

CLAUDIA PEREIRA DA SILVA

**Filtros UV na água de abastecimento público na região da Bacia Hidrográfica  
Tietê-Jacaré: desenvolvimento de método, estudo de ocorrência e  
concentrações ambientais**

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Química

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mary Rosa Rodrigues de  
Marchi

Araraquara  
2014

FICHA CATALOGRÁFICA

S586f                      Silva, Claudia Pereira da  
Filtros UV na água de abastecimento público na região da  
Bacia Hidrográfica Tietê-Jacaré: desenvolvimento de  
método, estudo de ocorrência e concentrações ambientais /  
Claudia Pereira da Silva. – Araraquara : [s.n], 2014  
125 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Química  
Orientador: Mary Rosa Rodrigues de Marchi

1. Contaminantes emergentes na água. 2. Planejamento  
experimental. 3. Filtro Solar. 4. Cromatografia a gás.  
5. Desreguladores endócrinos. I. Título.

## DADOS CURRICULARES

### DADOS PESSOAIS

**Nome:** Claudia Pereira da Silva

**Filiação:** Gedeão Pereira da Silva e Tereza Pereira da Silva

**E-mail:** [claudiaufs@yahoo.com.br](mailto:claudiaufs@yahoo.com.br)

### FORMAÇÃO ACADEMICA/TITULAÇÃO

**2010 – Atual:      Doutorado em Química Analítica**

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Instituto de Química – Araraquara, São Paulo, Brasil.

Orientador: Mary Rosa Rodrigues de Marchi

Bolsista da: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

**2008 - 2010      Mestrado em Química**

Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil.

Título: Determinação de ácidos haloacéticos em água utilizando técnicas cromatográficas, Ano de obtenção: 2010.

Orientador: Sandro Navickiene

Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

**2004 - 2007      Graduação em Química Licenciatura**

Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil.

### FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

**2010 - 2010**      Curso de curta duração em "Saber Água - SE". Instituto Tecnológico e de Pesquisas do Estado de Sergipe, ITPS, Aracaju, Brasil.

**2009 - 2009**      Curso de curta duração em Os desafios do Pré-Sal e o Novo Marco Regulatório. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil.

**2008 - 2008**      Curso de curta duração em Decomposição de Amostras por Micro-ondas. Embrapa Tabuleiros Costeiros, EMBRAPA, Brasil.

**2008 - 2008**      Curso de curta duração em Análise de Metais-traço em Biotas Marinhas. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil.

**2008 - 2008** Curso de curta duração em "Princípios Básicos de GC e GC-MS" Operação e manutenção. Scientific Instruments Co.SINC, Brasil.

**2008 - 2008** Curso de curta duração em HPLC: dos fundamentos à aplicação. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2008 - 2008** Curso de curta duração em Técnica de Absorção Atômica. Instituto Tecnológico e de Pesquisas do Estado de Sergipe, ITPS, Aracaju, Brasil.

**2008 - 2008** Curso de curta duração em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Embrapa Tabuleiros Costeiros, EMBRAPA, Brasil.

**2008 - 2008** Curso de curta duração em Produção e Qualidade de Biodiesel. Embrapa Tabuleiros Costeiros, EMBRAPA, Brasil.

**2008 - 2008** Curso de curta duração em Workshop Sedimentos Aquáticos e Poluição por Metais. Instituto de Tecnologia e Pesquisa, ITP, Aracaju, Brasil.

**2007 - 2007** Curso de curta duração em Alimentação Natural. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2007 - 2007** Curso de curta duração em Catalisadores Metálicos. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2007 - 2007** Curso de curta duração em Ensino Pesquisa e Extensão. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2006 - 2006** Curso de curta duração em III workshop em Química e Biotecnologia. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2006 - 2006** Curso de curta duração em Planejamento e Otimização de Experimentos. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2006 - 2006** Curso de curta duração em A Eletroquímica como Ferramenta na Química Ambiental. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2005 - 2005** Curso de curta duração em Modelagem Molecular no Planejamento de Drogas. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2005 - 2005** Curso de curta duração em Bioeletroquímica. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2005 - 2005** Curso de curta duração em Amostragem Estocagem e Preparo de Amostras Ambientais. Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristovão, Brasil.

**2004 - 2004** Extensão universitária em Meio Ambiente e Química Analítica.  
Universidade Federal de Sergipe, UFS, São Cristóvão, Brasil

## **ATUAÇÃO PROFISSIONAL**

### **1. Secretaria de Estado da Educação (SE) - SEED**

**2007 - 2008** Vínculo: Professor, Enquadramento funcional: Professor de química,  
Carga horária: 16.

## **PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **Artigos completos publicados em periódicos**

1. **DA SILVA, CLAUDIA PEREIRA, SOARES EMÍDIO, ELISSANDRO, DE MARCHI, MARY ROSA RODRIGUES.** Method validation using weighted linear regression models for quantification of UV filters in water samples. *Talanta (Oxford)*. , v.131, p.221 - 227, 2015.

2. **SILVA, CLAUDIA P. DA, EMÍDIO, ELISSANDRO S., MARCHI, MARY R. R. DE.** UV Filters in Water Samples: Experimental Design on the SPE Optimization followed by GC-MS/MS Analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society (Impresso)*. , v.24, p.1433 - 1441, 2013.

3. **DA SILVA, ROGERIO LUIZ, DA SILVA, CLAUDIA PEREIRA, NAVICKIENE, SANDRO.** Multiresidue determination of carbamate, organochlorine, organophosphorus, and dicarboximide pesticides in lettuce by GC/MS. *Journal of Environmental Science and Health. Part B. Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes.* , v.45, p.589 - 594, 2010.

### **Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)**

1. **SILVA, C. P. da, EMIDIO, E. S., MARCHI, M. R. R.** Determination of UV filters by gas chromatography coupled to tandem ion trap mass spectrometry in natural waters from São Paulo state (Brazil). In: **38<sup>th</sup> International Symposium on Capillary Chromatography & 11<sup>th</sup> GCxGC Symposium (38th ISCC & 11th GCxGC, 2014, Riva del Garda.**

2. **SILVA, C. P. da, EMIDIO, E. S., MARCHI, M. R. R.** Multivariate optimization on UV filters extraction from natural water In: **14th EuCheMS International Conference on Chemistry and the Environment, 2013, Barcelona.**

3. LUIZETE, M. F., SILVA, C. P. da, MARCHI, M. R. R. Otimização experimental da derivação de parabenos para análise via CG-EM In: **5º Congresso Ibero americano de Química Analítica. 2º Congresso Uruguaio de Química Analítica**, 2012, Montevidéo.
4. SILVA, C. P. da, MARCHI, M. R. R. Análise de produtos de cuidado pessoal (PPC) em água: Otimização de método cromatográfico para análise de resíduos de filtros UV. In: **IX Latin American symposium on environmental and sanitary analytical chemistry**, 2011, Salvador, 2011.
5. SILVA, R. L. da, FROES, M. B. R., SILVA, C. P. da, NAVICKIENE, S. Desenvolvimento de método para determinação de resíduos de pesticidas em alface produzida em sistema convencional. In: **34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2011, Florianópolis, 2011.
6. SILVA, C. P. da, ZOCOLO, G. J., MARCHI, M. R. R. Otimização de método e avaliação do efeito matriz na análise de resíduos de PCPs em água por GC-MS/MS In: **16º Encontro Nacional de Química Analítica**, 2011, Campos do Jordão, 2011.
7. SILVA, C. P. da, SILVA, R. L. da, FROES, M. B. R., DOREA, H. D., NAVICKIENE, S. Determinação de ácidos haloacéticos em água utilizando extração em fase sólida e cromatografia a gás com detecção por captura de elétrons In: **33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2010, Águas de Lindóia, 2010.
8. FROES, M. B. R., NAVICKIENE, S., DOREA, H. D., SILVA, C. P. da, SILVA, R. L. da. Desenvolvimento de método analítico para determinação de resíduos de pesticidas em cupuaçu usando MSPD e HPLC. In: **15º Encontro Nacional de Química Analítica e 3º Congresso Ibero americano de Química Analítica**, 2009, Salvador-BA, 2009.
9. SILVA, C. P. da, NAVICKIENE, S., DOREA, H. D., SILVA, R. L. da, FROES, M. B. R. Desenvolvimento de Método para Determinação de Ácidos Haloacéticos em Água utilizando EFS e CG/DCE In: **15º Encontro Nacional de Química Analítica e 3º Congresso Ibero americano de Química Analítica**, 2009, Salvador-BA, 2009.
10. SILVA, R. L. da, NAVICKIENE, S., DOREA, H. D., SILVA, C. P. da, FROES, M. B. R. Desenvolvimento de Método para Determinação de Resíduos de Pesticidas em Alface Utilizando GC/MS In: **15º Encontro Nacional de Química Analítica e 3º Congresso Iberoamericano de Química Analítica**, 2009, Salvador-BA, 2009.
11. MOREIRA, F. K. V., SILVA, C. P. da, GIMENEZ, I. F., BARRETO, L. S. Aplicação de Peneiras Moleculares de Carbono no Tratamento de Água Contaminada por Compostos Orgânicos In: **XVII Encontro de Iniciação Científica - UFS/CNPq**, 2007, São Cristóvão, 2007.

12. SILVA, C. P. da, MOREIRA, F. K. V., GIMENEZ, I. F., VIEIRA, E. F. S., BARRETO, L. S. Biocompósitos de Celulose do Pó Residual do Coco e outros Biopolímeros: Preparação, Caracterização e Aplicação. In: **XVII Encontro de Iniciação Científica**, 2007, São Cristóvão, 2007.

#### **Apresentação de trabalho e palestra**

1. SILVA, C. P. da, MARCHI, M. R. R. **Análise de produtos de cuidado pessoal (PPC) em água: Otimização de método cromatográfico para análise de resíduos de filtros UV**, 2011. (Simpósio, Apresentação de Trabalho)

2. SILVA, C. P. da, MOREIRA, F. K. V., GIMENEZ, I. F., VIEIRA, E. F. S., BARRETO, L. S. **Biocompósitos de Celulose do Pó Residual do Coco e outros Biopolímeros: Preparação, Caracterização e Aplicação**, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

CLAUDIA PEREIRA DA SILVA

Tese apresentada ao Instituto de Química,  
Universidade Estadual Paulista, como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Doutora em Química.

Araraquara, 01 de setembro de 2014.

BANCA EXAMINADORA



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mary Rosa Rodrigues de Marchi (Orientadora)  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



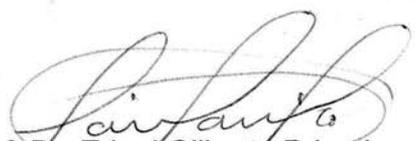
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Lúcia Ribeiro  
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Prof. Dr. Eduardo Bessa Azevedo  
Universidade de São Paulo –USP, São Carlos



Prof. Dr. Mario Sergio Galhiane  
Faculdade de Ciências – UNESP, Bauru



Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel  
Universidade Federal do Rio Grande – UFRG, Rio Grande

*Dedico esse trabalho a minha mãe Tereza a meu pai Gedeão, pela educação pelo amor, pelo carinho e pela enorme e maravilhosa família. Os quais foram, são e sempre serão tudo pra mim. Também, dedico a meu amado Elissandro por todo apoio, incentivo, carinho e cuidado.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço... primeiramente ao meu bom Deus por ter me guiado por todo esse tempo, por ter feito de mim uma pessoa forte, forte o suficiente para enfrentar sem fraquejar todas as dificuldades. Obrigado aos meus queridos pais (dona Tereza e seu Dida) pelos exemplos diários de nobreza e dignidade, pelos vários sacrifícios enfrentados para proporcionar a mim e aos meus irmãos sempre o melhor possível.

Obrigada a meus irmãos (Teninho, Jato, Nanã, Nega, Zilda, Aninha, José, Márcio, Valeria e Nando) pelo carinho, pela força, pelo incentivo e pelo auxílio financeiro no tempo das “vacas magras” rrsrsr.

Obrigada ao meu querido e amado, Elissandro... pelo carinho, pelo amor, pela atenção, pelo apoio psicológico véspera prova de seleção, vinda para Araraquara e permanência em Araraquara e principalmente pela paciência em ouvir todas as prévias: previa de apresentação de seminário, de qualificação, de apresentação em congresso e prévias e mais prévias da defesa. Muito obrigada pela ajuda nas coletas, pelas horas de extração pelas horas de estudo, pelos puxões de orelha para que eu fosse escrever... Resumindo MUITO OBRIGADA POR TUDO!!!

Obrigada ao William, pela ajuda nas coletas, aos motoristas da UNESP que sempre foram muito gentis e prestativos durante as coletas. A Dona Mariley, a Poli e a Maria por todo auxílio no laboratório.

Obrigada aos amigos do GRESCO principalmente ao Guilherme por toda sua boa vontade em ajudar e a Lucy pela amizade, pela alegria contagiante, pelas conversas e conselhos..., também aos amigos da Análise Térmica e agregados.

Agradeço especialmente a professora Dr<sup>a</sup> Mary Rosa por ter me recebido e me incentivado diariamente a crescer, não só como profissional, mais também como pessoa, incentivo esse que não ficou só em palavras, mas a partir de exemplos diários. Muito obrigada pela confiança, pela atenção e especialmente pela liberdade em me deixar crescer no meu ritmo e do meu jeito. Isso foi fundamental para meu progresso.

Obrigada a CAPES e FACTE pelo auxílio financeiro. A UNESP por todo suporte técnico e acadêmico.

*“Seu trabalho vai preencher uma parte grande da sua vida, e a única maneira de ficar realmente satisfeito é fazer o que você acredita ser um ótimo trabalho. E a única maneira de fazer um excelente trabalho é amar o que você faz”.*

*Steve Jobs*

## RESUMO

Substâncias orgânicas capazes de absorver radiações ultravioletas A e B (UVA e UVB) são utilizadas em protetores solares e, cada vez mais, têm sido empregadas na formulação de diversos cosméticos e produtos de higiene pessoal em virtude da crescente preocupação com os danos causados pela radiação solar, em especial os cânceres de pele. Diante dessa ampla utilização, tais substâncias acabam por aportar em ambientes aquáticos por meio de atividades recreacionais ou lançamento de esgoto doméstico. Estudos realizados em países europeus apontaram a presença de filtros UV em águas superficiais, sedimentos e peixes. A preocupação quanto à presença deste tipo de substância no ambiente e à exposição de organismos aquáticos reside na potencialidade de bioacumulação e capacidade de atuarem como interferentes endócrinos. Diversos bioensaios *in vitro* e *in vivo* mostram que as substâncias benzofenona-3 (BP-3), etilhexil salicilato (ES), etilhexil metoxinamato (EHMC) e octocrileno (OC), alvos deste estudo, apresentam atividade estrogênica. Apesar de tais evidências, existem poucos estudos sobre a ocorrência e destino deste tipo de substância no ambiente e nenhum se refere ao Brasil. Com isso, o presente estudo descreve o desenvolvimento, otimização e validação de método além do estudo de ocorrência dos filtros UV em matrizes ambientais. O método desenvolvido baseou-se em extração em fase sólida (SPE) e cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas em tandem. A otimização utilizada foi a multivariada onde as variáveis que podiam afetar a eficiência da extração foram estudadas simultaneamente utilizando um planejamento experimental, um planejamento fatorial fracionário (PFF)  $2^{5-1}$ . O uso do PFF proporcionou um desenvolvimento de método de extração rápido eficiente e econômico. Os parâmetros de validação avaliados foram seletividade, curva analítica, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação. A avaliação da seletividade, particularmente do efeito matriz, é um aspecto muito importante do estudo de validação e não foi negligenciado. Na avaliação das curvas, embora os modelos de calibração por regressão linear por mínimos quadrados não ponderados tenham sido tradicionalmente utilizados, eles não são necessariamente os modelos ótimos. Nesse trabalho, como a homocedasticidade dos dados não foi assumida, foi utilizada regressão linear por mínimos quadrados ponderados. Então, para o método proposto, todas as figuras de mérito foram satisfatórias, com recuperações para os quatro níveis de fortificação entre 62 e 107%, desvio padrão relativo menor que 14%. Os limites de quantificação foram encontrados na faixa de  $\text{ng L}^{-1}$ , variando entre 10 e  $50 \text{ ng L}^{-1}$ . O método foi aplicado para a análise dos quatro filtros UV em amostras de águas naturais, especificamente nas estações de tratamento de água (ETAs) da Bacia Hidrográfica Tietê-Jacaré (UGRHI-13), no Estado de São Paulo num período de 6 meses a 1 ano. Todos os analitos foram detectados em algum momento do período de estudo. No entanto, apenas BP-3 e EHMC em concentrações quantificáveis, variando de 18 a  $115 \text{ ng L}^{-1}$ .

