ⁻¹)	R ± RSD (%)	10LOQ (ng L ⁻¹)	R±RSD (%)	R±RSD (%)		
							LOQ	5LOQ	10LOQ
MPB	80	115 ± 4	200	79 ± 15	400	71 ± 2	98 ± 3	88 ± 12	81 ± 6
EPB	80	99 ± 19	200	92 ± 20	400	74 ± 4	75 ± 3	72 ± 13	77 ± 8
IsPPB	80	90 ± 15	200	83 ± 18	400	71 ± 6	70 ± 9	71 ± 11	74 ± 9
PPB	40	88 ± 11	200	84 ± 16	400	74 ± 6	74 ± 13	77 ± 9	80 ± 4
PhPB	40	84 ± 11	200	94 ± 17	400	74 ± 4	75 ± 1	73 ± 11	73 ± 11
IsBPB	40	86 ± 16	200	81 ± 16	400	70 ± 7	72 ± 2	70 ± 10	70 ± 8
BPB	40	79 ± 16	200	86 ± 17	400	77 ± 8	73 ± 1	71 ± 13	73 ± 7
BzPB	40	80 ± 20	200	82 ± 17	400	70 ± 6	70 ± 20	71 ± 12	71 ± 2
PePB	40	91 ± 7	200	85 ± 16	400	70 ± 13	72 ± 7	75 ± 14	83 ± 8

5.3.1.4 Efeito matriz

Através da inclinação das curvas analíticas no extrato da matriz e no solvente foi calculado o efeito matriz (ECONOMOU *et al.*, 2009). Os valores obtidos apresentaram enriquecimento do sinal para PhPB, IsBPB, BPB e BzPB, assim como, supressão do sinal para os seguintes compostos: MPB, EPB, IsPPB, PPB e PePB (Figura 14).

Figura 14. Efeito matriz (água de abastecimento) para os analitos na condição acidificada (pH=3)



Pode-se observar uma diminuição na supressão do sinal com o incremento da cadeia alquímica nos compostos com tempo de retenção (t_R) na faixa de 3 até 10 minutos: EPB ($t_R=6,27$ s), IsPPB ($t_R=9,02$ s) e PPB ($t_R=9,61$ s). O composto MPB ($t_R=3,43$ s) com o menor tempo de retenção apresentou o maior efeito de supressão do sinal, sendo considerado segundo ECONOMOU *et al.* (2009) como um efeito matriz médio ao ser maior que $\pm 20\%$. Este comportamento pode ser explicado devido a sua pequena cadeia alquímica a qual apresenta uma baixa atividade de seus íons na superfície da gota gerada no eletrospray gerando um maior blindagem da carga ao ter um maior raio do íon hidratado aumentando a competição com outros íons menos blindados na ionização (CHROMACADEMY, 2016a). KASPRZYK-HORDERN *et al.* (2008), relacionou a supressão do sinal na interface do eletrospray com a presença de impurezas (co-

extrativos) nas matrizes aquosas analisadas durante o estudo de PPCPs, assim como, à contribuição do alto percentual da água comumente usada na fase móvel na eluição de analitos desta classe com t_R entre 5 a 7 minutos.

Durante a aplicabilidade do método em água mineral o EM também foi avaliado sendo para a maioria dos compostos baixo EM ($\% \leq 20$) na concentração LOQ.

5.3.1.5 Aplicabilidade em matrizes aquosas

A aplicação do método validado foi realizada em amostras de água de abastecimento da CORSAN da cidade de Rio Grande, RS, Brasil e em amostras de água mineral a fim de verificar a ocorrência de PBs. Foi utilizada a padronização externa (extrato), em cinco diferentes níveis de concentração. Características físico-químicas como pH e turbidez das amostras aquosas são apresentadas na Tabela 16.

Tabela 16. Propriedades físico-químicas para as amostras aquosas usadas na verificação da aplicabilidade do método validado

Amostra	Mês da coleta/compra	pH	Turbidez (NTU)
	Agosto 2016	7,08	0,5
Água de abastecimento	Setembro 2016	7,49	0,69
	Outubro 2016	4,83	0,21
	Novembro 2016	6,71	1,43
Água mineral A	Setembro 2016	9,79	n.r
Água mineral B	Setembro 2016	7,63	n.r
Água mineral C	Outubro 2016	10,09	n.r
Água mineral D	Outubro 2016	7,10	n.r
Água mineral E	Janeiro 2017	7,15	n.r
Água mineral F	Janeiro 2017	7,06	n.r
Água mineral G	Janeiro 2017	5,83	n.r
Água mineral H	Janeiro 2017	6,79	n.r

n.r: não realizada

O ponto de coleta da água de abastecimento foi realizado após os tratamentos físico-químicos implementados na ETA. Foi detectado apenas o MPB, e em concentrações menores que o LOQ (80 ng L^{-1}). Estudos prévios reportaram a presença

de PBs em água de abastecimento da região de Rio Grande (CALDAS *et al.*, 2013; SILVEIRA *et al.*, 2013). CALDAS *et al.* (2013) reportou no mesmo local a ocorrência do PPB na concentração de 135,5 ng L⁻¹. SILVEIRA *et al.* (2013), detectou em água de abastecimento da região o MPB em concentrações abaixo do LOQ (1000 ng L⁻¹). Os parabenos são conservantes amplamente usados em PPCPs e tem sido detectados em água de abastecimento de outros países. CARMONA *et al.* (2014), detectou a presença do MPB, PPB e BPB em concentrações entre 9 a 28 ng L⁻¹ em água de abastecimento na Espanha.

A pouca ocorrência de PBs na água de abastecimento, assim como a baixa concentração encontrada do MPB em este estudo pode estar relacionada com a eficiência nos diferentes processos físico-químicos aplicados na remoção dos contaminantes atingidos pela legislação local para águas superficiais conseguindo atingir os PBs uma vez que tem sido evidenciada a ocorrência em águas superficiais em Rio Grande, Brasil onde já foi detectado o MPB em concentrações menores ao LOQ (8 ng L⁻¹) em amostras coletadas entre 2010 e 2011 (CALDAS *et al.*, 2013), e na faixa do LOQ (1000 ng L⁻¹) até 134000 ng L⁻¹ em amostras coletadas entre 2011 e 2012 (SILVEIRA *et al.*, 2013).

Os resultados da aplicabilidade na água mineral são apresentados na Tabela 17, sendo que só o MPB foi detectado em concentrações entre o LOQ até 242 ng L⁻¹ em duas das quatro marcas comerciais analisadas. CARMONA *et al.* (2014) também detectaram MPB, assim como, a detecção EPB, PPB e BPB foram reportadas para amostras de água mineral adquiridas no mercado local espanhol em concentrações entre 23 e 40 ng L⁻¹. Nos Estado Unidos, a presença de BPB e BzPB também foram investigados, mas estes não foram detectados (RENZ *et al.*, 2013).

Tabela 17. Concentrações dos analitos detectados em diferentes amostras de água mineral

Analito	LOQm (ng L ⁻¹)	A		B		C		D		E		F		G		H	
		Conc. (ng L ⁻¹)	RSD* (%)														
MPB	80	< LOQ		<LOQ		242	34	111	10	105	31	103	17	125	24	90	26
EPB	80	n.d															
IsPPB	80	n.d															
PPB	40	n.d															
PhPB	40	n.d															
IsBPB	40	n.d															
BPB	40	n.d															
BzPB	40	n.d															
PePB	40	n.d															

n.d: não detectado *(n=9, 3 extrações, 3 injeções)

Dado o efeito aditivo dos PBs pelas diferentes vias de exposição (inalação, dérmica e ingestão) deve-se considerar o aporte via ingestão das concentrações obtidas do MPB nas matrizes aquosas estudadas. Estudos prévios avaliaram os efeitos dos PBs na saúde humana (SCHUG *et al.*, 2011; FRYE *et al.*, 2012; DARBRE e HARVEY, 2014). Neste contexto, DARBRE e HARVEY (2014), estudaram a eficácia na estimulação de células cancerígenas através de PBs em relação ao hormônio estradiol, no caso do MPB altas concentrações (15×10^6 ng L⁻¹) são necessárias para ter uma eficácia similar a este hormônio.