**Palavras-chave:** Filtros UV. SPE. GC-MS/MS. Otimização multivariada. Homocedasticidade. Validação.

## ABSTRACT

Organic substances capable of absorbing ultraviolet radiation A and B (UVA and UVB) are used in sunscreens and, increasingly, have been employed in the formulation of various cosmetics and personal care products (PCPs) due to the increasing concern about the damage caused by radiation solar, especially skin cancers. Because of their widespread use, these substances eventually contribute in aquatic environments through recreational activities or release of wastewater. Studies in European countries indicated the presence of UV filters in surface water, sediments and fish. The concern about the presence of these substance in the environment and exposure of aquatic organisms is the potential for bioaccumulation and ability to act as endocrine disruptors. Bioassays in vitro and in vivo show that substances benzophenone-3 (BP-3), ethylhexyl salicylate (ES), ethylhexyl metoxinamato (EHMC) and octocrylene (OC), targets of this study, have estrogenic activity. Despite the evidence, there are few studies on the occurrence and fate of this type of substance in the environment and none refers to Brazil. Thus, this work describes the development, optimization, validation of the method and the occurrence of UV filters in environmental matrices. The developed method is based on solid phase extraction (SPE) and gas chromatography-tandem mass spectrometry. The multivariate optimization was used where the variables affecting the extraction efficiency were studied simultaneously using an experimental design. A fractional factorial design (FFD)  $2^{5-1}$ . The use of FFD provided a development method of extraction fast efficient and economical. The validation parameters evaluated were selectivity, calibration curve, precision, trueness, limit of detection and quantification. The selectivity, particularly the matrix effect, is a very important aspect of the validation study and this parameter was not been overlooked. In the evaluation of the analytical curve, although the calibration models by non-weighted least squares linear regression model has traditionally been used for calibration, but it is not necessarily the optimal model in all cases. In this work, as the homoscedasticity of the data was not assumed, we used weighted least squares linear regression. Thus, for the proposed method, all figures of merit were satisfactory, with recoveries for the four fortification levels between 62 and 107%, relative standard deviation less than 14%. The limits of quantification were found in the range of  $\text{ng L}^{-1}$  (10 to 50  $\text{ng L}^{-1}$ ). The method was applied to the analysis of the four UV in natural water samples filters, specifically in water treatment plants of the hydrographic basin Tietê-Jacaré (UGRHI-13), in São Paulo stations within 6 months to one year. All analytes were detected at some point during the study period. However, only BP-3 and EHMC in measurable concentrations between 18 and 115  $\text{ng L}^{-1}$ .

**Keywords:** UV filters. SPE. GC-MS/MS. Multivariate optimization. Homoscedasticity. Validation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Vias de aporte dos filtros UV em água.	30
Figura 2 – Processos de alteração endócrina: (a) Resposta natural, (b) Efeito agonista, (c) Efeito antagonista.	34
Figura 3 – Etapas do processo de Extração em Fase Sólida (SPE).	37
Figura 4 – Fluxograma das etapas geralmente utilizadas na análise de filtros UV em amostras de águas naturais.	40
Figura 5 – Gráfico residual para avaliação da regressão com distribuição satisfatória dos resíduos.	43
Figura 6 – Passos para avaliação dos dados da curva analítica	46
Figura 7 – Fluxograma das etapas de um estudo ambiental.	49
Figura 8 – Etapas envolvidas na estratégia de amostragem.	49
Figura 9 – Percentagens da coleta e tratamento de esgoto do Brasil e regiões.	51
Figura 10 – Mapa do Estado de São Paulo segundo a divisão do território em UGRHI (numeradas de 1 a 22).	51
Figura 11 – Localização dos municípios, da UGRHI-13, selecionados como sítios de amostragem.	53
Figura 12 – Localização da UGRHI-13 no território nacional e dos municípios selecionados como sítios de amostragem.	59
Figura 13 – Localização do município de Araraquara-SP.	59
Figura 14 – Etapas convencionais do tratamento de água para abastecimento público.	61
Figura 15 – Fotos dos pontos de coleta da ETA da Fonte. a) foto da fachada da ETA b) ponto de coleta da água de rio, c) ponto de coleta da água tratada e d) ponto de coleta da água clorada.	62
Figura 16 – Fotos dos pontos de coleta da ETA de Bueno de Andrada. a) ETA, b) ponto de coleta da água bruta e c) dosador automático d) ponto de coleta da água clorada.	63
Figura 17 – Localização do município de Bauru-SP.	64
Figura 18 – Fotos dos pontos de coleta da ETA de Bauru. a) foto da fachada da ETA b) ponto de coleta da água de rio, c) ponto de coleta da água tratada e da água clorada.	64
Figura 19 – Localização do município de Jau-SP.	65
Figura 20 – Fotos dos pontos de coleta da ETA de Jau. a) foto da fachada ETA b) ponto de coleta da água de rio, c) ponto de coleta da água tratada e d) ponto de coleta da água clorada.	66
Figura 21 – Localização do município de São Carlos-SP.	66

Figura 22 – Fotos dos pontos de coleta da ETA de São Carlos. a) foto da fachada da ETA b) ponto de coleta da água de rio e da água clorada c) ponto de coleta da água tratada.	67
Figura 23 – Localização do município de Trabiju-SP.	68
Figura 24 – Foto dos pontos de coleta da ETA de Trabiju.	68
Figura 25 – Cromatograma (TIC) para a solução mista dos filtros UV em acetato de etila a $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , usando as condições otimizadas (Tabela 6)	72
Figura 26 – Espectro de massas obtidos a partir do cromatograma no modo “full scan” (Figura 25). Íons precursores selecionados (BP-d10 – 192 m/z; ES – 120,0 m/z; BP-3 – 227,2 m/z; BC – 193,1 m/z; EHMC – 178,3 m/z; OC – 250,2 m/z).	73
Figura 27 – Escolha do mecanismo de SPE para amostras aquosas.	75
Figura 28 – Gráfico de Pareto para as respostas normalizadas.	83
Figura 29 – Sistema utilizado para realizar várias extrações simultaneamente. Em destaque o reservatório para acondicionar a amostra.	84
Figura 30 – Fluxograma do procedimento de SPE otimizado.	86
Figura 31: Cromatograma obtido no modo MRM com fortificações dos filtros UV e surrogate a $200 \text{ ng L}^{-1}$ (concentração na amostra). O padrão interno (BC) a $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (concentração no extrato final). EHMCs estão presentes ambos (Z) e (E) isômeros.	87
Figura 32 – Curvas analíticas (GC-MS/MS) em solvente ( ) e no extrato da matriz ( ) para os analitos em estudo.	88
Figura 33 – Gráfico dos resíduos versus concentração.	90
Figura 34 – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 2 (◆), modelo 4 (■) e modelo 8 (●).	92
Figura 35 – Concentração média (n=3) mensal para BP-3 em água de rio (◆), água tratada (■) e água clorada(▲) da ETA de Araraquara.	102
Figura 36 – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 2 (◆), modelo 5 (■) e modelo 8 (●).	124
Figura 37 – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 1 (◆), modelo 3 (■), modelo 4 (●) e modelo 8 (▲).	124
Figura 38 – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 2 (◆), modelo 3 (■), modelo 5 (●) e modelo 8 (▲).	125
Figura 39 – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 2 (◆), modelo 3 (■), modelo 5 (●) e modelo 8 (▲).	125

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Substância, abreviação, Nº de registro CAS, estrutura química, massa molar, valores de log $K_{ow}$ e ponto de ebulição para os filtros UV incluídos neste trabalho.	26
Tabela 2 – Concentração máxima permitida, em produtos de cuidado pessoal, para BP-3, ES, EHMC e OC no Brasil, União Europeia, Estados Unidos e Japão.	27
Tabela 3 - Sumário das matrizes, métodos de extração e análise e das concentrações médias ou faixas de concentrações dos filtros UV no ambiente.	31
Tabela 4 – Avaliação semi-quantitativa das atividades agonistas e antagonistas dos compostos em ensaios com (hER) e hAR.	35
Tabela 5 – Carga orgânica poluidora de origem doméstica dos municípios da UGRHI-13. Em negrito, os municípios inseridos nesta tese.	52
Tabela 6: Condições cromatográficas otimizadas	71
Tabela 7 – Condições otimizadas para as análises com dupla fragmentação por GC-MS/MS.	74
Tabela 8 – Variáveis envolvidas no procedimento de SPE dos filtros UV.	77
Tabela 9 – Áreas obtidas por meio de injeções com e sem secagem da solução padrão mista de filtros UV em isoctano. E seus respectivos coeficientes de variação (CV).	78
Tabela 10 – Áreas obtidas para os filtros UV após testes de secagem (avolumando por fluxo suave de $N_2$ , secando completamente por rota evaporador e secando completamente por fluxo suave de $N_2$ ). E seus respectivos CVs.	79
Tabela 11 – Variáveis e níveis estudados por PFF $2^{5-1}$ na otimização do procedimento de SPE.	81
Tabela 12 – Recuperações (expressas como porcentagem) obtidas para os filtros UV após SPE dos testes de Planejamento experimental e a resposta normalizada para cada um desses experimentos.	82
Tabela 13 – Valores de pH estudados na otimização da extração e as respectivas recuperações (%).	84
Tabela 14 – Recuperações médias (%) obtidas na avaliação da perda dos filtros UV no reservatório da amostra.	84
Tabela 15 – Recuperações médias (%) obtidas na avaliação da lavagem dos reservatórios da amostra.	85
Tabela 16 – Curvas analíticas (GC-MS/MS) para os analitos de interesse na matriz.	89
Tabela 17 – Parâmetros de regressão da curva de calibração ( $y=ax+b$ ) gerada para cada peso (W) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o BP-d10.	92
Tabela 18 – Parâmetros (otimizados) de regressão da curva de calibração gerada para cada analito e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ).	93

Tabela 19 – Recuperações médias e coeficientes de variação (CV) para n = 3	94
Tabela 20 – Limite de detecção e quantificação do método de extração por SPE e GC-MS/MS.	95
Tabela 21 – Concentração dos filtros UV em água (ng L <sup>-1</sup> ) de março/2013 a fevereiro/2014 na ETA de Araraquara. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação (n=3).	98
Tabela 22 – Concentração dos filtros UV em água (ng L <sup>-1</sup> ) de Abril/2013 a setembro/2013 na ETA de Bauru. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação (n=3).	99
Tabela 23 – Concentração dos filtros UV em água (ng L <sup>-1</sup> ) de abril/2013 a setembro/2013 na ETA de São Carlos. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação (n=3).	99
Tabela 24 – Concentração dos filtros UV em água (ng L <sup>-1</sup> ) de março/2013 a agosto/2013 na ETA de Jau. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação (n=3).	100
Tabela 25 – Concentração dos filtros UV em água (ng L <sup>-1</sup> ) de março/2013 a agosto/2013 na ETA de Bueno de Andrada. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação (n=3).	100
Tabela 26 – Concentração dos filtros UV em água (ng L <sup>-1</sup> ) de março/2013 a agosto/2013 na ETA de Trabiçu. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação (n=3).	101
Tabela 27 - Parâmetros de regressão da curva de calibração (y=ax+b) gerada para cada peso (W) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o ES.	121
Tabela 28 - Parâmetros de regressão da curva de calibração (y=ax+b) gerada para cada peso (W) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o BP-3.	122
Tabela 29 - Parâmetros de regressão da curva de calibração (y=ax+b) gerada para cada peso (W) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o EHMC.	122
Tabela 30 - Parâmetros de regressão da curva de calibração (y=ax+b) gerada para cada peso (W) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o OC.	123

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIHPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos

AcOEt – acetato de etila

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BA $\mu$ E-LD – microextração por barra adsorptiva com dessorção líquida

BC – benzil cinamato

BP-3 – benzofenona-3

BP-d10 – benzofenona-d10

CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental

CID – dissociação induzida por colisão

CV – coeficiente de variação

DAAE – Departamento autônomo de água e esgoto

DAE – Departamento de água e esgoto

DCM – diclorometano

DLLME – microextração líquido-líquido dispersiva

DP – desvio padrão

DPR – desvio padrão relativo

EHMC – etil hexil metoxinamato

ER – erro relativo

ES – etil hexil salicilato

ETA – Estação de tratamento de água

ETE – Estação de tratamento de esgoto

FPS – fatores de proteção solar

GC-MS – cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas

GC-MS/MS – cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas com dupla ionização

hAR – receptor androgênico humano

HCl – ácido clorídrico

hER $\alpha$  – receptor estrogênico humano

HPLC-UV-DAD – cromatografia líquida de alta eficiência com detector espectrofotométrico de absorção no ultravioleta/visível com arranjo de fotodiodos

IV – infravermelho

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IE – interferente endócrino

LC(ESI)MS/MS – cromatografia líquida acoplada a espectrometria em tandem com ionização por electrospray

LC(APPI)MS/MS – cromatografia líquida acoplada a espectrometria em tandem com fotoionização à pressão atmosférica

LC-MS/MS – cromatografia à líquido acoplada a espectrometria de massas em tandem

LLE – extração líquido-líquido

LOD – limite de detecção

LOQ – limite de quantificação

LPME – microextração em fase líquida

*m/z* – massa carga

MALLE – extração líquido-líquido assistida por membrana

MeOH – metanol

MEPS – microextração por sorbente empacotado

MRM – monitoramento de reações múltiplas

MSPD – dispersão da matriz em fase sólida

NaOH – hidróxido de sódio

OC – octocrileno

PCPs – produtos de cuidados pessoais

PFC – planejamento fatorial completo

PFF – planejamento fatorial fracionário

PLE – extração líquido pressurizada

QuEChERS – rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro do inglês (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe)

SAEMJA – Serviço de Água e Esgoto do Município de Jaú

SBSE – extração sortiva em barra magnética

SIM – monitoramento de íon seletivo

SPE – extração em fase sólida

SPLE – extração seletiva líquido pressurizada

SPMD – dispositivo de membrana semipermeável

SPME – microextração em fase sólida

TC-IL-DLPME – microextração em fase líquido dispersiva com líquido iônico com temperatura controlada

TD-GC-MS – cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas com dessorção térmica

TIC – cromatograma de íons total

TiO<sub>2</sub> – dióxido de titânio

UA-DLLME – microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom

UGRHI – Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos

UHPLC–(ESI)MS/MS – cromatografia á líquido de ultra performance acoplada a espectrometria em tandem com ionização por electrospray