5.3.4 Comparação da SPE validada para a determinação de parabenos, incluindo isômeros com outros métodos SPE empregados em amostras aquosas

Na Tabela 18, é apresentado uma comparação das diferentes condições de SPE empregadas para a extração de parabenos em amostras de águas com determinação por LC-MS/MS. Pode-se observar que o método apresenta como vantagens a utilização de menores quantidades de solventes orgânicos na etapas de condicionamento dos cartuchos e eluição dos analitos em relação a maioria dos outros métodos. Além disso, o método abrange uma maior quantidade de parabenos em relação a outros estudos utilizando cartuchos C18 não tendo a necessidade do uso de cartuchos poliméricos que apresentam um maior custo reduzindo assim os custos do método de preparo. Parâmetros analíticos como a exatidão (R%), a precisão (RSD) e o efeito matriz (EM), mostrarem-se similares aos encontrados em outros estudos na extração de PBs utilizando o método SPE.

Além disso, o método validado apresenta vantagens de não empregar etapa de lavagem antes da eluição a não realizar a etapa de evaporação do solvente, diminuindo tempo e custo.

Tabela 18. Estudos recentes que determinaram parabenos em matrizes aquosas usando SPE

Amostra	Parabenos	Cartucho	Condiçio- namento do sorvente	Volume de amostra	Lavagem	Eluição (volume)	R (%)	RSD	EM (%)	Referência
	MPB, EPB, PPB, BPB	C18 Oasis HLB 200 mg	5 mL acetonitrila 5 mL água 1% ACN	1000 mL	n.r	ACN (5 mL)	n.d	n.d	n.d	(RENZ <i>et al.</i> , 2013)
Água Superficial	MPB, PPB	Strata C18-E 500 mg 3 mL	3 mL MeOH 3 mL água ultrapura 3 mL água ultrapura pH=3	250 mL pH=6 e pH=3	n.r	MeOH (2 mL)	52-115	4-21	n.d	(CALDAS <i>et al.</i> , 2013)
	MPB, EPB, PPB, BPB IsPPB	Strata-X 200 mg 6 mL	6 mL Acetato de etila 6 mL Etanol 6 mL água ultrapura	500 mL pH=7	5 mL 5% MeOH:H ₂ O	ACN:MeOH (1:1 v/v) (6 mL)	56-100	<11	≤100	(LUIZETE <i>et al.</i> , 2013)
Água potável*, água superficial e água residual	MPB, EPB, PPB, BPB	Strata-X 200 mg	6 mL MeOH 6 mL água destilada	1000 mL* e 250 mL	n.r	MeOH (6 mL)	93-110	≤20	≤25	(CARMONA <i>et al.</i> , 2014)
Água de abastecime- nto, água mineral;	MPB, EPB, IsPPB, PPB, BPB IsBPB, PhPB, BzPB, PePB	C18-E 500 mg 3 mL	3 mL MeOH 3 mL água ultrapura 3 mL água ultrapura pH=3	250 mL pH=3	n.r	MeOH (2 mL)	70-115	<20	≤25	MÉTODO VALIDADO

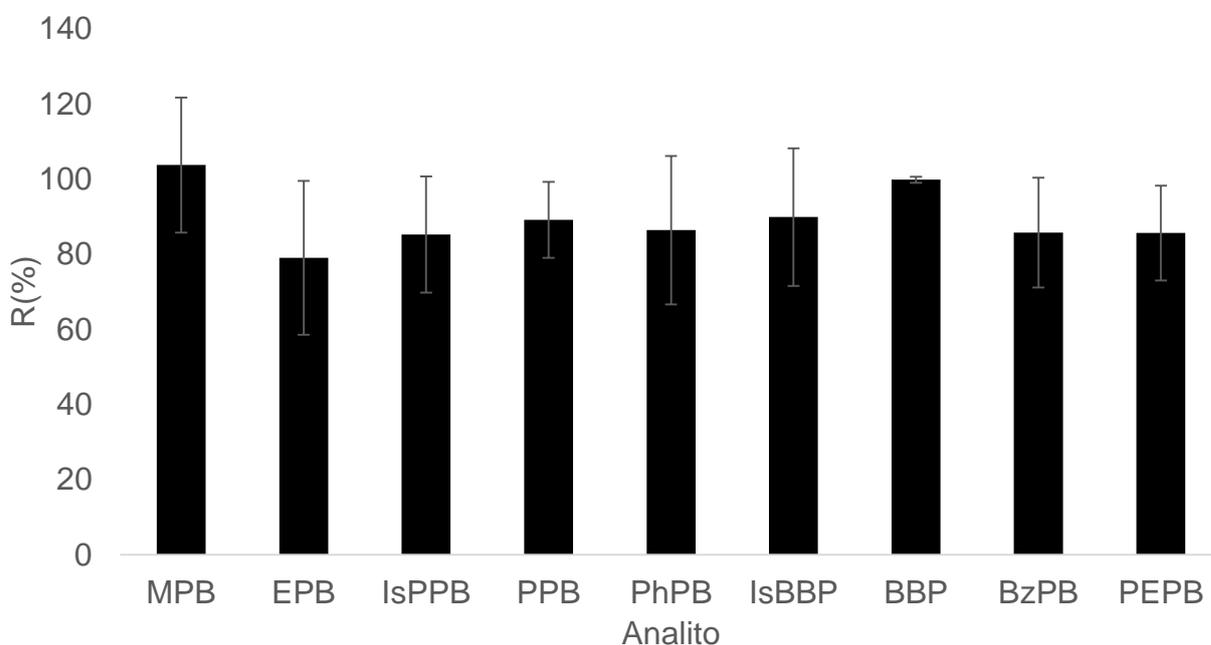
n.r: não realizado, n.d: não disponível

5.4 QuEChERS

5.4.1 Teste preliminar

Foi realizado um ensaio preliminar de recuperação no lodo de ETA seguindo o método desenvolvido por CERQUEIRA *et al.* (2014) (Figura 5), os resultados apresentados na Figura 15 mostraram recuperações na faixa 79 a 100%, assim como RSD menores ou iguais a 20% em uma concentração intermediária ($0,05 \text{ mg kg}^{-1}$).

Figura 15. Recuperações dos PBs estudados na concentração de $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ em lodo de ETA



Considerando que os resultados foram satisfatórios o método foi validado.

5.4.2 Validação do método empregando QuEChERS e LC-MS/MS

5.4.2.1 Limite de detecção e quantificação

Na Tabela 19, pode-se observar os valores de LOQi os quais ficaram entre $0,005 \text{ mg L}^{-1}$ e $0,01 \text{ mg L}^{-1}$. Com a finalidade de conferir a eficiência na extração nos níveis equivalentes ao LOQi, para definir os LOQm, foi realizado um ensaio de recuperação no lodo de ETA nas concentrações equivalentes a LOQ, sendo o LOQm de 10 ng g^{-1} para o MPB, EPB e IsPPB, para o demais analitos de 5 ng g^{-1} .

Tabela 19. Limite de detecção instrumental (LODi), Limite de Quantificação instrumental (LOQi), limite de detecção do método (LODm) e limite de quantificação do método (LOQm)

Analito	LODi (mg L⁻¹)	LOQi (mg L⁻¹)	LODm (ng g⁻¹)	LOQm (ng g⁻¹)
MPB	0,003	0,01	3	10
EPB	0,003	0,01	3	10
IsPPB	0,003	0,01	3	10
PPB	0,0015	0,005	1,5	5
PhPB	0,0015	0,005	1,5	5
BzPB	0,0015	0,005	1,5	5
IsBPB	0,0015	0,005	1,5	5
BzPB	0,0015	0,005	1,5	5
PePB	0,0015	0,005	1,5	5

Os valores reportados na Tabela 19 para os LODm, são similares aos estabelecidos por CERQUEIRA *et al.* (2014) na determinação de MPB e PPB (0,3 e 1,5 ng g⁻¹, respectivamente) com o uso de QuEChERS em lodo de ETA. Os valores de LOD e LOQ reportados na literatura foram menores ou similares aos encontrados para matrizes ambientais sólidas (solo, sedimento, lodo de ETE) (FERREIRA *et al.*, 2011; ALBERO *et al.*, 2012a; LI *et al.*, 2015a). Os valores de LOQm são semelhantes as concentrações que bem sendo detectadas em estudos da região (CERQUEIRA *et al.*, 2014). Diversos estudos reportaram a presença de parabenos em amostras sólidas ambientais com valores de LODm semelhantes aos encontrados neste estudo. ALBERO *et al.* (2012b), evidenciaram a ocorrência do MPB (\leq LOD-26,2 ng g⁻¹) e o PPB (\leq LOD-44,1 ng g⁻¹) em amostras de lodo de ETE coletadas em diferentes zonas urbanas, rurais e industriais de Madri (Espanha). FERREIRA *et al.* (2011), detectaram PPB na concentração de 1,5 ng g⁻¹ em solo de jardim na Salamanca, Espanha. Em um estudo realizado na China foram encontrados MPB, EPB, PPB, BPB, BzPB e OcPB em lodo de ETE em concentrações entre 0,73 e 423 ng g⁻¹ (LI *et al.*, 2016) e no caso de lodo de ETE foi detectado abaixo do LOQm o MPB, o PPB e o BPB (YU *et al.*, 2011). WANG e

KANNAN (2016), detectaram em lodo de ETE dos Estados Unidos a presença de MPB, EPB, PPB, BPB, BzPB e OcPB nas concentrações entre 0,071 e 58,5 ng g⁻¹.

5.4.3.2 Curva analítica e linearidade

As curvas analíticas por padronização externa (solvente) e padronização externa (extrato) tiveram como primeiro ponto o valor do LOQi e como ponto maior a concentração de 0,5 mg L⁻¹, garantindo que todas as curvas tivessem cinco diferentes níveis de concentração. No caso da curva trabalho (amostras pré fortificadas), a faixa encontrou-se entre o LOQm até 500 ng g⁻¹.

As curvas analíticas (solvente e extrato) são apresentadas na Tabela 20. Os valores de coeficiente correlação variaram entre 0,9941 e 0,9999, em concordância com o critério estabelecido pela ANVISA ($r > 0,99$) para todos os analitos na faixa do LOQ até 0,5 mg L⁻¹.

Tabela 20. Resultados obtidos para as curvas analíticas no solvente e no extrato da matriz

Analito	Faixa linear (mg L⁻¹)	Curva analítica por padronização externa (solvente)	r	Curva analítica por padronização externa (extrato)	r
MPB	0,005-0,5	$y = 32859x + 342,96$	0,9967	$y = 32887x + 6,1291$	0,9999
EPB	0,005-0,5	$y = 27485x + 274,44$	0,9962	$y = 25715x + 94,361$	0,9997
IsPPB	0,005-0,5	$y = 28630x + 354,34$	0,9947	$y = 25942x + 127,37$	0,9997
PPB	0,01-0,5	$y = 22381x + 202,56$	0,9960	$y = 20678x + 69,278$	0,9998
PhPB	0,01-0,5	$y = 23082x + 195,07$	0,9954	$y = 18656x + 94,761$	0,9997
IsBPB	0,01-0,5	$y = 17075x + 167,05$	0,9949	$y = 15653x + 54,608$	0,9998
BPB	0,01-0,5	$y = 13813x + 120,17$	0,9964	$y = 12581x + 51,772$	0,9984
BePB	0,01-0,5	$y = 20707x + 144,8$	0,9963	$y = 17698x + 55,847$	0,9971
PePB	0,01-0,5	$y = 9648,4x + 59,031$	0,9941	$y = 6026x + 37,49$	0,9997

5.4.3.3 Exatidão e precisão

As recuperações para os níveis do LOQ, 5LOQ e 10LOQ ficaram entre 62 e 119% com valores de RSD menores que 14% para repetitividade (Tabela 21). Também foi avaliada a precisão intermediária (Tabela 21) nos níveis de concentração 5LOQ e 10LOQ. Os valores de recuperação obtidos para a maioria dos parabenos encontraram-se na faixa de 58 a 96%, com valores de RSD (%) inferiores a 25%. No caso do PePB, pode-se explicar a diminuição das recuperações em função da possível reação dos grupos hidroxila (-OH) da quitina e a longa cadeia alquílica do PePB. SATYANARAYANA *et al.* (2012), relata que reações dos grupos hidroxilas (-OH) da quitina com alquilas pode produzir éteres, ésteres ou derivados de carbamatos. A quitina é majoritariamente insolúvel em água, com a substituição de cadeias laterais produzem-se produtos mais solúveis (ROBERTS *et al.*, 1997). Sendo o PePB o analito mais apolar (Log Kow=3,96) no estudo, pode-se explicar esta diminuição na recuperação.

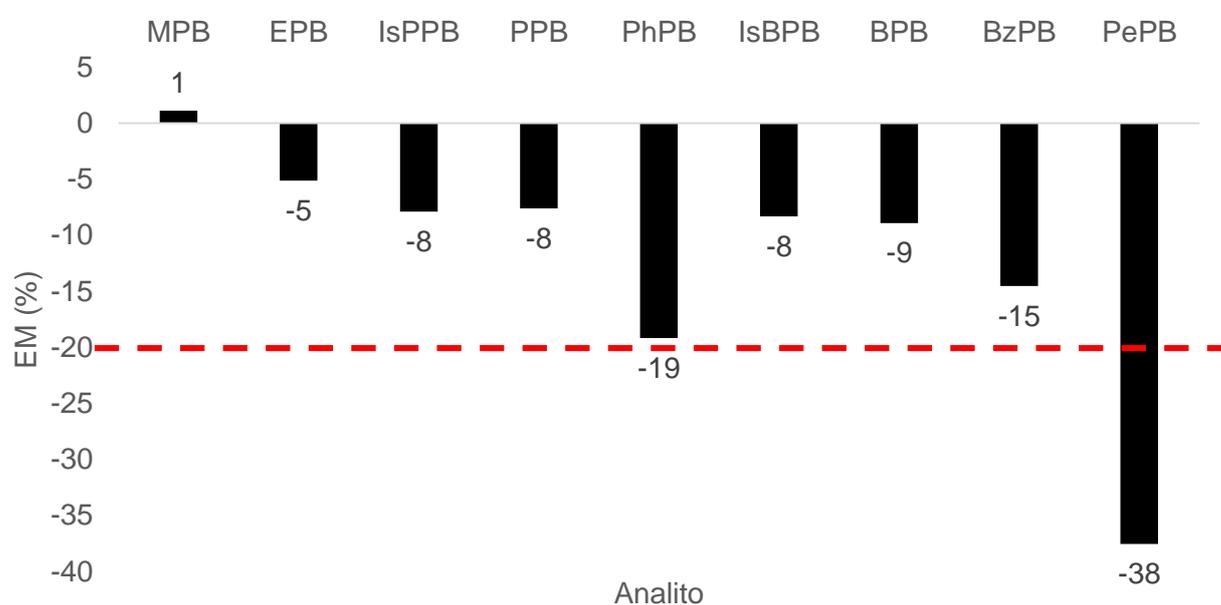
Tabela 21. Recuperações (%) e precisão (RSD) em termos de repetitividade e precisão intermediária para os analitos nos diferentes níveis de fortificação