UV – ultravioleta

UVA – ultravioleta A

UVA – ultravioleta B

UVA – ultravioleta C

Vis – visível

ZnO – óxido de zinco

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	22
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	24
<b>2.1</b>	<b>Radiação solar</b>	24
<b>2.2</b>	<b>Filtros UV</b>	25
<b>2.3</b>	<b>Aporte dos Filtros UV ao ambiente</b>	28
<b>2.4</b>	<b>Interferentes endócrinos</b>	33
<b>2.5</b>	<b>Métodos analíticos para determinação dos filtros UV</b>	35
2.5.1	Técnicas para extração dos filtros UV de matrizes aquosas	36
2.5.1.1	<i>Extração em Fase Sólida</i>	36
2.5.1.2	<i>Otimização do procedimento de SPE</i>	37
2.5.2	Técnicas de análise dos Filtros UV em água	39
2.5.2.1	<i>Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC MS/MS)</i>	40
<b>2.6</b>	<b>Validação do método SPE e GC-MS/MS</b>	41
2.6.1	Seletividade	41
2.6.2	Curva analítica	42
2.6.3	Precisão e exatidão	47
2.6.4	Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)	47
<b>2.7</b>	<b>Amostragem</b>	48
2.7.1	Seleção da área a ser inserida no estudo ambiental	50
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS:</b>	54
<b>4</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	55
<b>4.1</b>	<b>Reagentes e soluções padrão</b>	55
<b>4.2</b>	<b>Instrumentação e condições cromatográficas (otimizadas)</b>	56
<b>4.3</b>	<b>Procedimento de extração em fase sólida (SPE) (otimizado)</b>	56
<b>4.4</b>	<b>Planejamento experimental e ferramentas estatísticas</b>	57
<b>4.5</b>	<b>Procedimento de Validação</b>	57
<b>4.6</b>	<b>Amostragem</b>	58
4.6.1	Localização dos pontos amostrais	58
4.6.1.1	<i>Araraquara</i>	59
4.6.1.2	<i>Bueno de Andrada</i>	62
4.6.1.3	<i>Bauru</i>	63
4.6.1.4	<i>Jaú</i>	65
4.6.1.5	<i>São Carlos</i>	66
4.6.1.6	<i>Trabiju</i>	67
<b>4.7</b>	<b>Lista de materiais utilizados</b>	69
4.7.1	Reagentes e solventes	69
4.7.2	Materiais e equipamentos	69
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	70

<b>5.1</b>	<b>Limpeza da vidraria</b>	70
<b>5.2</b>	<b>Condições cromatográficas</b>	70
<b>5.3</b>	<b>Procedimento de extração</b>	74
<b>5.4</b>	<b>Validação</b>	87
5.4.1	Seletividade	87
5.4.2	Curva analítica	89
5.4.3	Exatidão e precisão	93
5.4.4	Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)	94
<b>5.5</b>	<b>Ocorrência e concentrações dos filtros UV na Bacia Hidrográfica Tietê-Jacaré</b>	97
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	105
	DESTINAÇÃO DOS RESÍDUOS QUÍMICOS GERADOS	107
	TRABALHOS FUTUROS	108
	REFERÊNCIAS	109

## 1 INTRODUÇÃO

Substâncias orgânicas capazes de absorver radiação UV são utilizadas em protetores solares e, cada vez mais, têm sido empregadas na formulação de produtos de higiene pessoal, isso em virtude da crescente preocupação com os danos causados pela radiação solar, em especial os cânceres de pele (CHISVERT e SALVADOR, 2007).

Tais substâncias acabam por aportar em ambientes aquáticos por meio de atividades recreacionais ou lançamento de esgoto doméstico (GIOKAS, SALVADOR e CHISVERT, 2007). Estudos realizados em diversos países apontaram a presença de substâncias em águas superficiais, sedimentos e peixes entre outras matrizes.

A preocupação quanto à presença deste tipo de substância no ambiente e à exposição de organismos aquáticos reside na potencialidade de bioacumulação e capacidade de atuarem como interferentes endócrinos (DÍAZ-CRUZ e BARCELO, 2009). Apesar dessas evidências, existem poucos estudos sobre a ocorrência e destino deste tipo de substância no ambiente e nenhum se refere ao Brasil.

A determinação fidedigna de microcontaminantes orgânicos em matrizes ambientais requer procedimentos de otimização e validação analítica rigorosos e criteriosos, que frequentemente tem sido negligenciada pelos pesquisadores.

Esse trabalho apresenta dois enfoques um analítico e um ambiental. No primeiro, inicialmente foi realizada a otimização do método de extração/pré-concentração utilizando (SPE, com fase polimérica), essa otimização foi efetuada empregando-se estatística multivariada. Posteriormente, iniciou-se a validação do método (incluindo SPE e determinação por GC-MS/MS). Na validação os parâmetros avaliados foram seletividade, curva analítica, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação, com destaque à obtenção da curva analítica, onde se mostrou necessário o uso de curvas analíticas ponderadas, isso para garantir a confiabilidade das quantificações e a possibilidade de trabalhar em um maior intervalo de concentrações.

No segundo enfoque, o ambiental, avaliou-se a presença dos filtros UV (presentes com maior frequência em protetores solares comercializados em Araraquara) em matrizes ambientais. As matrizes estudadas foram água bruta

(rio ou subterrânea), tratada (sem cloração/fluoretação) e potável (com cloração/fluoretação), sendo incluídos neste estudo cinco municípios e um distrito da UGRHI-13, em uma base temporal de 6 a 12 meses, com periodicidade mensal.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Radiação solar

A radiação eletromagnética originária do Sol que atinge a Terra tem seus comprimentos de onda compreendidos entre 290 e 2000 nm, onde estão inclusas as radiações, infravermelha (IV), visível (Vis) e parte da ultravioleta (UV). A energia que cada uma dessas radiações possui é inversamente proporcional ao comprimento de onda. Delas, a radiação ultravioleta é a que apresenta os menores comprimentos de onda e dessa forma são as mais energéticas. Elas também são as mais propensas a induzir reações fotoquímicas (FLOR e DAVOLOS, 2007).

A radiação ultravioleta é subdividida em faixas de energia distintas as quais são classificadas como UVA, UVB e UVC. A UVC é a de menor comprimento de onda, e então a mais intensa e que podem ocasionar sérios danos. Entretanto, essa radiação quase não atinge a superfície da Terra, pois é filtrada pela camada de ozônio. Também, parte da radiação UVB não incide sobre a terra, pois a camada de ozônio absorve comprimentos de onda mais curtos que ~310 nm (UVC e parte da UVB), de modo que a radiação UV que significativamente atinge a Terra é a UVA e parte da UVB (KANAVY e GERSTENBLITH, 2011). As quais podem ocasionar sérios danos a pele humana.

Durante muito tempo, a toxicidade da radiação UVB atraiu maior atenção que da UVA devido aos seus maiores danos. Contudo, as radiações UVA e UVB são clinicamente significativas, pois ambas tem sido associadas ao aumento de doenças de pele (KOSHY et al., 2010). A exposição crônica a estes dois tipos de radiação pode induzir danos à pele humana, tais como: queimaduras, eritemas, fotoenvelhecimento bem como o câncer (De ORSI et al., 2006).

Convém esclarecer aqui que mesmo diante desses graves efeitos adversos que a radiação UV pode causar é importante considerar que a exposição à radiação solar, em pequenas quantidades, tem efeito terapêutico em diferentes patologias, uma vez que é imprescindível para a produção de vitamina D pelo corpo humano. Isso por sua vez aumenta a absorção de cálcio,

prevenindo dessa forma osteoporose e raquitismo, também tem efeitos benéficos em artrites, regulação da pressão arterial, diabetes, força muscular, e ainda melhora o humor (CHISVERT e SALVADOR, 2007).

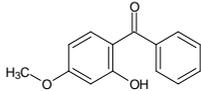
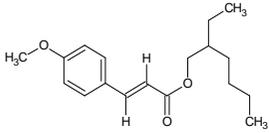
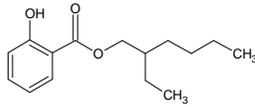
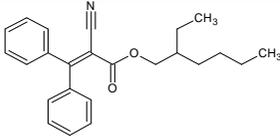
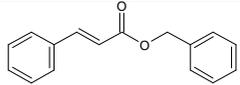
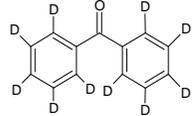
Destaca-se, ainda, que devido aos danos causados a camada de ozônio, a radiação UV que chega a Terra tem aumentado nos últimas décadas, o que poderia explicar o aumento da incidência de tumores de pele (CHISVERT e SALVADOR, 2007). Então, em resposta aos efeitos adversos da radiação UV, esforços têm sido realizados na tentativa de evitar ou minimizá-los. Dentre esses esforços, tem se destacado a obtenção de compostos que apresentem características de fotoproteção, os chamados filtros ultravioletas (filtros UV).

## 2.2 Filtros UV

Filtros UV são substâncias incolores ou amarelas com absorção quase nula de radiação visível, mas significativa absorção da luz nas faixas UVA e UVB (DÍAZ-CRUZ e BARCELO, 2009). Uma característica comum a todos eles é a presença de um anel aromático com uma cadeia lateral mostrando diferentes graus de insaturação (DÍAZ-CRUZ e BARCELO, 2009). A maioria deles é de compostos lipofílicos (baixa solubilidade em água) (RICHARDSON, 2009). No entanto, a presença de grupos fenólicos em suas estruturas pode fornecer a eles certa mobilidade no ambiente aquático (NEGREIRA et al., 2009a). A Tabela 1 mostra as estruturas e algumas propriedades físico-químicas importantes dos filtros UV abordados nesse trabalho.

Os filtros UV são tradicionalmente classificados como inorgânicos (ou físicos) e orgânicos (ou químicos). Os filtros inorgânicos (dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ), óxido de zinco ( $\text{ZnO}$ ), por exemplo) atuam basicamente pela reflexão, espalhamento e absorção da luz UV (não serão abordados nesse trabalho), enquanto os filtros orgânicos (benzofenona (BP-3), octocrileno (OC), por exemplo) agem principalmente por absorção da luz UV (CUDERMAN e HEATH, 2007). A proteção se dá pela absorção do fóton, pela molécula do filtro, que rapidamente retornam ao estado fundamental por relaxamento vibracional, e então novamente ativa, absorvem adicionais fótons e repete-se o processo, protegendo assim dos danos causados pela radiação UV (FELIX, HALL e BRODBELT, 1998).

**Tabela 1** – Substância, abreviação, N° de registro CAS, estrutura química, massa molar, valores de log K<sub>ow</sub> e ponto de ebulição para os filtros UV incluídos neste trabalho.

Substância (abreviação) CAS	N°	Estrutura química	Massa molar (g/mol)	logK <sub>ow</sub>	pKa	Solubilidade em água (mg/L)	Ponto de ebulição (°C)	Pressão de vapor (Torr)
Benzofenona-3 (BP-3), 131577			228,24	3,79 <sup>a</sup>	7,56 <sup>a</sup>	68,6 <sup>c</sup>	150-160 <sup>b</sup>	5,26x10 <sup>-6</sup>
Etilhexil metoxicinamato (EHMC), 5466773			290,40	5,80 <sup>a</sup>	---	0,156 <sup>c</sup>	198-200 <sup>b</sup>	8,89x10 <sup>-7</sup>
Etilhexil salicilato (ES), 118605			250,33	5,97 <sup>a</sup>	8,13 <sup>a</sup>	0,028	189-190*	8,07x10 <sup>-5</sup>
Octocrileno (OC), 6197304			361,49	6,88 <sup>a</sup>	---	0,004 <sup>c</sup>	218**	2,56x10 <sup>-9</sup>
Benzil cinamato (BC) 103413			238,28	4,06 <sup>d</sup>	---	0,0093 <sup>d</sup>	195-200***	1,05x10 <sup>-5</sup>
Benzofenona-d <sub>10</sub> (BP-d <sub>10</sub> ), 22583751			192,28	3,18 <sup>e</sup>	---	n.e.	305 <sup>b</sup>	n.e.

\* 21mmHg (litoral) (SIGMA ALDRICH, 2014a)

\*\*1,5 mmHg (litoral) (SIGMA ALDRICH, 2014b)

\*\*\* 5mmHg (litoral) (SIGMA ALDRICH, 2014c)

<sup>a</sup> (RODIL; SCHRADER e MOEDER, 2009)

<sup>b</sup> (ZENKER; SCHMUTZ e FENT, 2008)

<sup>c</sup> (MOEDER et al., 2010)

<sup>d</sup> (BHATIA et al., 2007)

<sup>e</sup> (SIGMA ALDRICH, 2014d)

n.e. = não encontrado.

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2014.

Os filtros UV têm diversas aplicações: em têxteis, produtos para o lar, tecidos, plásticos, produtos ópticos, produtos agrícolas (FENT, KUNZAC e GOMEZD, 2008), sendo a sua principal aplicação em produtos de cuidados pessoais (PCPs). Nesses, eles tem a função de proteger pele, lábios e cabelos dos danos que a radiação UV em excesso pode causar. Alguns desses filtros protegem da radiação UVB, outros oferecem proteção contra comprimentos de onda na faixa UVA e poucos outros cobrem as duas faixas.

Deste modo, para garantir maiores fatores de proteção solar (FPS), além da maior concentração de cada um deles, geralmente, são usados mais que um filtro UV nas formulações dos PCPs (FENT, ZENKER e RAPP, 2010). Em virtude disso, maior atenção tem sido dada ao teor máximo dessas substâncias em protetores solares e cosméticos.

Os filtros UV são regulamentados para PCPs em muitos países (De ORSI et al., 2006), inclusive no Brasil. Mas, nos diversos países em que há regulamentação, existem diferenças quanto a suas classificações (drogas de balcão, cosméticos etc), quanto as concentrações máximas permitidas, bem como o número de substâncias legisladas. A Tabela 2 mostra a concentração máxima permitida para os quatro filtros UV foco desse estudo, no Brasil e em outras partes do mundo (DÍAZ-CRUZ e BARCELO, 2009; AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2006)

**Tabela 2** – Concentração máxima permitida, em produtos de cuidado pessoal, para BP-3, ES, EHMC e OC no Brasil, União Europeia, Estados Unidos e Japão.

Substância	Nome INCI**	Abreviação	Concentração máxima permitida			
			Brasil	UE	USA	Japão
2-Hidroxi-4-metoxibenzofenona (Oxibenzona)*	Benzofenona-3	BP-3	10%	0%	6%	5%
Salicilato de 2- etilhexila	Octil (ou Etilhexil) salicilato	ES	5%	5%	5%	10%
4 – Metoxicinamato de 2 - etilhexila	Octil (ou Etilhexil) metoxicinamato	EHMC	10%	10%	7,5%	20%
2-Ciano-3,3 difenilacrilato de 2- etilhexila	Octocrileno	OC	10%	10%	10%	10%

\*Para concentrações maiores que 0,5% incluir advertência na rotulagem: contém oxibenzona;

\*\* Nomenclatura internacional para ingredientes cosméticos (do inglês International Nomenclature for Cosmetic Ingredient).

**Fonte:** Adaptado de: (AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2006; CHISVERT e SALVADOR, 2007).

Com relação ao número de filtros UV legislados: na União Europeia (UE) somam um total de 28, 16 nos EUA, 21 no Canadá e 26 na Austrália (TUCHINDA et

al., 2006), enquanto no Brasil são legislados 38 filtros UV. A regulamentação brasileira para essas 38 substâncias é feita pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que descreve os filtros UV como substâncias adicionadas (dentro de limites e condições determinadas) aos produtos para proteção solar, cosméticos ou perfumes com a finalidade de filtrar os raios ultravioleta, visando proteger a pele de efeitos danosos causados pela radiação UVA e UVB. A ANVISA também indica que os filtros UV utilizados em PCPs somente com a finalidade de preservá-los da degradação fotoquímica, não segue a mesma determinação ANVISA (AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2006). Para esses casos, normalmente concentrações máximas vão de 0,05 a 2%, embora essa quantidade não seja estipulada por lei (ZENKER, SCHMUTZ e FENT, 2008).