Analito	LOQ (ng g ⁻¹)	R±RSD (%)	5LOQ (ng g ⁻¹)	R±RSD (%)	10LOQ (ng g ⁻¹)	R±RSD (%)	R±RSD (%)		
							LOQ	5LOQ	10LOQ
MPB	10	119 ± 3	50	78 ± 3	100	104 ± 3	88 ± 20	80 ± 5	85 ± 3
EPB	10	95 ± 1	50	78 ± 4	100	83 ± 3	94 ± 20	79 ± 5	87 ± 3
IsPPB	10	101 ± 4	50	84 ± 3	100	88 ± 2	95 ± 20	81 ± 4	89 ± 3
PPB	5	118 ± 5	25	87 ± 7	50	96 ± 3	89 ± 17	84 ± 5	92 ± 5
PhPB	5	94 ± 5	25	84 ± 6	50	90 ± 1	87 ± 18	80 ± 1	85 ± 3
IsBPB	5	106 ± 1	25	80 ± 5	50	101 ± 1	90 ± 20	81 ± 4	85 ± 3
BPB	5	118 ± 3	25	82 ± 7	50	104 ± 3	91 ± 20	82 ± 4	96 ± 1
BzPB	5	101 ± 2	25	84 ± 5	50	90 ± 3	91 ± 19	79 ± 5	85 ± 1
PePB	5	63 ± 1	25	62 ± 7	50	77 ± 14	89 ± 20	58 ± 3	72 ± 25

5.4.3.4 Efeito matriz

Através da inclinação das curvas analíticas no extrato da matriz e no solvente foi calculado o efeito matriz (EM). Os valores obtidos apresentaram supressão do sinal para a maioria dos compostos, apenas o MPB apresentou aumento do sinal. Os valores encontrados são considerados baixos $\leq 20\%$ com exceção apenas do PePB, o qual foi de -38% , sendo considerado um efeito matriz médio (ECONOMOU *et al.*, 2009) (Figura 16).

Figura 16. Efeito matriz dos parabenos em lodo de ETA



Pode-se observar que para a maioria dos analitos tem-se supressão do sinal. Na revisão bibliográfica não se encontrou nenhum estudo que avaliasse o EM (%) do pentilparabeno em lodo de ETA, sendo este o primeiro estudo em avaliar este composto em matrizes ambientais.

5.4.3.5 Aplicabilidade em lodo de ETA

A aplicação do método validado foi realizada em amostras de lodo de ETA da CORSAN da Cidade de Rio Grande, RS, Brasil. O lodo de ETA da CORSAN foi caracterizado através de testes de pH, turbidez no extrato, Carbono orgânico total (%), Carbono Inorgânico (%) e Carbono total (%) apresentados na

Tabela 22. Observa-se o caráter ácido das amostras, o percentual de carbono orgânico apresentado para amostra de lodo de ETA apresentaram valores similares aos reportados em solo arenoso e sedimentos de rios (FERREIRA *et al.*, 2011).

Tabela 22. Propriedades físico-químicas para as amostras de lodo de ETA usadas na validação e aplicabilidade do método

Amostra	Mês da coleta	pH	Turbidez no sobrenadante (NTU)	Carbono total (%)	Carbono inorgânico (%)	Carbono orgânico (%)
Lodo de ETA	Setembro 2016*	5,08	15,6	8,4	0	8,4
	Outubro 2016	5,38	11,3	6,4	0	6,4
	Novembro 2016	4,80	9,0	6,0	0	6,0

*Amostra para validação, n.r: não realizado

Durante a quantificação foi utilizada a técnica de padronização externa (extrato) devido ao efeito matriz médio apresentado para o PePB. Os resultados são apresentados na Tabela 23. Diferenças foram observadas em relação ao estudo realizado por CERQUEIRA (2013), onde não foi detectada a presença de PBs. Neste estudo foi detectado o MPB. Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) na região sul do país o 27,78% do total de lodo de ETA gerado tem como destino os rios, representando uma possível fonte de contaminação das reservas hídricas e sua biota.

Tabela 23. Concentrações dos analitos detectados em diferentes amostras de lodo de ETA

Analito	LOQm (ng g ⁻¹)	Setembro 2016		Outubro 2016		Novembro 2016	
		Conc. (ng g ⁻¹)	RSD (%)	Conc. (ng g ⁻¹)	RSD (%)	Conc. (ng g ⁻¹)	RSD (%)
MPB	10	n.d		10	7	n..d	
EPB	10	n.d		n.d		n.d	
IsPPB	10	n.d		n.d		n.d	
PPB	5	n.d		n.d		n.d	
PhPB	5	n.d		n.d		n.d	
IsBPB	5	n.d		n.d		n.d	
BPB	5	n.d		n.d		n.d	
BzPB	5	n.d		n.d		n.d	
PePB	5	n.d		n.d		n.d	

n.d: não detectado

Baseado na revisão da literatura realizada não foi encontrado estudos que avaliaram a presença de PBs em lodo de ETA, sendo geralmente avaliada a presença de PBs em lodo de ETE. Devido a isso, os resultados representam os primeiros em evidenciar a presença de MPB em lodo de ETA na região de Rio Grande, Brasil.

5.4.3 Comparação do QuEChERS validado para a determinação de parabenos com outros métodos empregados em amostras sólidas ambientais

Na Tabela 24, é apresentada uma comparação dos diferentes métodos empregados na determinação de PBs em matrizes sólidas ambientais. O método validado apresenta as vantagens de não precisar de vários ciclos de extração nem etapas de purificação, além do uso de sorventes alternativos (Quitina) que reduzem os custos do método. Além disso, o método abrange uma quantidade maior de parabenos e seus isômeros. Os parâmetros analíticos (R%, RSD, EM%) para o método validado mostrarem-se similares aos encontrados em outros estudos.

Tabela 24. Estudos recentes que determinaram parabenos em matrizes ambientais sólidas ambientais

Amostra	Quantidade da amostra (g)	Parabenos	Método de extração	Exatidão R (%)	RSD (%)	Técnica de determinação	Faixa LOQ (ng g ⁻¹)	Referência
	0,1	MPB, EPB, PPB, BPB	Ultrassom (3x Extrações simultâneas com 8 mL ACN)	65-124	1,3-17,9	LC-MS/MS	0,1-3	(YU <i>et al.</i> , 2011)
	1	MPB, EPB, IsPPB, PPB, IsBPB, BPB, BzPB	MSPD (10 mL Acetato de etila/MeOH)	80,4-124,9	3,3-11,8	GC-MS/MS	0,3-5,1	(ALBERO <i>et al.</i> , 2012)
Lodo ETE	0,1	MPB, EPB, PPB, BPB, BzPB, HpPB	Extração Solido-liquido (2 extrações com 5 mL MeOH/Água)	52-109	<15	LC-MS/MS	0,1-100	(WANG e KANNAN, 2016)
	0,1	MPB, EPB, PPB, BPB, BzPB, HpPB, OcPB	PLE (1 mL MeOH) SPE (4 mL MeOH)	81,5-113 86,8-93	4,3-9,3 1,1-8,6	LC-MS/MS	n.d	(LI <i>et al.</i> , 2015a)

n.d: não disponível

Tabela 24. Estudos recentes que determinaram parabenos em matrizes sólidas ambientais

Amostra	Quantidade da amostra (g)	Parabenos	Método de extração	Exatidão R (%)	RSD (%)	Técnica de determinação	Faixa LOQ (ng g ⁻¹)	Referência
Lodo ETA	10	MPB, PPB	QuEChERS	88-93	0,3-7	LC-MS/MS	5-250 1-250	(CERQUEIRA, 2013)
Sedimento	1	MPB, EPB, PPB, BPB	QuEChERS	65-104	<20	LC-MS/MS	0,9-50	(CARMONA <i>et al.</i> , 2014)
Lodo ETA	10	MPB, EPB, IsPPB; PPB, PhPB, IsBPB; BPB, BzPB, PePB	QuEChERS	60-119	<14	LC-MS/MS	5-500; 10-500	METODO VALIDADO

Baseado na revisão bibliográfica, verifica-se que o uso de método QuEChERS para a extração de parabenos em lodo de ETA é pouco explorado, foi encontrado um estudo na região que utilizou esta técnica para a extração de agrotóxicos e PPCPs que incluíam somente MPB e PPB (CERQUEIRA *et al.*, 2014). CARMONA *et al.* (2014), utilizaram o QuEChERS na determinação de quatro PBs (MPB, EPB, BPB, PPB) em sedimentos, mas os isômeros destes compostos não foram contemplados com a utilização do QuEChERS. Outras técnicas, como a MSPD determinaram os isômeros do PPB e BPB em estudos de PBs mas em amostras de lodo ETE.

6. CONCLUSÕES

A separação e determinação de nove parabenos incluindo os isômeros por LC-MS/MS foi realizada com eficiência empregando fase móvel ternária (MeOH, ACN, água ultrapura) e coluna C18 capeada.

Os métodos validados empregando SPE e QuEChERS para a extração dos PBs em água e lodo de ETA, respectivamente, mostraram ser eficientes na extração de nove parabenos em matrizes aquosas e lodo de ETA apresentando valores dentro dos sugeridos por guias de validação nacionais e internacionais. A SPE apresentou R% entre 70 até 115%, RSD entre 2 até 14% e $EM \leq 25\%$. No caso do QuEChERS apresentou R% entre 62 até 119%, RSD entre 1 até 25% e $EM \leq 38\%$.

Em função do objetivo geral do estudo o qual era estudar métodos para a determinação de PBs em amostras aquosas a técnica SPE validada apresenta as vantagens de baixo consumo de solvente orgânicos, assim como, menor custo, uma vez que a extração foi realizada em cartuchos contendo C18. É importantes ressaltar que no caso da SPE, métodos analíticos recentemente avaliados por órgãos ambientais como a EPA contemplam a determinação de conservantes (Ex. Triclosan) em águas de consumo humano utilizando está técnica (EPA, 2016b), mas não contempla parabenos.

No caso do método QuEChERS validado apresentou como principal vantagem seu caráter inovador uma vez que não foi encontrado na literatura a utilização do método para a determinação simultânea de nove parabenos em lodo de ETA, nem em outras matrizes sólidas ambientais (lodo de ETE, solo e sedimentos), sendo para o caso do PePB o primeiro estudo que valida uma método para a determinação deste composto em matrizes sólidas ambientais. Além disso, o método validado apresenta a vantagem de não requerer etapas de evaporação e ciclos de extração normalmente empregadas na extração de PBs em matrizes ambientais sólidas.

Em conclusão, o estudo demonstrou que o uso das técnicas validadas com a LC-MS/MS podem ser considerados como métodos de referência sensíveis e seletivos para a extração de PBs em amostras aquosas e lodo de ETA.

7. TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS

Os resíduos gerados neste trabalho foram recolhidos, armazenados, rotulados de acordo com as normas definidas pela comissão de resíduos da EQA, e armazenados para posterior recolhimento e tratamento pela FURG.

8. SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Avaliar a possibilidade de ampliar para outras classes de conservantes comumente utilizados em PPCPs, assim como, seus metabólitos.

Avaliar a aplicabilidade em outras matrizes ambientais, assim como, em matrizes biológicas.

Realizar um monitoramento na água mineral, gerando dados no Brasil.

Realizar um monitoramento sazonal em águas superficiais e água de abastecimento.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. NBR 10.004 Resíduos sólidos -Classificação. 2004a. Disponível em: <http://analiticaqmc.paginas.ufsc.br/files/2013/07/residuos-nbr10004.pdf>

ABNT. NBR 10.007 Amostragem de residuos solidos. 2004b. Disponível em: <http://wp.ufpel.edu.br/residuos/files/2014/04/nbr-10007-amostragem-de-resc3adduos-sc3b3lidos.pdf>

ACHON, C. L.; BARROSO, M. M.; CORDEIRO, J. S. Draining beds: natural system for sludge volume reduction in the water treatment plant. **Engenharia Sanitaria E Ambiental**, v. 13, n. 1, p. 54-62, 2008. ISSN 1413-4152.

ALBERO, B. et al. Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain). **Journal of Hazardous Materials**, v. 239–240, p. 48-55, 2012a. ISSN 0304-3894.

ALBERO, B. et al. Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain). **Journal of Hazardous Materials**, v. 239, p. 48-55, 2012b. ISSN 0304-3894.

ALMEIDA, C.; NOGUEIRA, J. F. M. Determination of trace levels of parabens in real matrices by bar adsorptive microextraction using selective sorbent phases. **Journal of Chromatography A**, v. 1348, p. 17-26, 2014. ISSN 0021-9673.

ALSHANA, U.; ERTAŞ, N.; GÖĞER, N. G. Determination of parabens in human milk and other food samples by capillary electrophoresis after dispersive liquid–liquid microextraction with back-extraction. **Food Chemistry**, v. 181, p. 1-8, 2015. ISSN 0308-8146.

ANA. Panorama da Qualidade das Águas Superficiais do BRASIL 2012. Disponível em: http://arquivos.ana.gov.br/imprensa/publicacoes/Panorama_Qualidade_Aguas_Superficiais_BR_2012.pdf

ANASTASSIADES, M. et al. 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, n. 2, p. 412-431, 2003.

ANDRADE-EIROA, A. et al. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 641-654, 2016. ISSN 0165-9936.

ANVISA. Resolução nº 310. 1999. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/anvisalegis/resol/310_99.htm

ANVISA. Resolução Nº 899 Guia de Validação de Metodos Analiticos. 2003. Disponível em: http://redsang.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/vm/vm1.pdf

ANVISA. Resolução RDC Nº 4 Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. 2014. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0004_30_01_2014.html

AUTIAN, J. Problems in the use of polymeric materials in medical and biomedical applications. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 146, n. 1, p. 251-261, 1968. ISSN 1749-6632.

AZZOUZ, A.; RASCÓN, A. J.; BALLESTEROS, E. Simultaneous determination of parabens, alkylphenols, phenylphenols, bisphenol A and triclosan in human urine, blood and breast milk by continuous solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 119, p. 16-26, 2016. ISSN 0731-7085.

BARCELO, D.; LÓPEZ, M. J. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. **Jornadas de presentación de resultados: el estado ecológico de las masas de agua. Panel científico-técnico de seguimiento de la política de aguas, Sevilla, 2008.**

BENÍTEZ-VILLALBA, J. C. et al. Ultra-performance liquid chromatography MS/MS method for the determination of parabens in compost from sewage sludge: Comparison of the efficiency of two extraction techniques. **Journal of Separation Science**, v. 36, n. 16, p. 2635-2645, 2013. ISSN 1615-9314.

BERGQUIST, P. A. et al. Acceleration of paraben sorption to polyethylene terephthalate: a freeze-thaw phenomenon. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 60, n. 4, p. 240-247, 2006. ISSN 1079-7440.