Convém lembrar aqui, que essa regulamentação da ANVISA quanto à concentração máxima permitida, dos filtros UV, refere-se aos produtos de cuidados pessoais. Com relação ao ambiente, não há nenhuma normativa regulamentadora no Brasil e no mundo até o momento. Essa ausência tem sido motivo de preocupação em anos recentes, pois, o fato dos filtros UV terem, durante muito tempo, sido notados apenas pela sua eficácia em atenuar os efeitos danosos da radiação solar, em especial o câncer de pele, fez com que esses compostos passassem a ser adicionados não apenas em produtos de proteção solar, mas também, passaram a fazer parte das formulações de muitos produtos de uso diário, tais como cosméticos, cremes para a pele, loções para o corpo, sprays e tinturas de cabelo, xampu dentre muitos outros. Os quais, de forma direta e/ou indireta terão como destino o ambiente (CHISVERT e SALVADOR, 2007).

### **2.3 Aporte dos Filtros UV ao ambiente**

Com a diversidade de aplicações dos filtros UV e com sua incorporação cada vez mais frequente dos PCPs de uso diário, tem se tornado muito expressiva as quantidades desses compostos lançadas diariamente no ambiente. Seja por meio das descargas de águas residuais de seu processo de obtenção, do descarte de embalagens e/ou principalmente a partir de seus vários usos, destacando-se o uso em PCPs.

Quando usados em PCPs, os filtros UV podem atingir o ambiente aquático de maneira direta, pela remoção da pele nas atividades recreacionais ou de forma

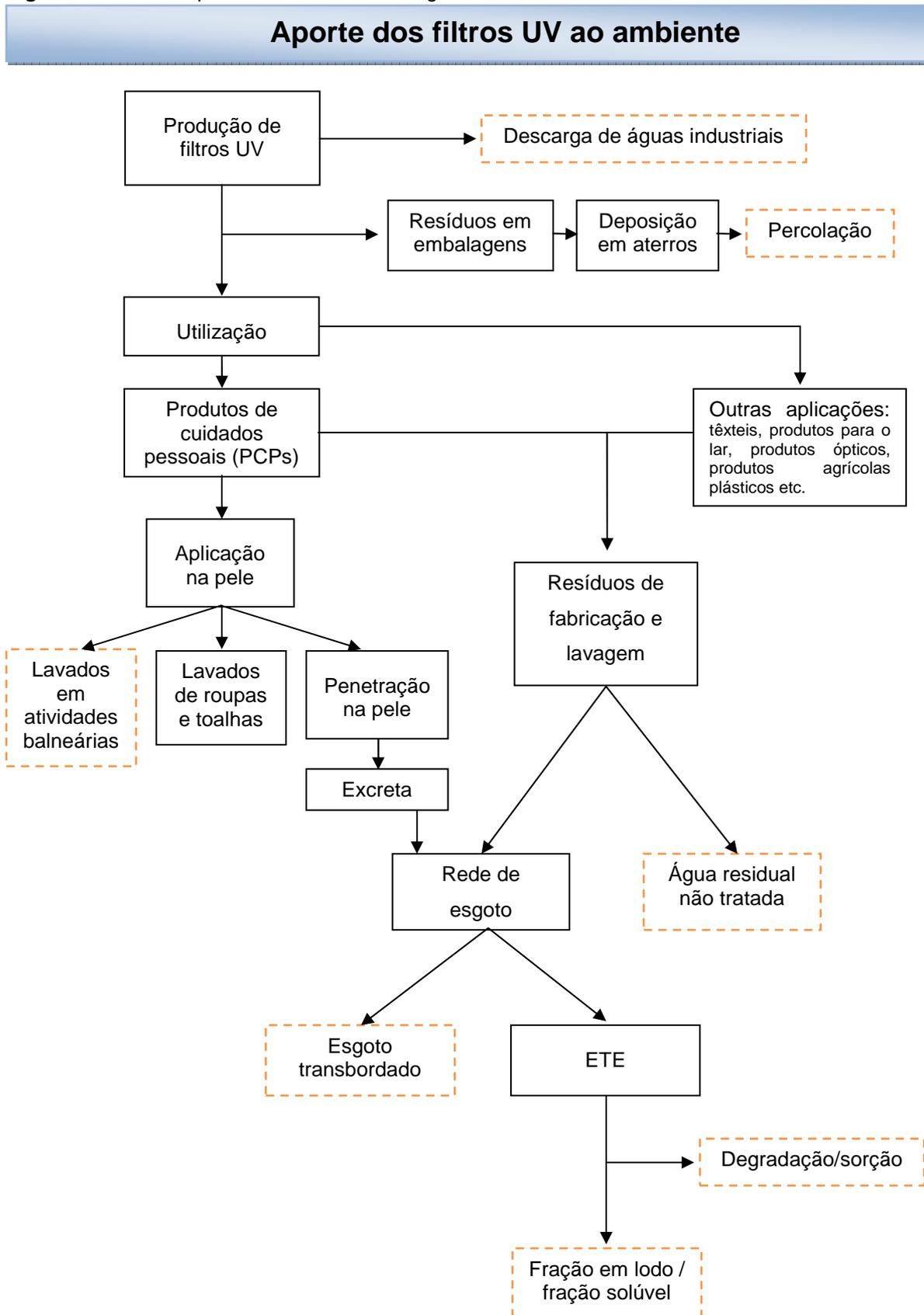
indireta por meio da remoção de roupas, toalhas de banhos, das frações absorvidas e excretadas, os quais seguem para a rede coletora de efluentes domésticos, então para estação de tratamento, e a depender dos processos de tratamento empregado podem chegar ao ambiente. A Figura 1 mostra, de forma esquemática, as principais vias de aporte dos filtros UV ao ambiente (GIOKAS, SALVADOR e CHISVERT, 2007).

Em termos de Brasil, o aporte dessas substâncias ao ambiente é provavelmente muito grande. Pois, levando em conta que o Brasil é um país tropical, com alta incidência de irradiação solar, que conseqüentemente apresenta um alto consumo de produtos com filtros UV. Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC) o Brasil é o terceiro maior consumidor de cosméticos do mundo, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e Japão (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE..., 2012).

Tudo isso vem a se somar com os baixíssimos índices de tratamento de esgoto. Como a questão de tratamento de esgoto no Brasil é incipiente, o lançamento de efluentes *in natura* ou mesmo processados parecem ser a principal via de aporte e contaminação do ambiente aquático por filtros UV. A velocidade com que isso acontece, é mais um agravante importantíssimo. Pois, mesmo que os filtros UV não apresentem tempos de meia-vida longos, o seu constante lançamento no ambiente, pode lhes conferir caráter pseudo-persistente. Isso porque essas substâncias são introduzidas no ambiente em uma frequência, muitas vezes maior que aquela necessária para sua remoção ambiental.

Sendo assim, seu monitoramento ambiental tem despertado bastante interesse nos últimos anos. A Tabela 3 apresenta uma coletânea das concentrações médias ou faixas de concentração de alguns filtros UV detectados em diversas matrizes ambientais, usando variados métodos de extração.

**Figura 1** – Vias de aporte dos filtros UV em água.



**Fonte:** Adaptado de: (GIOKAS, SALVADOR e CHISVERT, 2007).

**Tabela 3** - Sumário das matrizes, métodos de extração e análise e das concentrações médias ou faixas de concentrações dos filtros UV no ambiente.

Compostos Analisados	Matriz	Concentrações encontradas	Método de extração e análise	País/ano	Referência
BP-3 e metabólitos	Água e urina humana	200 – 260 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPME-GC-MS	EUA, 1998	FELIX, 1998
Filtros UV	Água de piscina e do mar	2,1 – 9,9 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPME-GC-MS	Grécia, 2002	LAMBROPOULOU, 2002
Filtros UV	Água do mar e piscina	1,8 – 10 $\text{ng L}^{-1}$	SPE LC-UV-DAD e GC-MS	Grécia, 2004	GIOKAS, 2004
Filtros UV	Água superficial	5- 266 $\text{ng L}^{-1}$	SPE GC-MS-SIM	Suíça, 2004	POIGER, 2004
Filtros UV	Água, águas residuais e peixe	0,01 – 119 $\mu\text{g L}^{-1}$	SPE, SPMDs	Suíça, 2005	BALMER, 2005
Filtros UV	Águas de banho	---	GC-MS e LC-UV DAD	Grécia, 2005	GIOKAS, 2005
BP-3 e metabólitos	Água e solo	47 – 85 $\text{ng L}^{-1}$ 27 – 18380 $\text{ng kg}^{-1}$	LLE GC-MS	Coreia do Sul	JEON, 2006
Filtros UV	Águas	15 - 400 $\text{ng L}^{-1}$	SPE GC-MS	Eslovênia, 2007	CUDERMAN, 2007
Filtros UV	Esgoto	34- 2128 $\text{ng L}^{-1}$	SPE GC-MS	China, 2007	LI, 2007
Filtros UV	Água de rio, lago e esgoto	2-250 $\text{ng L}^{-1}$	SBSE TD-GC-MS	Espanha, 2008	RODIL, 2008
Filtros UV	Água e tecido adiposo de peixe	4 -1344 $\text{ng g}^{-1}$	LC(ESI)MS/MS GC-MS/MS	Suíça, 2008	ZENKER, 2008
Benzofenonas	Água de rio	68,9-85 $\text{ng L}^{-1}$	LPME GC-MS	Japão, 2008	OKANOUCHI, 2008
Filtros UV	Água	20-2679 $\text{ng L}^{-1}$	SPE LC-ESI-MS/MS	Espanha, 2008	RODIL, 2008
Filtros UV	Esgoto e rio	13 – 462 $\text{ng L}^{-1}$	SPME-GC-MS/MS	Espanha, 2009	NEGREIRA, 2009a
Produtos de cuidados pessoais	Água de rio e esgoto	11 – 5613 $\text{ng L}^{-1}$	SPE e UHPLC-(ESI)MS/MS	Espanha, 2009	PEDROUZO, 2009
Filtros UV	Água logo e esgoto	3 – 5322 $\text{ng L}^{-1}$	MALLE LC(APPI)-MS/MS	Espanha, 2009	RODIL, 2009
PCPs	Peixe	17-970 $\text{ng g}^{-1}$	GC (SIM) MS e GC-MS/MS	EUA, 2009	MOTTALEB, 2009
Filtros UV	Poeira de apartamentos e veículos	35-41000 $\text{ng g}^{-1}$	MSPD GC-MS/MS	Espanha, 2009	NEGREIRA 2009b
PCPs	Água superficial e residual	11-286 $\text{ng L}^{-1}$	SPE UHPLC(ESI)MS/MS	Espanha, 2009	PEDROUZO, 2009
Filtros UV e fragrâncias sintéticas	Água de rio	8 – 520 $\text{ng L}^{-1}$	SPME-GC-MS	China, 2010	LIU, 2010
Filtros UV e fragrâncias sintéticas	Lago e esgoto	10 – 3052 $\text{ng L}^{-1}$	MEPS-GC-MS	Alemanha, 2010	MOEDER, 2010
BP-3 e metabólitos	Água do mar	280 – 3300 $\text{ng L}^{-1}$	DLLME-GC-MS	Espanha, 2010	TARAZONA, 2010

Tabela 3 - Continuação

Compostos Analisados	Matriz	Concentrações encontradas	Método de extração e análise	País/ano	Referência
Produtos de cuidados pessoais	Água de torneira	---	SPME-GC-MS	Itália, 2011	BASAGLIA, 2011
Filtros UV	Água de rio, lado e esgoto e sedimento	1 – 4928 ng L <sup>-1</sup> e 2,0 - 3422 mg kg <sup>-1</sup>	SPE e GC-MS	Japão, 2011	KAMEDA, 2011
Filtros UV	Água de rio e esgoto	---	SPE e GC-MS/MS	Taiwan, 2011	HO, 2011
Filtros UV	Água de rio e esgoto	32,7 – 2206 ng L <sup>-1</sup>	SPE e GC-MS/MS	Australia, 2011	LIU, 2011
Filtros UV	Esgoto	---	SPE e HPLC-DAD	Irã, 2011	VOSOUGH, 2011
Benzofenonas	Água de lago	---	DLLME HPLC	China, 2011	ZHANG, 2011
Benzofenonas e salicilatos	Solo e sedimento	0,6 – 20 ng g <sup>-1</sup>	GC-MS	Espanha, 2011	SÁNCHEZ-BRUNETE, 2011
Filtros UV	Água do mar	55 – 216 ng L <sup>-1</sup>	SBSE LC-MS/MS	Itália, 2011	NGUYEN, 2011
Filtros UV	Lodo de esgoto	0,04 to 9,17 ng g <sup>-1</sup>	PLE UPLC-ESI(+)-MS/MS	Espanha, 2011	GAGO-FERRERO, 2011
Filtros UV	Lodo	93 - 3263 ng g <sup>-1</sup>	PLE GC-MS	Espanha, 2011	NEGREIRA, 2011
Produtos de cuidados pessoais	Esgoto	4 – 16 ng L <sup>-1</sup>	SPME-GC-MS	Itália, 2012	BASAGLIA, 2012
Filtros UV	Água de rio	n.d.	SPME-GC-MS	Singapura, 2012	ZHANG, 2012
Filtros UV	Água de torneira	1,5 – 295 ng L <sup>-1</sup>	SPE e GC-MS	Espanha, 2012	DÍAZ-CRUZ, 2012
Filtros UV	Água de rio, mar e esgoto	3 – 551 ng L <sup>-1</sup>	SBSE e HPLC-APCI-MS/MS	Itália, 2012	MAGI, 2012
Filtros UV	Água do mar	91 – 880 ng L <sup>-1</sup>	DLLME e GC-MS	Espanha, 2014	BENEDÉ, 2014
Benzofenonas	Água do mar e esgoto	2,2 – 2,5 µg L <sup>-1</sup>	BA µE-LD/HPLC-DAD	Portugal, 2013	ALMEIDA, 2013
Filtros UV e retardantes de chama	Sedimento	0,08 – 143 ng g <sup>-1</sup>	SPLE e GC-MS e/ou LC-MS/MS	Chile e Colômbia, 2013	BARÓN, 2013
Filtros UV	Peixe	11,2 – 241,7 ng g <sup>-1</sup>	PLE/SPE e LC-MS/MS	Espanha, 2013	GAGO-FERRERO, 2013
Filtros UV	Água de rio, subterrânea e esgoto	4,3 – 1548 ng L <sup>-1</sup>	On-line SPE LC-MS/MS	Espanha, 2013	GAGO-FERRERO, 2013
Filtros UV	Água de rio e esgoto	6,1 – 21,4 ng L <sup>-1</sup>	UA-DLLME e GC-MS	Taiwan, 2013	WU, 2013
Filtros UV	Água de piscina e de torneira	nd	TC-IL-DLPME HPLC	Singapura, 2013	ZHANG, 2013
Filtros UV e fragrâncias	mexilhões marinhos	78 - 3992 ng g <sup>-1</sup>	QuEChERS e GC-MS/MS	Portugal, 2014	GROZ, 2014

**Tabela 3** - Continuação

Compostos Analisados	Matriz	Concentrações encontradas	Método de extração e análise	País/ano	Referência
Filtros UV	Água subterrânea	3,2 – 36,6 ng L <sup>-1</sup>	on-line- SPE- LC-MS/MS	Espanha, 2014	JURADO, 2014

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2014.