BŁĘDZKA, D.; GROMADZIŃSKA, J.; WAŚOWICZ, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment International**, v. 67, p. 27-42, 2014. ISSN 0160-4120.

BOJA, E. S.; RODRIGUEZ, H. The Path to Clinical Proteomics Research: Integration of Proteomics, Genomics, Clinical Laboratory and Regulatory Science. **Korean J Lab Med**, v. 31, n. 2, p. 61-71, 4/ 2011. ISSN 1598-6535.

BOQUÉ, R. La selectividad en análisis químico. **Técnicas de Laboratorio**, v. 299, p. 878-881, 2005.

BRANDÃO, C. et al. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. **São Paulo: CETESB, 2011.**

BRASIL, M. D. S. D. Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. 2011. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html

BRASIL, T. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 28 mil pessoas morrem por ano no Brasil de doenças provocadas por água contaminada. 2014. Disponível em: <http://www.tratabrasil.org.br/segundo-a-organizacao-mundial-da-saude-oms-28-mil-pessoas-morrem-por-ano-no-brasil-de-doencas-provocadas-por-agua-contaminada>

BRAUSCH, J. M.; RAND, G. M. A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity. **Chemosphere**, v. 82, n. 11, p. 1518-1532, 2011. ISSN 0045-6535.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

BYFORD, J. et al. Oestrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 80, n. 1, p. 49-60, 2002. ISSN 0960-0760.

CABALEIRO, N. et al. An overview of sample preparation for the determination of parabens in cosmetics. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 57, p. 34-46, 2014. ISSN 0165-9936.

CALDAS, S. S. et al. Determination of pharmaceuticals, personal care products, and pesticides in surface and treated waters: method development and survey. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 8, p. 5855-5863, 2013. ISSN 0944-1344.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. 2011. ISSN 0100-4042.

CANOSA RODRÍGUEZ, M. D. P. **Desarrollo de metodología analítica para determinación de Triclosán y Parabenos. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales**. 2009. Univ Santiago de Compostela

CARMONA, E.; ANDREU, V.; PICO, Y. Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: From waste to drinking water. **Science of the Total Environment**, v. 484, p. 53-63, 2014. ISSN 0048-9697.

CERQUEIRA, M. B. R. **Otimização do método QuEChERS para determinação de agrotóxicos, fármacos e produtos de cuidado pessoal em lodo de ETA por LC-ESI-MS/MS**. 2013. Dissertação de Mestrado Química, Universidade Federal de Rio Grande-FURG

CERQUEIRA, M. B. R. et al. Evaluation of the QuEChERS method for the extraction of pharmaceuticals and personal care products from drinking-water treatment sludge with determination by UPLC-ESI-MS/MS. **Chemosphere**, v. 107, p. 74-82, 2014. ISSN 0045-6535.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Unicamp, 2006.

CPRM. Água Mineral e Água de Mesa. 2017. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/Redes-Institucionais/Rede-de-Bibliotecas---Rede-Ametista/Canal-Escola/Agua-Mineral-e-Agua-de-Mesa-1299.html>

CRISTINA JARDIM, V. et al. Determination of parabens in urine samples by microextraction using packed sorbent and ultra-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 974, p. 35-41, 2015. ISSN 1570-0232.

CHEMSPIDER.2015.Disponível em <http://www.chemspider.com/>

CHROMACADEMY. The CHROMacademy Essential Guide to Electrospray Ionization (ESI) for LC-MS (Part 1).
Electrospray Ionization Tutorial.2016a.Disponível em. <http://www.chromacademy.com/Electrospray-Ionization-ESI-for-LC-MS.html>

CHROMACADEMY. Mass Spectrometry Fundamental LC-MS. 2016b. Disponível em http://www.chromacademy.com/lms/sco30/Fundamental_LC-MS_Introduction.pdf

DARBRE, P. D.; CHARLES, A. K. Environmental oestrogens and breast cancer: evidence for combined involvement of dietary, household and cosmetic xenoestrogens. **Anticancer research**, v. 30, n. 3, p. 815-827, 2010. ISSN 0250-7005.

DARBRE, P. D.; HARVEY, P. W. Parabens can enable hallmarks and characteristics of cancer in human breast epithelial cells: a review of the literature with reference to new exposure data and regulatory status. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 9, p. 925-938, 2014. ISSN 1099-1263.

DE ALMEIDA, A. P. V.; DE CARVALHO, K. Q.; PASSIG, F. H. Caracterização quantitativa do lodo gerado na estação de tratamento de água de Campo Mourão PR. **Revista Técnico Científica do IFSC**, v. 1, n. 1, p. 36, 2010. ISSN 2316-8382.

DE COSTER, S.; VAN LAREBEKE, N. Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2012, 2012. ISSN 1687-9805.

DEMOLINER, A. **Otimização e validação de metodologia analítica empregando SPE e LC-ESI-MS/MS para determinação de multiclassas de agrotóxicos e metabólitos em água de superfície e de abastecimento público**. 2008. Mestrado Química Tecnológica e Ambiental, Universidade Federal de Rio Grande

DEWALQUE, L. et al. Simultaneous determination of some phthalate metabolites, parabens and benzophenone-3 in urine by ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 949–950, p. 37-47, 2014. ISSN 1570-0232.

DIAS, A. N. et al. A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclocarban and parabens in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 888, p. 59-66, 2015. ISSN 0003-2670.

DORIA, M. F. Bottled water versus tap water: understanding consumers' preferences. **Journal of water and health**, v. 4, n. 2, p. 271-276, 2006. ISSN 1477-8920.

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

EMBRAPA. Manual de Métodos de Análise de Solo. 1997. Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Manual+de+Metodos_000fzvhotqk02wx5ok0q43a0ram31wtr.pdf

EPA. Method 1694: Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS. US Environmental Protection Agency (EPA). 2007. Disponível em: https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_1694_2007.pdf

EPA. Survey of parabens. 2013. Disponível em: <http://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2013/04/978-87-93026-02-5.pdf>

EPA.2016a.Disponível em <https://www.epa.gov/water-research/epa-drinking-water-research-methods>

EPA. Method 542: Determination of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (LC/ESI-MS/MS). 2016b. Disponível em: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-09/documents/method-542-determination-pharmaceuticals-personal-care-products-drinking-water.pdf>

ESRAFILI, A. et al. Analysis of paraben preservatives in cosmetic samples: Comparison of three different dynamic hollow fiber liquid-phase microextraction methods. **Chromatographia**, v. 77, n. 3-4, p. 317-327, 2014. ISSN 0009-5893.

EU. Métodos de análise necessários ao controlo da composição dos produtos cosméticos. Jornal Oficial das Comunidades Europeias. 1996. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:31996L0045&from=PT>

EU. Decisión de la comisión por la que se aplica la Directiva 96/23/CE del consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados (2002/657/EC). Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 2002. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002D0657&from=ES>

EU. Amending Annexes II and V to Regulation (EC) N° 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products. Official Journal of European Union. 2014a. Disponível em: http://ec.europa.eu/health/endocrine_disruptors/docs/cosmetic_1223_2009_regulation_en.pdf

EU. Commission regulation (EU) No 1004/2014 Amending Annexes V to Regulation (EC) N° 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products.

Official Journal of European Union. 2014b. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R1004&from=EN>

FASCIANO, J. M.; DANIELSON, N. D. Micellar and sub-micellar ultra-high performance liquid chromatography of hydroxybenzoic acid and phthalic acid positional isomers. **Journal of Chromatography A**, v. 1438, p. 150-159, 3/18/ 2016. ISSN 0021-9673.

FATTA-KASSINOS, D.; BESTER, K.; KÜMMERER, K. **Xenobiotics in the urban water cycle**. Springer, Dordrecht, 2009.

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, n. 25, p. 3837-3844, 2011. ISSN 0021-9673.

FLASIŃSKI, M. et al. Studies on the interactions between parabens and lipid membrane components in monolayers at the air/aqueous solution interface. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1858, n. 4, p. 836-844, 2016. ISSN 0005-2736.

FRYE, C. et al. Endocrine disrupters: a review of some sources, effects, and mechanisms of actions on behaviour and neuroendocrine systems. **Journal of neuroendocrinology**, v. 24, n. 1, p. 144-159, 2012. ISSN 1365-2826.

GONZÁLEZ-MARIÑO, I. et al. Evaluation of the occurrence and biodegradation of parabens and halogenated by-products in wastewater by accurate-mass liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS). **Water Research**, v. 45, n. 20, p. 6770-6780, 2011. ISSN 0043-1354.

GONZÁLEZ-MARIÑO, I. et al. Simultaneous determination of parabens, triclosan and triclocarban in water by liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 23, n. 12, p. 1756-1766, 2009. ISSN 1097-0231.

GUART, A. et al. Migration of plasticizersphthalates, bisphenol A and alkylphenols from plastic containers and evaluation of risk. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 28, n. 5, p. 676-685, 2011. ISSN 1944-0049.

HAMAN, C. et al. Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: A review. **Water Research**, v. 68, p. 1-11, 1/1/ 2015. ISSN 0043-1354.

HAN, C. et al. Determination of four paraben-type preservatives and three benzophenone-type ultraviolet light filters in seafoods by LC-QqLIT-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 194, p. 1199-1207, 2016. ISSN 0308-8146.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. New York, USA: Editorial LTC., 2003.

HINES, E. P. et al. Concentrations of environmental phenols and parabens in milk, urine and serum of lactating North Carolina women. **Reproductive Toxicology**, v. 54, p. 120-128, 2015. ISSN 0890-6238.

IBGE. Tabela 1755 - Número de municípios, total e os com geração de lodo no processo de tratamento de água, por destino do lodo gerado. 2008. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=1755&z=p&o=23&i=P>

INMETRO. DOQ-CGCRE-008 Orientação sobre Validação de métodos analíticos de Acreditação, Coordenação Geral. 2010. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=5&cod_uo_numeracao=00581&num_documento=008

ISO. IEC 17025: 2005. 2005. Disponível em: <http://www.smarnet.com.br/qualidade/metrologia/17025.pdf>

ISO.2016.Disponível em http://www.iso.org/iso/home/search.htm?qt=solid+phase+extraction+water+quality&published=on&active_tab=standards&sort_by=rel

JAKIMSKA, A. et al. Development of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry procedure for determination of endocrine disrupting compounds in fish from Mediterranean rivers. **Journal of Chromatography A**, v. 1306, p. 44-58, 2013. ISSN 0021-9673.

JIMÉNEZ-DÍAZ, I. et al. Determination of personal care products –benzophenones and parabens– in human menstrual blood. **Journal of Chromatography B**, v. 1035, p. 57-66, 11/1/ 2016. ISSN 1570-0232.

KABIR, E. R.; RAHMAN, M. S.; RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 40, n. 1, p. 241-258, 2015. ISSN 1382-6689.

KAKEMI, K. et al. Interaction of parabens and other pharmaceutical adjuvants with plastic containers. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 19, n. 12, p. 2523-2529, 1971. ISSN 0009-2363.

KANG, K.-S. et al. Decreased sperm number and motile activity on the F1 offspring maternally exposed to butyl p-hydroxybenzoic acid (butyl paraben). **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, n. 3, p. 227-235, 2002. ISSN 0916-7250.

KASPRZYK-HORDERN, B.; DINSDALE, R. M.; GUWY, A. J. The effect of signal suppression and mobile phase composition on the simultaneous analysis of multiple classes of acidic/neutral pharmaceuticals and personal care products in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–negative electrospray tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 74, n. 5, p. 1299-1312, 2008. ISSN 0039-9140.

KIM, J.-W. et al. Multiresidue analytical method for the determination of antimicrobials, preservatives, benzotriazole UV stabilizers, flame retardants and plasticizers in fish using ultra high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 22, p. 3511-3520, 2011. ISSN 0021-9673.

KOCH, H. M. et al. Inter- and intra-individual variation in urinary biomarker concentrations over a 6-day sampling period. Part 2: Personal care product ingredients. **Toxicology Letters**, v. 231, n. 2, p. 261-269, 2014. ISSN 0378-4274.

LABORIE, S. et al. A new analytical protocol for the determination of 62 endocrine-disrupting compounds in indoor air. **Talanta**, v. 147, p. 132-141, 1/15/ 2016. ISSN 0039-9140.

LANÇAS, F. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos, Brasil: RiMa, 2004.

LARSSON, K. et al. Exposure determinants of phthalates, parabens, bisphenol A and triclosan in Swedish mothers and their children. **Environmental International**, v. 73, p. 323-333, 2014. ISSN 0160-4120.

LEE, M. R. et al. Simultaneous analysis of antioxidants and preservatives in cosmetics by supercritical fluid extraction combined with liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1120, n. 1-2, p. 244-51, 2006. ISSN 0021-9673 (Print) 0021-9673 (Linking).

LI, W. et al. Spatial distribution, temporal variation and risks of parabens and their chlorinated derivatives in urban surface water in Beijing, China. **Science of The Total Environment**, v. 539, p. 262-270, 2016. ISSN 0048-9697.

LI, W. et al. Occurrence, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated derivatives in an advanced wastewater treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 300, p. 29-38, 2015a. ISSN 0304-3894.

LI, W. et al. Occurrence, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated derivatives in an advanced wastewater treatment plant. **Journal of Hazardous Materials**, v. 300, p. 29-38, 2015b. ISSN 0304-3894.

LÓPEZ-DARIAS, J. et al. Utilization of a benzyl functionalized polymeric ionic liquid for the sensitive determination of polycyclic aromatic hydrocarbons; parabens and alkylphenols in waters using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-flame ionization detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 46, p. 7189-7197, 2010. ISSN 0021-9673.

LUIZETE, M. F. **Parabenos em água superficial: estudo analítico e aplicação em amostras ambientais**. 2013. Dissertação (mestrado) Instituto de Química de Araraquara. , Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

MÁRQUEZ-SILLERO et al. Determination of parabens in cosmetic products using multi-walled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent and corona-charged aerosol detection system. **Journal of Chromatography A**, p. 1-6, 2010.

MARTINS, I. et al. Determination of parabens in shampoo using high performance liquid chromatography with amperometric detection on a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 1-7, 2011. ISSN 0039-9140.

MASIÁ, A. et al. Assessment of two extraction methods to determine pesticides in soils, sediments and sludges. Application to the Túría River Basin. **Journal of Chromatography A**, v. 1378, p. 19-31, 2015. ISSN 0021-9673.

MONDARIZ. Definiciones Agua Mineral. 2017. Disponível em: < <http://www.aguasdemondariz.com/definiciones-agua-mineral> >.

MOOS, R. K. et al. Rapid determination of nine parabens and seven other environmental phenols in urine samples of German children and adults. **International Journal of Hygiene and Environmental health perspectives**, v. 217, n. 8, p. 845-853, 2014. ISSN 1438-4639.

MUÑOZ PEÑA, M. J. **Eliminación de contaminantes parabenos en agua mediante procesos físicos, químicos y electroquímicos**. 2016. (Tesis Doctoral). Departamento de Ingeniería Química y Química Física, Universidad de Extremadura, España.

NÚÑEZ, L. et al. Determination of parabens in environmental solid samples by ultrasonic-assisted extraction and liquid chromatography with triple quadrupole mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1214, n. 1–2, p. 178-182, 2008. ISSN 0021-9673.