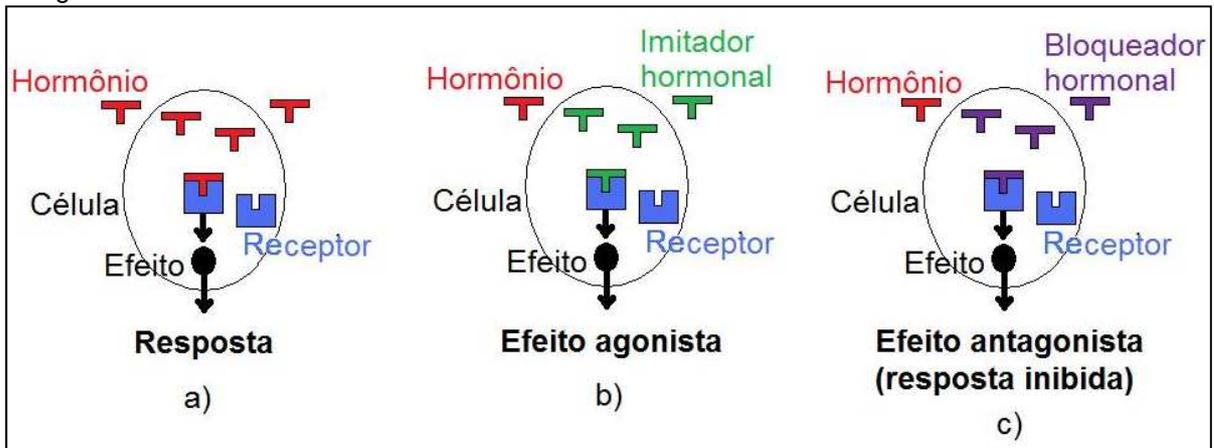
A presença de filtros UV no ambiente, conforme referenciado na Tabela 3, tem gerado apreensão da comunidade científica. Essa preocupação reside na potencialidade de bioacumulação e principalmente na capacidade de atuarem como interferentes endócrinos (DÍAZ-CRUZ; BARCELO 2009).

## 2.4 Interferentes endócrinos

O termo interferente endócrino (IE) tem várias definições. Mas, de modo mais simplificado, IE são substâncias químicas naturais ou sintéticas que podem interferir no funcionamento normal do sistema endócrino (GHISELLI e JARDIM, 2007). IEs podem causar distúrbios na síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônios endógenos e, assim como o metabolismo, alteram também a diferenciação sexual e a função reprodutiva (BILA e DEZOTTI, 2007).

Em um hormônio natural, a ação se inicia quando ele liga-se ao receptor hormonal específico no interior da célula (Figura 2a). Entretanto, certas substâncias químicas (os interferentes endócrinos) também podem se ligar ao receptor hormonal e, conseqüentemente, interferir a ação do hormônio natural. O interferente endócrino interage com os receptores hormonais, modificando a sua resposta de duas maneiras distintas (Figuras 2b e 2c): Primeira, o IE pode se ligar ao receptor hormonal e produzir uma resposta, atuando então como um mimetizador, ou seja, imitando a ação de um determinado hormônio (processo denominado de efeito agonista) (Figura 2b). Na segunda maneira, o IE se liga ao receptor, mas nenhuma resposta é produzida, agindo como um bloqueador, ou seja, estará impedindo a interação entre um hormônio natural e seu respectivo receptor, (processo denominado de efeito antagonista) (Figura 2c) (GHISELLI e JARDIM, 2007).

**Figura 2** – Processos de alteração endócrina: (a) Resposta natural, (b) Efeito agonista, (c) Efeito antagonista.



Fonte: Adaptado de: (GHISELLI e JARDIM, 2007).

Uma substância já bem caracterizada como estrogênica é o 17-beta-estradiol (o mais comum dos estrógenos naturais) e tem sido relatado, por literatura especializada, que a atividade estrogênica de alguns filtros UV orgânicos está na mesma faixa desse estrógeno. (GIOKAS, SALVADOR e CHISVERT, 2007; PEDROUZO et al., 2011).

Além da atividade estrogênica, em trabalho de Kunz e Fent, 2006 é estudada a atividade antiestrogênica, androgênica e a antiandrogênica (múltipla atividade hormonal) de 18 filtros UV e 1 metabólito (Tabela 4). Nesse estudo, todos os compostos estudados apresentaram múltipla atividade hormonal *in vitro*, sendo que onze deles apresentaram três das quatro atividades hormonais. Ainda, desses 19 compostos estudados, 10 atuaram como mimetizadores e 14 como inibidores da interação do hormônio natural e o receptor estrogênico humano (hER $\alpha$ ). Já, com relação a interação do hormônio natural e o receptor androgênico humano (hAR) 6 atuaram como mimetizadores e 17 como inibidores (KUNZ e FENT, 2006).

Essa múltipla atividade hormonal mostrada na Tabela 4 pode levar a graves alterações no ecossistema e, especialmente, no desenvolvimento normal do eixo endócrino dos seres vivos. Preocupações a esse respeito tem aumentado consideravelmente o interesse na melhor compreensão da ocorrência e destino dessas substâncias no ambiente (FENT, ZENKER e RAPP, 2010). O monitoramento dessas substâncias nos compartimentos ambientais é realizado fazendo uso de técnicas analíticas sensíveis.

**Tabela 4** – Avaliação semi-quantitativa das atividades agonistas e antagonistas dos compostos em ensaios com (hER) e hAR.

Composto	Atividade estrogênica	Atividade antiestrogênica	Atividade androgênica	Atividade antiandrogênica
4-metilbenzilideno cânfora	--	+++	--	+++
3-Benzilideno cânfora	+	+++	--	+++
Benzofenona-1	+++	--	--	+++
Benzofenona-2	+++	--	+++	+++
4-hidroxi benzofenona	+++	--	--	+++
4,4-dihidroxi benzofenona	+++	--	--	+++
Benzofenona-3	+	+++	--	+++
Benzofenona-4	+	+++	--	+++
4-Metoxicinamato de isopentila	--	+++	++	+++
Etil hexil metoxinamato	--	+++	++	+++
octocrileno	--	+++	+	+++
Benzil salicilato	+	+++	--	+++
Fenil salicilato	++	+++	--	+++
Homosalato	--	+++	+++	+++
Etil hexil salicilato	--	+++	++	+++
Ácido 4-aminobenzoico	--	+++	--	--
4-aminobenzoato de etila	+++	--	--	++
4-Dimetil-aminobenzoato de 2-etilhexila	--	+++	--	+++
N-Etoxi-4-aminobenzoato de etila	--	+	--	--

Abreviaturas: Os sinais indicam a eficácia de cada composto em diferentes ensaios: +++, máximas curvas de dose-resposta, com eficácia  $\geq$  a 80%; ++, submáxima curvas de dose-resposta com eficácia  $\geq$  a 30%; + e submáximas curvas dose-resposta com eficácia  $<$  que 30%; -- não detectado.

**Fonte:** KUNZ e FENT, 2006.

## 2.5 Métodos analíticos para determinação dos filtros UV

Quando se trabalha com matrizes ambientais, geralmente, os métodos analíticos utilizados para detecção e quantificação de filtros UV são restritos à técnicas cromatográficas. Entretanto, antes que as amostras sejam introduzidas no sistema cromatográfico algum procedimento de pré-tratamento (extração, *clean-up*, e concentração dos analitos de interesse) deve ser utilizado para melhorar a determinação dos compostos de interesse.

O pré-tratamento tem a finalidade de melhorar a detectabilidade do instrumento analítico. Visto que, nos grandes volumes de amostras ambientais é esperado que os analitos alvo estejam em pequenas quantidades, enquanto é esperado uma grande quantidade e variedade de interferentes. Em virtude disso, diferentes técnicas de extração têm sido utilizadas com intuito de encontrar aquela mais adequada para análise de cada tipo de amostra e analito.

### 2.5.1 Técnicas para extração dos filtros UV de matrizes aquosas

Métodos tradicionais de preparo da amostra, tal como a extração líquido-líquido (LLE), ainda são utilizadas (JEON, CHUNG e RYU, 2006). Entretanto, uma tendência em técnicas de extração é diminuir o consumo de solventes orgânicos, dessa forma, a LLE tem sido cada vez menos utilizada (CALDAS et al., 2011). A técnica de extração em fase sólida (SPE) se destaca por consumir menos tempo, menos solventes e vem sendo desenvolvida e/ou aperfeiçoada na efetiva aplicação para extração de filtros UV em amostras aquosas (PEDROUZO et al., 2011).

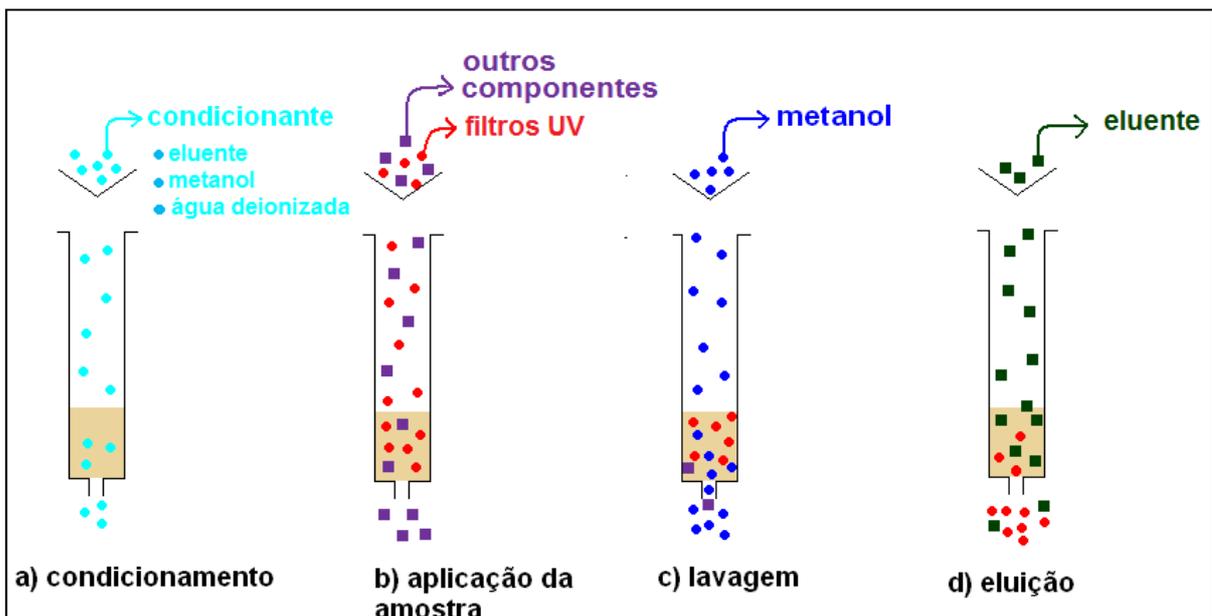
Por outro lado, técnicas miniaturizadas vêm ganhando espaço recentemente, por exemplo, a microextração em fase sólida (SPME) (LIU et al., 2010), a extração sortiva em barra magnética (SBSE) (RODIL e MOEDER, 2008) e a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) (TARAZONA et al., 2010) têm sido utilizadas para determinar filtros UV. Entretanto, a variedade de polaridades dos materiais comerciais, para algumas dessas técnicas, é limitada (PEDROUZO et al., 2011). Dessa forma, a SPE com sua variedade de sorbentes é ainda, a técnica de extração preferida por muitos autores para a extração e pré-concentração dos filtros UV em amostras aquosas (CUDERMAN e HEATH, 2007; RODIL et al. 2008; PEDROUZO et al., 2009).

#### 2.5.1.1 *Extração em Fase Sólida*

A técnica de SPE (esquematizado na Figura 3) foi o procedimento selecionado para ser utilizado na etapa de extração e pré-concentração dos analitos de interesse das amostras estudadas. SPE consiste basicamente na seguinte sequência de etapas: (1) Pré-condicionamento – recomendado para eliminação de possíveis impurezas oriundas de seu processo de fabricação. Essa etapa de limpeza geralmente é realizada com o solvente que será utilizado na eluição. (2) Condicionamento – tem a finalidade de ativar o material da sorbente, tornando-o mais predisposto para extração. Nesse processo, para sorbentes apolares de SPE são utilizados solventes orgânicos, por exemplo, metanol. (3) Aplicação da amostra – a transferência das amostras para o cartucho de SPE deve ser feita de forma quantitativa. A amostra deve ser percolada através do cartucho usando um sistema manifold para SPE, de maneira não muito rápida, de modo que haja tempo para interação do analito com a fase estacionária. (4) Lavagem – realizada com o intuito

de remover possíveis contaminantes que tenham sido adsorvidos juntamente com os analitos, e também pode ser utilizado para secagem do sorbente. (5) Eluição – a eluição dos filtros UV adsorvidos no sorbente serão desorvidos com auxílio do solvente de eluição. Para que a eluição seja satisfatória, é importante a correta escolha do eluente e também é necessário que a vazão seja lenta o suficiente para a quebra das interações entre o analito e a fase extratora.

**Figura 3** – Etapas do processo de Extração em Fase Sólida (SPE).



Fonte: Adaptado de (THURMAN e MILLS, 1998).

Como pode ser notado pelo parágrafo anterior e pela ilustração da Figura 3, o procedimento de extração por SPE envolve várias etapas, conseqüentemente suas recuperações podem ser afetadas em cada uma dessas etapas por vários fatores (variáveis), tais como: pH da amostra, capacidade do cartucho, tipo de eluente, volume do eluente, solvente de lavagem etc. Sendo assim, a extração pode não ser satisfatória se os efeitos não são conhecidos e se os fatores não são otimizados.

### 2.5.1.2 Otimização do procedimento de SPE

Para otimizar o procedimento de SPE, ou qualquer outro processo de extração, e obter recuperações máximas, primeiramente deve-se elencar todas as variáveis necessárias para descrever o sistema, e só então procurar ajustá-las até a obtenção da maior resposta, neste caso, área ou altura dos picos cromatográficos da

substância de interesse (EIRAS et al., 2000) ou ainda melhor, ajustá-las até obter recuperações na faixa compreendida entre 70 e 120% (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION..., 2005). Esse ajuste, da otimização, pode ser realizado com a variação de um fator por vez (método univariado) o que é demorado e pode conduzir a conclusões equivocadas. Outro modo é realizado com a variação de todos os fatores ao mesmo tempo (método multivariado), onde os possíveis efeitos sinérgicos e antagônicos dos fatores são levados em consideração, minimizando dessa forma conclusões erradas.

Para isso, pode-se fazer o uso de planejamentos experimentais, um planejamento fatorial completo (PFC) ou ainda um planejamento fatorial fracionário (PFF). A utilização de planejamentos fatoriais mostra-se favorável na otimização de procedimentos, pois, usando-os é possível poupar tempo e recursos, já que, com poucos experimentos, podem-se identificar as variáveis que são significativas para o procedimento e ainda, apontar as possíveis interações entre as variáveis. E com mais alguns outros experimentos tem-se a maximização dos valores das variáveis significantes, ou seja, a melhor configuração dos fatores envolvidos, resultando assim nas melhores recuperações dos analitos (PASSEPORT et al., 2010).

Em um planejamento fatorial, dois ou mais valores (níveis) são escolhidos para representar a faixa de variação de cada fator. Então, todas as possíveis combinações desses fatores (Planejamento Fatorial Completo – PFC) ou um subconjunto dessas combinações (Planejamento Fatorial Fracionário – PFF) são realizados (SVENNERBERG, BERGH e STENHOFF, 2003).

O planejamento fatorial completo (nível 2) necessita de  $2^k$  (onde  $k$  é o número de fatores) ensaios para sua execução. Portanto, sua principal desvantagem é o grande número de ensaios que devem ser realizados a cada fator adicionado ao estudo. Sabendo-se que os efeitos de altas ordens, principalmente para planejamentos com  $k > 4$ , são quase sempre não significativos, a realização de ensaios para estimar tais efeitos de interação pode ser irrelevante. Desta maneira, com um menor número de experimentos em um Planejamento Fatorial Fracionário (PFF), é possível, obter informações daqueles efeitos mais importantes e retirar, na maioria das vezes, as mesmas conclusões caso fosse realizado um fatorial completo (TEÓFILO, FERREIRA, 2006).

Sabendo disso, e considerando o grande número de fatores ( $k > 4$ ) a ser estudado na otimização do procedimento de SPE em questão. O PFF foi escolhido

para triagem das variáveis que realmente seriam significativas ao procedimento SPE em estudo. Após a realização da triagem, o analista passa a conhecer a quantidade de novos experimentos que ele irá necessitar para chegar ao procedimento otimizado.

### 2.5.2 Técnicas de análise dos Filtros UV em água

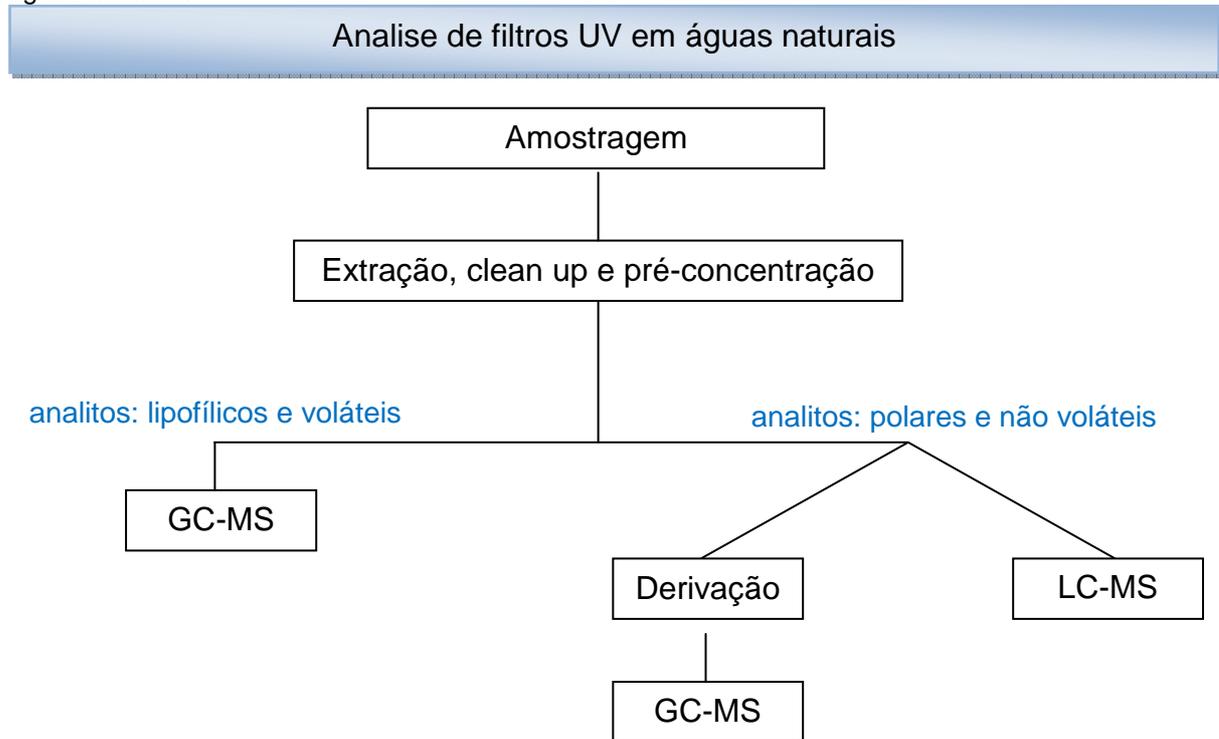
Nas determinações de filtros orgânicos UV em cosméticos, diferentes técnicas instrumentais tem sido utilizadas tais como: espectrometria NRM, espectrometria Raman, espectroscopia de absorção no UV-Vis, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cromatografia a gás (GC), e especialmente cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) (JEON, CHUNG e RYU, 2006). Já em amostras ambientais, após a extração, *clean-up* e concentração dos analitos, os métodos analíticos utilizados são quase sempre restritos à cromatografia em fase gasosa (GC) e/ou cromatografia líquida (LC) acoplada a espectrometria de massas (MS) ou MS tandem (MS/MS) (TARAZONA et al., 2010; ZHANG et al., 2011)

A matriz é um fator que deve ser bastante considerado na escolha da técnica de análise a ser utilizada. Pois, a complexidade da matriz pode complicar o procedimento de preparação de amostra, obtendo-se um extrato final com altos níveis de interferentes, o que pode levar a pobre identificação e quantificação dos analitos. Para contornar isso, na determinação dos filtros UV, geralmente faz-se detecção por espectrometria de massas no modo tandem (MS/MS), alternativa utilizada para minimizar as interferências e também o *background* na exatidão no processo de quantificação. O detector no modo MS/MS tem vantagens sobre o MS, pois aquele apresenta maior seletividade e detectabilidade. Diminuindo dessa forma os valores obtidos para os limites de detecção e quantificação dos analitos (VERENITCH, LOWE e MAZUMDER, 2006).

Devido à complexidade da matriz, a detecção por MS/MS é geralmente preferida, e a decisão em usar GC ou LC é principalmente baseada nas propriedades físico-químicas dos analitos (Figura 4). Por exemplo, analitos mais apolares e voláteis, tais como os filtros UV em estudo (BP-3, EHMC, ES e OC), são mais facilmente determinados utilizando GC-MS ou GC-MS/MS. Mas, alguns outros analitos mais polares e não voláteis são derivados antes da análise por GC, ou

ainda, para evitar a etapa adicional de derivação é preferível usar LC na determinação desses analitos.

**Figura 4** – Fluxograma das etapas geralmente utilizadas na análise de filtros UV em amostras de águas naturais.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2014.

#### 2.5.2.1 Cromatografia em fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC MS/MS)

Quando se trabalha com matrizes complexas, como matrizes ambientais por exemplo, onde os níveis de interferência são muito altos, a abordagem MS/MS é, sem dúvida mais vantajosa. O fato do método MS/MS poder selecionar e isolar um íon precursor, de determinado analito, em detrimento de todos os demais íons gerados pela matriz; e depois deixá-lo passar por uma segunda fragmentação não só reduz significativamente a interferência de fundo, como também aumenta a detectabilidade, e ainda melhora a confiança da identificação (VERENITCH, LOWE e MAZUMDER, 2006). Portanto, no modo tandem, uma vez bem otimizados os parâmetros, a determinação é menos sujeita a interferências, visto que para cada

pico obtido no cromatograma existe um respectivo espectro de massas que pode ser usado como uma espécie de identidade do composto.

Depois de otimizado todo o processo cromatográfico e de extração é necessário demonstrar que a metodologia proposta atende as exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (BERNARDES, SOUZA, 2011).

## 2.6 Validação do método SPE e GC-MS/MS

Estudos de validação constituem uma ferramenta essencial na implantação e manutenção de boas práticas nas diversas áreas analíticas. Tais estudos são estruturados e geralmente tem como referências guias e documentos orientadores. Entretanto, como há varias divergências entre esses documentos, geralmente mais de um é utilizado (ROZET et al., 2007). Apesar dos vários desacordos, é consenso à necessidade da comprovação que o método está validado para finalidade destinada e que ele atende todas as exigências das aplicações analíticas, assegurando assim a confiabilidade dos resultados. Para isso é feita a verificação de parâmetros de desempenho analítico como, por exemplo, seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação (CARDOSO, NÓBREGA e ABRANTES, 2008).

### 2.6.1 Seletividade

Muitas vezes usado erroneamente como sinônimo de especificidade (que é a capacidade do método em detectar apenas um composto específico em meio a outros compostos), a seletividade define a capacidade do método na detecção de várias substâncias em meio a outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (CASSIANO et al., 2009).

Para garantir a seletividade do método proposto, devem ser consideradas a (i) *seletividade específica* – que se refere à presença de substâncias interferentes que apresentam características físico-químicas similares ao analito e a (ii) *seletividade não específica* – também conhecida como efeito matriz, que diz respeito à presença de interferentes inerentes à matriz (CASSIANO et al., 2009). Esses interferentes não mostram sinais aparentes nos testes de seletividade específica.

O estudo da seletividade específica é geralmente realizado pela comparação de amostras testemunho (branco da amostra, ou seja, amostra isenta do analito) e amostras fortificadas (às quais adiciona-se o analito). Já o estudo da seletividade não específica geralmente envolve a comparação de curvas analíticas preparadas no solvente com curvas preparadas no extrato da matriz, nas mesmas concentrações e no mesmo intervalo, seguindo estratégia preconizada na literatura (ECONOMOU et al., 2009; BERNARDES, SOUZA, 2011; CERQUEIRA et al., 2011).

### 2.6.2 Curva analítica

A preparação da curva analítica (curva resposta) envolve a preparação de padrões de calibração no intervalo que se pretende estudar, e a averiguação se, nesse intervalo, os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito.

Uma curva resposta adequada deve minimizar a inexatidão e imprecisão nas medidas analíticas. Varias funções podem ser usadas para obter a curva analítica, sendo o mais comum e simples a regressão linear pelo método dos mínimos quadrados ordinários. No entanto, faz-se necessário uma avaliação para se certificar que a curva analítica escolhida conduz a resultados analíticos precisos (ROZET et al., 2011).

Embora, a avaliação da curva analítica seja comumente feita apenas pela análise dos valores obtidos para o coeficiente de correlação (valores de "r"). É importante destacar que o coeficiente de correlação é enganoso e inapropriado para essa avaliação e, portanto não deve ser usado para tal intuito (THOMPSON, ELLISON, WOOD, 2002). O coeficiente não mede a adequação de um modelo, indica somente o grau de ajuste dos dados a curva, independentemente do modelo (BERNARDES, SOUZA, 2011).

Uma forma de verificar a aceitação da curva analítica é realizada pela avaliação da homocedasticidade (isto é, homogeneidade da variância dos resíduos) dos dados (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL, 2010; MANSILHA et al., 2010). Usa-se para isso o teste F e/ou o gráfico dos resíduos (SINGTOROJ et al., 2006).

Pelo teste F a condição que deve ser assumida para que os dados estejam homogeneamente distribuídos é: o F tabelado ( $F_{tab}$ ) seja maior que o F experimental ( $F_{exp}$ ) ( $F_{tab} > F_{exp}$ ). O  $F_{tab}$  é obtido da tabela F com nível de confiança de 99%, para grau de liberdade (n-1). O  $F_{exp}$  é obtido usando a equação 1, de acordo com (ALMEIDA, CASTEL-BRANCO, FALCÃO, 2002).

$$F_{exp} = \frac{S_2^2}{S_1^2} \quad \text{Eq.: 1}$$

Onde o valor de  $F_{exp}$  é expresso como a razão obtida entre a variância do maior nível de concentração ( $S_2^2$ ) pela variância do menor nível de concentração ( $S_1^2$ ) da faixa de trabalho.

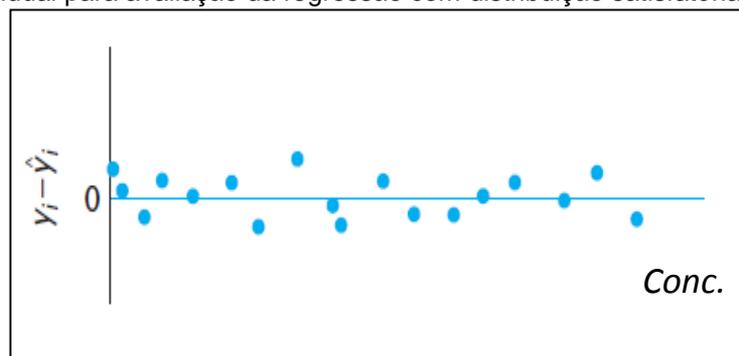
Já na avaliação da homocedasticidade pelos gráficos dos resíduos, os resíduos são calculados pela equação 2, que estabelece a diferença entre os valores medidos ( $y_i$ ) e os valores calculados a partir da equação de regressão avaliada ( $\hat{y}_i$ ) (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL, 2007).

$$R = y_i - \hat{y}_i \quad \text{Eq.: 2}$$

onde:  $y_i$  o sinal experimental e  $\hat{y}_i$  o sinal interpolado na equação de regressão.

Depois de realizados os cálculos dos resíduos, plota-se os gráficos resíduos *versus* concentração, a partir dos quais, é feita a verificação se os dados estão homogeneamente distribuídos ao redor do eixo x. Idealmente, a variância residual deve ser constante e o gráfico deve apresentar o aspecto da Figura 5.

**Figura 5** – Gráfico residual para avaliação da regressão com distribuição satisfatória dos resíduos.



**Fonte:** Adaptado de: (MILLER e MILLER, 2005).

Quando esse aspecto não é seguido fica comprovada a heterocedasticidade (não homogeneidade da variância dos resíduos) dos dados, revelando-se necessária, a escolha de um novo modelo de calibração. Esse novo modelo deve ser mais apropriado para definir a relação entre a concentração e a resposta dos analitos, e conseqüentemente propiciar a obtenção de resultados quantitativos com maior confiabilidade (MANSILHA et al., 2010).

Há algumas opções a serem seguidas quando o modelo apresenta falta de ajuste conforme discutido por (CASSIANO et al., 2009), dentre elas está o uso de fator de peso (a regressão linear por mínimos quadrados ponderados). Os modelos ponderados são particularmente adequados para ensaios em que o desvio padrão relativo (DPR) é constante (isto é, o DP aumenta proporcionalmente à concentração) ao longo da série de concentrações (SINGTOROJ et al., 2006).

Nestes casos, pesos são adotados para neutralizar a maior influência das concentrações maiores na linha de regressão (ALMEIDA, CASTEL-BRANCO, FALCÃO, 2002), proporcionando mais importância aos dados com baixa variância e menos importância aos pontos com elevada variância. Um modelo ponderado ideal irá equilibrar a linha de regressão para gerar um erro uniformemente distribuído em toda a faixa de calibração (SINGTOROJ et al., 2006).

Os fatores de ponderação apropriados,  $w_i$ , podem ser calculados a partir do inverso da variância ( $s_i^{-2}$ ) usando a equação 3 (MANSILHA et al., 2010).

$$w_i = \frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n} \quad \text{Eq.: 3}$$

No entanto, em muitos casos este peso é pouco prático, e outros pesos empíricos baseados na variável x (concentração) ou variável y (resposta) pode fornecer uma simples aproximação de variância. Os pesos ( $w_i$ ) empíricos mais utilizados são  $\frac{1}{y^{0.5}}$ ,  $\frac{1}{y}$ ,  $\frac{1}{y^2}$ ,  $\frac{1}{x^{0.5}}$ ,  $\frac{1}{x}$ ,  $\frac{1}{x^2}$  (ALMEIDA, CASTEL-BRANCO, FALCÃO, 2002).