OCAÑA-GONZÁLEZ, J. A. et al. New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 858, p. 1-15, 2015. ISSN 0003-2670.

OISHI, S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 12, p. 1807-1813, 2002. ISSN 0278-6915.

PARK, C. et al. Butyl paraben-induced changes in DNA methylation in rat epididymal spermatozoa. **Andrologia**, v. 44, n. s1, p. 187-193, 2012. ISSN 1439-0272.

PERKINELMER. Measuring has never been easier in LC/MS. **A reference notebook of LC/SQ MS applications** 2011. Disponível em: < http://www.perkinelmer.com/content/applicationnotes/BKT_FlexarSQ300Applications.pdf >.

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

PIAO, C.; CHEN, L.; WANG, Y. A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens. **Journal of Chromatography B**, v. 969, p. 139-148, 2014. ISSN 1570-0232.

PIMENTEL, D. et al. Water resources: agricultural and environmental issues. **BioScience**, v. 54, n. 10, p. 909-918, 2004. ISSN 0006-3568.

PINTO, B.; REALI, D. Screening of estrogen-like activity of mineral water stored in PET bottles. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 212, n. 2, p. 228-232, 2009. ISSN 1438-4639.

PRESTES, O. D. et al. QuEChERS—Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1620-1634, 2009.

RAMASWAMY, B. R. et al. Determination of preservative and antimicrobial compounds in fish from Manila Bay, Philippines using ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, and assessment of human dietary exposure. **Journal of Hazardous Materials**, v. 192, n. 3, p. 1739-1745, 2011. ISSN 0304-3894.

RAMOS, L. Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 1221, p. 84-98, 2012. ISSN 0021-9673.

RENZ, L. et al. A study of parabens and bisphenol A in surface water and fish brain tissue from the Greater Pittsburgh Area. **Ecotoxicology**, v. 22, n. 4, p. 632-641, 2013. ISSN 0963-9292.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004. ISSN 0100-4042.

ROBERTS, G.; DORMAN, A.; VARUM, K. M. Chitosan production routes and their role in determining the structure and properties of the product. **Advances in chitin science**, v. 2, p. 22-31, 1997.

ROCÍO-BAUTISTA, P. et al. The metal–organic framework HKUST-1 as efficient sorbent in a vortex-assisted dispersive micro solid-phase extraction of parabens from environmental waters, cosmetic creams, and human urine. **Talanta**, v. 139, p. 13-20, 2015. ISSN 0039-9140.

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, R. et al. A multiresidue method for the determination of selected endocrine disrupting chemicals in human breast milk based on a simple extraction procedure. **Talanta**, v. 130, p. 561-570, 2014. ISSN 0039-9140.

RODRÍGUEZ-GÓMEZ, R. et al. Biomonitoring of 21 endocrine disrupting chemicals in human hair samples using ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Chemosphere**, 2016. ISSN 0045-6535.

SAJID, M. et al. Application of microwave-assisted micro-solid-phase extraction for determination of parabens in human ovarian cancer tissues. **Journal of Chromatography B**, v. 1000, p. 192-198, 2015. ISSN 1570-0232.

SANDERKOK. Properties of Solvents on Various Sorbents. . 2007. Disponível em http://www.sanderkok.com/techniques/hplc/elutropic_series_extended.html

SANTE. EU/11945/2015 Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. Official Journal of European Union. 2015. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/plant/docs/plant_pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_11945_en.pdf

SATYANARAYANA, T.; JOHRI, B. N.; PRAKASH, A. **Microorganisms in environmental management: microbes and environment**. Springer Science & Business Media, 2012. ISBN 940072229X.

SCOGNAMIGLIO, V. et al. Analytical tools monitoring endocrine disrupting chemicals. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 555-567, 2016. ISSN 0165-9936.

SCHUG, T. T. et al. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 127, n. 3–5, p. 204-215, 2011. ISSN 0960-0760.

SERRA-ROIG, M. P. et al. Occurrence, fate and risk assessment of personal care products in river–groundwater interface. **Science of The Total Environment**, v. vol. 568, p. p. 829-837, 2016. ISSN 0048-9697.

SHIKLOMANOV, I. A.; RODDA, J. C. **World water resources at the beginning of the twenty-first century**. Cambridge University Press, 2004. ISBN 0521617227.

SHIMADZU. Important Points about Ion Chromatography pH is Tricky. 2016. Disponível em <http://www.shimadzu.com/an/hplc/support/lib/lctalk/42lab.html>

SILVEIRA, M. A. K. et al. Quantification of pharmaceuticals and personal care product residues in surface and drinking water samples by SPE and LC-ESI-MS/MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 9, p. 1385-1395, 2013. ISSN 0103-5053.

SONI, M.; CARABIN, I.; BURDOCK, G. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 7, p. 985-1015, 2005. ISSN 0278-6915.

SOUZA, I. D. et al. Selective molecularly imprinted polymer combined with restricted access material for in-tube SPME/UHPLC-MS/MS of parabens in breast milk samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 932, p. 49-59, 2016. ISSN 0003-2670.

TRAN, T. M. et al. Occurrence of phthalate diesters (phthalates), p-hydroxybenzoic acid esters (parabens), bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) and their derivatives in indoor dust from Vietnam: Implications for exposure. **Chemosphere**, v. 144, p. 1553-1559, 2016. ISSN 0045-6535.

VELA-SORIA, F. et al. A multiclass method for the analysis of endocrine disrupting chemicals in human urine samples. Sample treatment by dispersive liquid–liquid microextraction. **Talanta**, v. 129, p. 209-218, 2014. ISSN 0039-9140.

VELA-SORIA, F. et al. Simplified matrix solid phase dispersion procedure for the determination of parabens and benzophenone-ultraviolet filters in human placental tissue samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1371, p. 39-47, 2014. ISSN 0021-9673.

VILLAVERDE-DE-SÁA, E. et al. Matrix solid-phase dispersion combined to liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of paraben preservatives in mollusks. **Journal of Chromatography A**, v. 1459, p. 57-66, 2016. ISSN 0021-9673.

WAGNER, M.; OEHLMANN, J. Endocrine disruptors in bottled mineral water: total estrogenic burden and migration from plastic bottles. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 16, n. 3, p. 278-286, 2009. ISSN 1614-7499.

WANG, W.; KANNAN, K. Fate of parabens and their metabolites in two wastewater treatment plants in New York State, United States. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 3, p. 1174-1181, 2016. ISSN 0013-936X.

YU, Y. et al. Occurrence and behavior of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in wastewater and the recipient river water of the Pearl River Delta, South China. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 4, p. 871-878, 2011.

10. PRODUÇÃO CIENTÍFICA

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

2016-XV Mostra da Produção Universitária. 18° Encontro de Pós-graduação. Universidade Federal do Rio Grande-FURG, Rio Grande, Brasil.

2016-SBQSUL. XXIII Encontro de Química da Região Sul. Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, Santa Maria, Brasil.

TRABALHO PUBLICADO EM ANAIS DE EVENTOS

MARTA, A. V. S.; SCHNEIDER, A.; BATISTA, J. A. B.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Estudo de método empregando SPE e LC-MS/MS para extração de parabenos em amostras de água. XV Mostra da Produção Universitária. 18° Encontro de Pós-graduação. Universidade Federal do Rio Grande-FURG, Rio Grande, Brasil.

SCHNEIDER, A.; **MARTA, A. V. S.;** CARDOSO, S. M. V.; BATISTA, J. A. B.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Estudo de método empregando SPE e LC-MS/MS para extração de parabenos em amostras de água. SBQSUL. XXIII Encontro de Química da Região Sul. Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, Santa Maria, Brasil.