Cada um desses pesos são aplicados nas equações de regressão linear tornando-as ponderadas. A conversão da equação de regressão linear sem

ponderação na equação linear ponderada é realizada usando o termo  $w_i$  nos cálculos dos parâmetros a e b. Os coeficientes a e b, já ponderados, são calculados pelas equações 4 e 5: (MANSILHA et al., 2010).

$$a_w = \frac{\sum_i w_i x_i y_i - n \cdot \bar{X}_w \cdot \bar{Y}_w}{\sum_i w_i x_i^2 - n \cdot \bar{X}_w^2} \quad \text{Eq.: 4}$$

$$b_w = \bar{Y}_w - a_w \cdot \bar{X}_w \quad \text{Eq.: 5}$$

O coeficiente de correlação ponderado ( $r_w$ ) pode ser calculado pela equação 6 (MANSILHA et al., 2010):

$$r = \frac{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i y_i - \sum w_i x_i \cdot \sum w_i y_i}{\sqrt{\sum w_i \cdot \sum w_i x_i^2 - (\sum w_i x_i)^2} \cdot \sqrt{\sum w_i \cdot \sum w_i y_i^2 - (\sum w_i y_i)^2}} \quad \text{Eq.: 6}$$

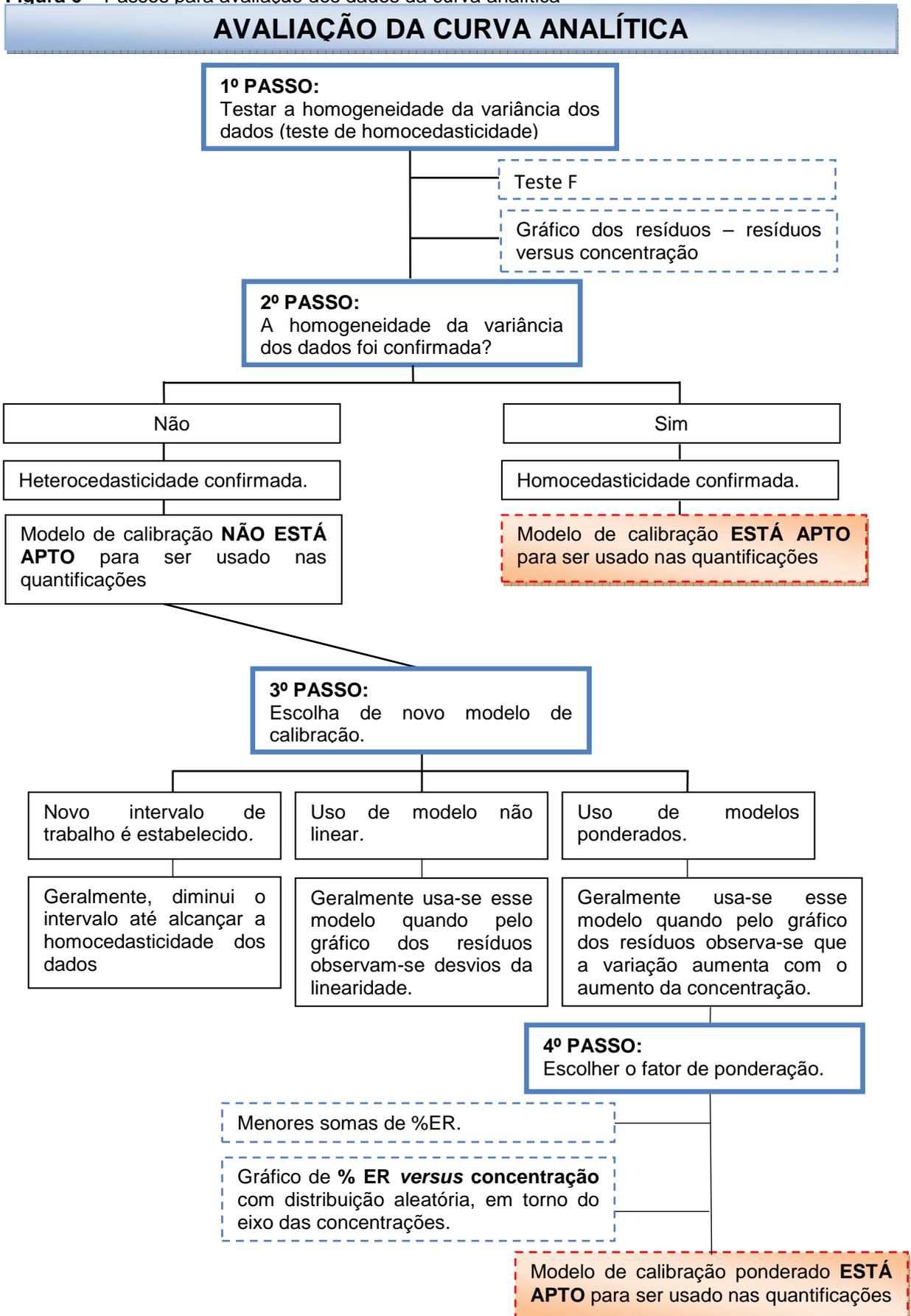
Obtida a nova equação de regressão (agora com pesos), são calculados, para cada peso, os erros relativos percentuais (%ER), pela equação 7. Então aquele peso que apresentar as menores somas de %ER, em combinação com sua melhor distribuição aleatória, em torno do eixo das concentrações é eleito como melhor fator de ponderação. A soma %ER é um sensível indicador da qualidade do ajuste (MANSILHA et al., 2010).

$$\%ER = \frac{C_{(exp)} - C_{(nom)}}{C_{(nom)}} \times 100 \quad \text{Eq.: 7}$$

Onde: a concentração experimental  $C_{(exp)}$  é a obtida a partir da equação ponderada e  $C_{(nom)}$  é a concentração teórica ou nominal.

O processo de avaliação dos dados da curva analítica, desde a averiguação da homocedasticidade dos dados até a escolha do melhor modelo para representar o conjunto de dados em questão, pode ser representado esquematicamente pela Figura 6.

Figura 6 – Passos para avaliação dos dados da curva analítica



### 2.6.3 Precisão e exatidão

A precisão de um método é o grau de concordância (grau de dispersão) entre resultados de testes independentes de amostragens múltiplas de uma amostra homogênea de acordo com condições prescritas. Geralmente é especificada em termos de desvio padrão ou o desvio padrão relativo. Ela é um importante parâmetro que possibilita avaliar se o método é confiável ou não para o objetivo da análise. A precisão pode ser expressa de diferentes maneiras dependendo das condições em que ela for calculada. Por meio da repetibilidade, da precisão intermediária e da reprodutibilidade (THOMPSON, ELLISON, WOOD, 2002; INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION..., 2005).

A exatidão trata da concordância entre os valores individuais obtidos em uma série de ensaios e um valor de referência aceito como verdadeiro (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION..., 2005). É importante observar que um valor verdadeiro ou exato é o valor obtido por uma medição perfeita e este valor é indeterminado por natureza. Assim, a exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança (ou seja, aparece sempre associada a valores de precisão). Estes limites devem ser mais estreitos (< 15%) em níveis de concentração elevados e podem ser mais amplos (< 20%) em níveis de traços (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN..., 2001).

Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método são, entre outros: materiais de referência certificada (CRM); comparação de métodos e ensaios de recuperação (THOMPSON, ELLISON, WOOD, 2002; INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL, 2007). As medições de recuperação são as mais comuns devido à dificuldade em se obterem Materiais de Referência Certificada (CRM) ou devido à impossibilidade de comparação com outros métodos.

### 2.6.4 Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

O limite de detecção representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION..., 2005).

O limite de quantificação é definido como a menor quantidade ou concentração do analito de interesse em uma amostra, que pode ser quantitativamente determinado com valores aceitáveis de precisão e exatidão (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION..., 2005).

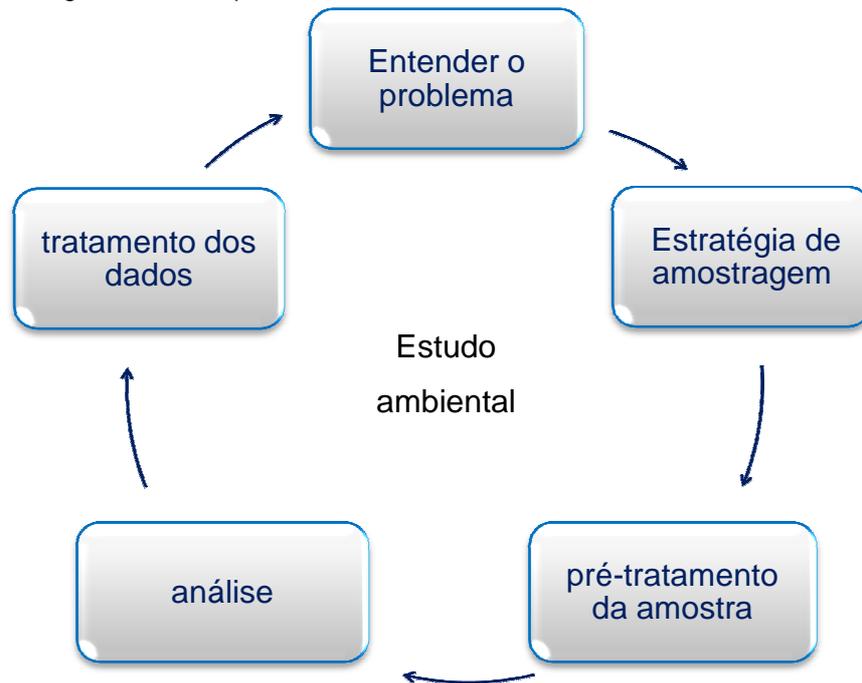
Depois do desenvolvimento do método e certificação de que ele atendia todas as exigências analíticas, exigências necessárias para certificação de que ele (o método desenvolvido) estava apto para a finalidade pretendida iniciaram-se os estudos de amostragens.

## 2.7 Amostragem

No estudo da ocorrência de filtros UV em águas naturais (onde essas substâncias na maioria das vezes estão em pequenas quantidades), geralmente, dá-se maior destaque ao método de análise e ao método de extração e pré-concentração. Não obstante sua importância na confiabilidade analítica dos estudos ambientais cabe lembrar, que a estratégia de amostragem é outro aspecto que não deve ser negligenciado. Ou seja, para o estudo ambiental dos filtros UV com qualidade e confiança, é de fundamental importância que o procedimento proposto envolva todas as etapas analíticas (amostragem + pré-tratamento + análise + tratamento e interpretação dos dados) (Figura 7) com igual importância e cuidados, pois a negligência em qualquer dessas etapas pode levar a obtenção de falsos positivos ou falsos negativos.

Idealmente, a avaliação da ocorrência de um contaminante químico no ambiente seria composta apenas pela etapa analítica (análise), ou seja, fazendo a determinação diretamente no ambiente (*in situ*), isso reduziria drasticamente as possibilidades de erros, custos e trabalho. No entanto, na maioria das vezes, e no caso em estudo (análise dos filtros UV em águas naturais) isso ainda é impossível, principalmente por duas razões: nas amostras estudadas a concentração da substância de interesse é pequena ( $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em meio a uma infinidade de outras substâncias que interferem na determinação; e, não há dispositivo analítico portátil que permita esta determinação com a confiabilidade requerida.

**Figura 7** – Fluxograma das etapas de um estudo ambiental.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2014.

No cenário atual, ainda é necessário proceder à amostragem, o tratamento da amostra e, só então, realizar a determinação instrumental do analito. Enquanto as etapas analíticas tem merecido maior cuidado, a etapa de amostragem ainda é considerada como menos importante, por parecer simples é muitas vezes negligenciada. A etapa de amostragem (Figura 8) é crucial, pois o material coletado deve representar de forma fidedigna o local amostrado e para isso, é necessário um planejamento minucioso dessa etapa, onde, se deve ter bem definido: onde amostrar, frequência de amostragem, quantidade amostrada, amostradores utilizados, logística etc. Também, cuidados devem ser tomados durante as coletas no transporte até o laboratório e, no armazenamento no laboratório, sempre para garantir a preservação da amostra coletada, evitando perdas, contaminação e degradação.

**Figura 8** – Etapas envolvidas na estratégia de amostragem.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2014.

Chegado ao laboratório, as amostras devem ser analisadas o mais rapidamente possível, entretanto, em determinadas situações, as amostras que possuem prazo de validade mais longo podem ser armazenadas em câmara fria ou geladeira até o momento do ensaio (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2011).

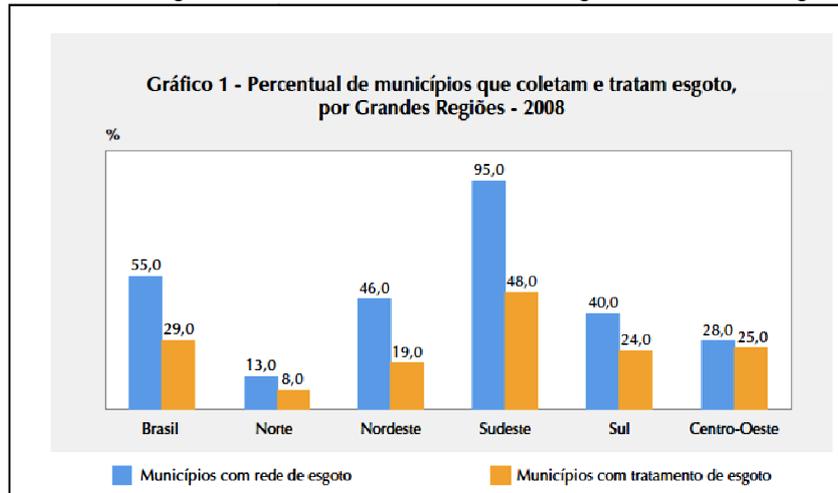
### 2.7.1 Seleção da área a ser inserida no estudo ambiental

Apesar de existirem vários trabalhos que tratam da atividade estrogênica dos filtros UV, bem como sobre a ocorrência e destino dos mesmos no ambiente (principalmente nos recursos hídricos), não encontramos na literatura trabalhos com este enfoque para o cenário brasileiro. Essas moléculas ainda são negligenciadas no Brasil, mesmo considerando o alto consumo de filtros UV, devido à alta incidência de radiação solar durante o ano todo; o precário sistema de saneamento básico brasileiro; e o fato de que uma das principais rotas de aporte destes contaminantes em águas superficiais é o lançamento de esgoto *in natura* e o lançamento de efluentes de estações de tratamento de esgoto sanitário.

A situação do Brasil torna-se crítica, pelo alto consumo nacional de cosméticos (terceiro no ranking mundial) e principalmente devido ao grande déficit de infraestrutura em saneamento. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), somente 28,5% dos municípios brasileiros coletam e tratam o esgoto doméstico, 55,2% só dispõe do serviço de coleta e em 44,8% dos municípios o esgoto não coletado é lançado diretamente em rios ou no mar (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008).

Na região Sudeste do país a situação do saneamento básico é um pouco melhor (Figura 9), mas ainda assim, apenas 48,4% dos municípios têm serviço de coleta e tratamento do esgoto, 95,1% somente coletam e em 4,9% dos municípios não há sequer o serviço de coleta (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008), fator que pode vir a contribuir na permanência dos filtros UV em água.

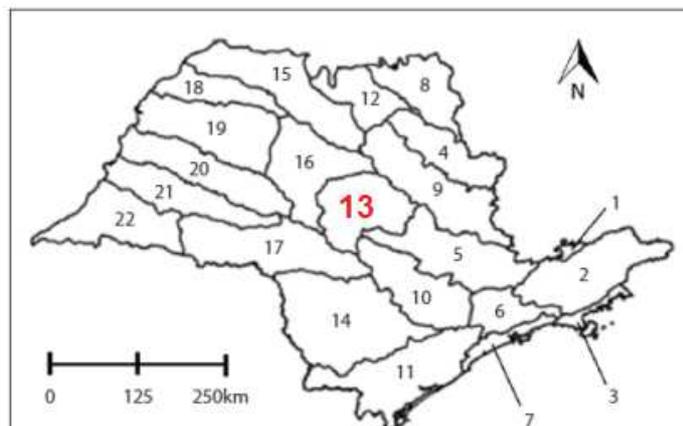
**Figura 9** – Percentagens da coleta e tratamento de esgoto do Brasil e regiões.



**Fonte:** IBGE, Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008 (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008).

Com condições mais favoráveis que o resto do país, no sudeste, o estado de São Paulo está dividido em 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI) (Figura 10). Sendo uma delas a UGRHI-13, também chamada Bacia Hidrográfica Tietê-Jacaré que é composta por 34 municípios e abriga cerca de 3,5% da população do Estado (Tabela 5), a qual foi selecionada como área de estudo por se tratar de uma região populosa na qual a coleta do esgoto doméstico é praticamente 100% embora em alguns municípios não haja tratamento do esgoto coletado. Bauru por exemplo, o município mais populoso dessa bacia trata apenas 10% do esgoto coletado (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2012).

**Figura 10** – Mapa do Estado de São Paulo segundo a divisão do território em UGRHI (numeradas de 1 a 22).



**Fonte:** CUNHA et al., 2013.

**Tabela 5** – Carga orgânica poluidora de origem doméstica dos municípios da UGRHI-13. Em negrito, os municípios inseridos nesta tese.

Município	População Total 2012	Atendimento (%)		Carga Poluidora (kg DBO/dia)	
		Coleta	Tratamento	Potencial	Remanescente
Agudos	34.833	93	0	1.797	1.797
<b>Araraquara</b>	<b>212.617</b>	<b>99</b>	<b>100</b>	<b>11.156</b>	<b>3.204</b>
Arealva	7.932	98	100	337	98
Areiópolis	10.622	100	100	510	107
Bariri	32.102	100	100	1.645	132
Barra Bonita	35.210	100	5,5	1.861	1.765
<b>Bauru</b>	<b>348.146</b>	<b>98</b>	<b>10</b>	<b>18.519</b>	<b>17.012</b>
Boa Esperança do Sul	13.807	98	100	666	144
Bocaina	11.073	100	100	551	120
Boracéia	4.348	100	100	211	25
Borebi	2.348	100	0	111	111
Brotas	21.987	99	100	1.023	213
Dois Córregos	25.100	95	100	1.283	282
Dourado	8.610	98	0	425	425
Gavião Peixoto	4.464	100	0	195	195
Iacanga	10.275	95	100	484	93
Ibaté	31.380	80	50	1.627	1.028
Ibitinga	54.146	82	0	2.808	2.808
Igaraçu do Tietê	23.475	100	100	1.260	88
Itaju	3.338	100	100	131	18
Itapuí	12.446	80	0	642	642
Itirapina	15.930	95	100	776	179
<b>Jaú</b>	<b>133.900</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>7.005</b>	<b>700</b>
Lençóis Paulista	62.393	100	1,32	3.294	3.259
Macatuba	16.336	100	100	856	103
Mineiros do Tietê	12.133	100	100	626	125
Nova Europa	9.601	100	100	481	96
Pederneiras	42.235	96	100	2.120	163
Ribeirão Bonito	12.270	96	0	613	613
<b>São Carlos</b>	<b>226.322</b>	<b>99,6</b>	<b>85</b>	<b>11.733</b>	<b>2.595</b>
São Manuel	38.614	94	100	2.035	398
Tabatinga	14.943	97,4	95	691	52
Torrinha	9.405	100	100	432	194
<b>Trabiju</b>	<b>1.569</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>78</b>	<b>16</b>
<b>UGRHI-13</b>	<b>1.503.910</b>	<b>97</b>	<b>69</b>	<b>77.982</b>	<b>38.800</b>

Fonte: Adaptado de: (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2012).

Os municípios da UGRHI-13 inseridos neste estudo foram: Araraquara, Bauru, Bueno de Andrada (distrito de Araraquara), Jaú, São Carlos, e Trabiçu os quais estão destacados no mapa da Figura 11.

**Figura 11** – Localização dos municípios, da UGRHI-13, selecionados como sítios de amostragem.



**Fonte:** Adaptado de: (GAVA et al., 2014).

Por se tratar de uma região populosa e na qual o tratamento de esgoto doméstico, apesar de apresentar a melhor condição nacional, ainda encontra-se muito longe do ideal, considera-se de grande importância a obtenção de dados sobre a ocorrência dessas substâncias na água de abastecimento, como também a eficácia na remoção pelos processos de tratamento usualmente empregados nas estações de tratamento de água. Uma vez não tratado o esgoto, ou tratado de forma ineficiente, substâncias com potencial de bioacumulação e estrogenicidade podem chegar aos pontos de captação, vindo a comprometer a qualidade da água destinada ao consumo humano.

### 3 OBJETIVOS:

Considerando que os filtros UV (BP-3, ES, EHMC e OC) estão incluídos em uma categoria recente de poluentes ambientais que podem interferir nas funções do sistema endócrino; que essas substâncias têm sido encontradas no ambiente em concentrações da ordem de  $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; sendo raros os trabalhos que discutem a dinâmica ambiental destes compostos. E ainda, levando em conta que o Brasil, por ser um país tropical, com alta incidência de irradiação solar, apresenta um alto consumo de produtos com filtros UV em sua formulação; além de ter um baixíssimo índice de tratamento de esgoto. Este trabalho tem como objetivo geral contribuir para o diagnóstico ambiental da ocorrência de interferentes endócrinos nos recursos hídricos brasileiros, destacando-se como objetivos específicos:

- ➔ Otimizar e validar um método para determinação de BP-3, ES, EHMC e OC na entrada e saída de estação de tratamento de água (ETA);
- ➔ Estudar a ocorrência das substâncias de interesse nas ETAs na região da Bacia Hidrográfica Tietê-Jacaré;
- ➔ Avaliar a remoção desses resíduos pelos processos empregados nas ETAs;
- ➔ Avaliar a influência da sazonalidade na ocorrência e remoção das substâncias;

## 4 PARTE EXPERIMENTAL

Para a execução desse trabalho, inicialmente foi realizada uma pesquisa de mercado sobre os protetores solares mais comercializados em Araraquara/SP. Dentre as substâncias encontradas com maior frequência na formulação dos protetores solares, aquelas que apresentam maior potencial estrogênico, segundo a literatura, foram selecionadas para serem estudadas (BP-3, ES, EHMC e OC) (Tabela 1). Selecionados os analitos, foram adquiridos seus respectivos padrões de alta pureza e então se deu início às otimizações cromatográficas (GC-MS e GC-MS/MS) e posteriormente às otimizações do procedimento de extração (SPE). Após definidas as condições cromatográficas e de extração foi planejada e realizada a validação do procedimento de determinação dos filtros UV em amostras de água. Por último, num período de 6 meses a 1 ano foram realizados estudos da ocorrência e eventual sazonalidade dos filtros UV em água de rio e de abastecimento público (entrada e saída das ETAs) de Araraquara, Bauru, Bueno de Andrada, Jaú, São Carlos e Trabiçu.

### 4.1 Reagentes e soluções padrão

Os filtros UV BP-3, ES, EHMC, OC, benzofenona-d10 (BP-d10, surrogate) e o padrão interno benzil cinamato (BC) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, USA) com pureza >97%. Nomes, estruturas químicas, abreviaturas, número de registro no Chemical Abstracts Service (CAS) e alguns dados físico-químicos importantes para esses compostos são apresentados na Tabela 1. Metanol (MeOH), n-hexano, diclorometano (DCM) e acetato de etila (AcOEt) foram de grau HPLC e obtidos da Mallinckrodt Baker Inc. (Paris, Kentucky, EUA). Ácido clorídrico (HCl), 37% m/v, foi adquirido da JT Baker Chemical Co. (Phillipsburg, NJ, USA) e hidróxido de sódio (NaOH) foi comprado da Merck (Darmstádio, Alemanha) para o ajuste do pH das amostras de água.

As soluções padrão de filtros UV individuais foram preparadas em acetato de etila a  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , em seguida diluiu-se com acetato de etila para o preparo das soluções estoque mistas em níveis de  $5 \text{ mg L}^{-1}$ . Estas soluções foram armazenadas ao abrigo da luz e a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Concentrações de 1 a  $2000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  foram obtidas diariamente pela diluição (v/v) da solução estoque mista. Estas soluções foram

utilizadas para a preparação das curvas analíticas, bem como para a otimização da extração. A otimização do procedimento de SPE foi efetuada utilizando amostras de água tratada (mas, não clorada) provenientes da estação de tratamento de água de Araraquara. As quais foram fortificadas com os padrões dos filtros UV (BP-3, ES, EHMC e OC) e com o surrogate (BP-d10) numa concentração de  $200 \text{ ng L}^{-1}$  (adição de  $500 \text{ }\mu\text{L}$  da solução padrão a  $200 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$  em  $500 \text{ mL}$  de água). Obtendo-se após a extração  $1 \text{ mL}$  do eluato, idealmente, na concentração de  $100 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ .

#### **4.2 Instrumentação e condições cromatográficas (otimizadas)**

As determinações foram realizadas por GC-MS/MS usando um cromatógrafo a gás (Varian GC-3800) acoplado a um espectrômetro de massas íon-trap (Saturno 2000) e equipado com injetor modelo 1079 (*split-splitless*). Na aquisição dos dados foi utilizado o software *Workstation Star 6.9.2* (Varian, EUA). As condições cromatográficas otimizadas foram: hélio como gás de arraste com vazão de  $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ , temperatura do injetor mantida a  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ , operando em condições de *splitless*, empregando uma coluna capilar de sílica fundida ( $30 \text{ m X } 0,25 \text{ mm}$ ,  $0,25 \text{ }\mu\text{m}$  de espessura do filme) ZB-5Msi (Phenomenex, Torrance, EUA). As condições de programação de temperatura do forno da coluna foram:  $60^\circ\text{C}$ , mantida por  $1 \text{ min}$ ,  $25^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $160 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $1 \text{ min}$ ),  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $300 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $2 \text{ min}$ ). A linha de transferência, o manifold e o trap foram mantidos a  $300$ ,  $50$  e  $220 \text{ }^\circ\text{C}$  respectivamente. O tempo total da corrida foi  $22,0 \text{ min}$ . Os espectros de massas (MS) foram adquiridos por ionização com impacto eletrônico a  $70 \text{ eV}$  e registrados no intervalo de  $40\text{-}400 \text{ m/z}$ . O pico base nos espectros de cada composto foi isolado, com uma janela de  $3 \text{ Da}$  e submetido a dissociação induzida por colisão (CID).

#### **4.3 Procedimento de extração em fase sólida (SPE) (otimizado)**

Os cartuchos de SPE  $200\text{mg}/6\text{mL}$  Strata X (Phenomenex, Torrance, EUA) foram condicionados, inicialmente com  $5 \text{ mL}$  do solvente usado como eluente, em seguida, com  $5 \text{ mL}$  de metanol e, finalmente, com  $5 \text{ mL}$  de água deionizada. Depois dos cartuchos condicionados, à  $500 \text{ mL}$  da amostra, em pH 3, foi adicionado o surrogate a  $200 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ . Em seguida, a amostra foi adicionada aos cartuchos com vazão de aproximadamente  $10 \text{ mL min}^{-1}$ , então,  $50 \text{ mL}$  da mistura MeOH/água 5%

(v/v) foi usada para remover possíveis analitos retidos na vidraria. A seguir, o cartucho foi mantido sob vácuo por 5 min e adicionou-se 500 µL de MeOH para facilitar a secagem. Então os analitos foram eluídos com 6 mL (3x de 2 mL) de acetato de etila. A seguir, aos eluatos foram adicionados 500 µL da solução do padrão interno a 100 µg L<sup>-1</sup> (benzil cinamato) e então foram mantidos sob fluxo suave de nitrogênio gasoso até volumes de 1 mL, os quais foram transferidos para frascos apropriados e analisados por GC-MS/MS.

Para a etapa de SPE utilizou-se um sistema de vácuo manifold da Agilent Technologies. A otimização das variáveis que afetam o procedimento de extração foi conduzida por meio de otimização multivariada fazendo uso de um planejamento experimental.

#### **4.4 Planejamento experimental e ferramentas estatísticas**

A otimização multivariada do procedimento de SPE foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa, os fatores selecionados como potencialmente significantes (pH, capacidade do cartucho de SPE, volume de eluente, tipo de eluente e percentagem do solvente de lavagem) foram estudados por um planejamento fatorial fracionário ( $2^{5-1}$ ), onde um subconjunto de todas as combinações possíveis foi utilizado. Na segunda etapa, apenas as variáveis que se mostraram significativas na primeira etapa foram estudadas. O planejamento experimental, bem como as análises dos dados obtidos, foram realizadas usando o STATISTICA<sup>®</sup> software package (version 7.0 StatSoft, Tulsa, USA).

#### **4.5 Procedimento de Validação**

Os estudos de validação foram planejados e executados tendo como referência guias e documentos orientadores, publicados nacional e/ou internacionalmente, bem como artigos publicados em anos recentes. A comprovação que o método está validado para finalidade pretendida foi feito pela verificação dos parâmetros de desempenho: seletividade, curva de resposta, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação.

## 4.6 Amostragem

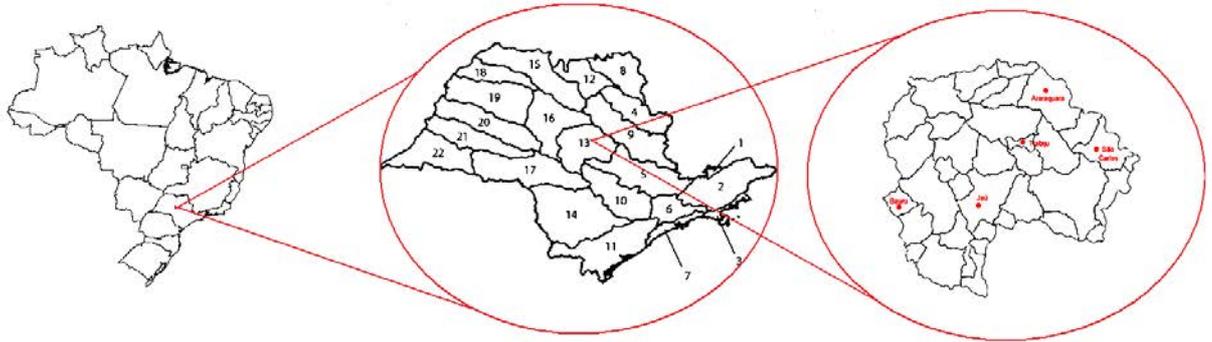
Para execução dos experimentos de otimização, validação e para as campanhas de amostragens, foram obtidas amostras de água de outubro de 2012 até fevereiro de 2014, em Estações de Tratamento de Água (ETA) integrantes da bacia hidrográfica Tiete-jacaré – UGRHI-13 (Araraquara, Bauru, Bueno de Andrada, Jau, São Carlos e Trabiju), com coletas em três pontos: na entrada da ETA, antes de qualquer tratamento – **água de rio**; após tratamento sem cloração – **água tratada** e após a cloração – **água clorada**. As campanhas de amostragem para Bauru, Bueno de Andrada, Jaú, São Carlos, e Trabiju foram efetuadas durante seis meses. Já em Araraquara a campanha se estendeu por um período de um ano para avaliar a influência da sazonalidade na ocorrência das substâncias estudadas.

Todas as amostras foram coletadas em garrafas de vidro âmbar de 4L de capacidade com tampa. Após a coleta as amostras foram transportadas até o laboratório sob refrigeração a 4°C (gelo reciclável) e protegidas da luz. No laboratório, anteriormente à extração, as amostras foram filtradas em filtro de fibra de vidro com tamanho do poro de 0,6 µm (Macherey-Nagel GF3). Então imediatamente extraídas.

### 4.6.1 Localização dos pontos amostrais

A área de estudo é a Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos -13 (UGRHI-13), localizado no sudeste do Brasil, na região central do Estado de São Paulo (Figura 12). Os municípios inseridos neste estudo foram: Araraquara, Bueno de Andrada (distrito de Araraquara), Bauru, Jaú, São Carlos e Trabiju. Todas as amostras foram tomadas dentro da própria estação de tratamento de água, exceto em Bauru, que dentro da estação não tinha ponto de coleta para um dos tipos de matriz (água de rio, ou bruta) que, dessa maneira, foi coletada diretamente no rio.

**Figura 12** – Localização da UGRHI-13 no território nacional e dos municípios selecionados como sítios de amostragem.



**Fonte:** Adaptado de: (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2008; CUNHA et al., 2013; GAVA et al., 2014).

#### 4.6.1.1 Araraquara

O município de Araraquara (Figura 13) está localizado no centro do estado de São Paulo, possui uma população de 212.617 habitantes representando cerca de 14% da população da URGHI-13 (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2012).

**Figura 13** – Localização do município de Araraquara-SP.



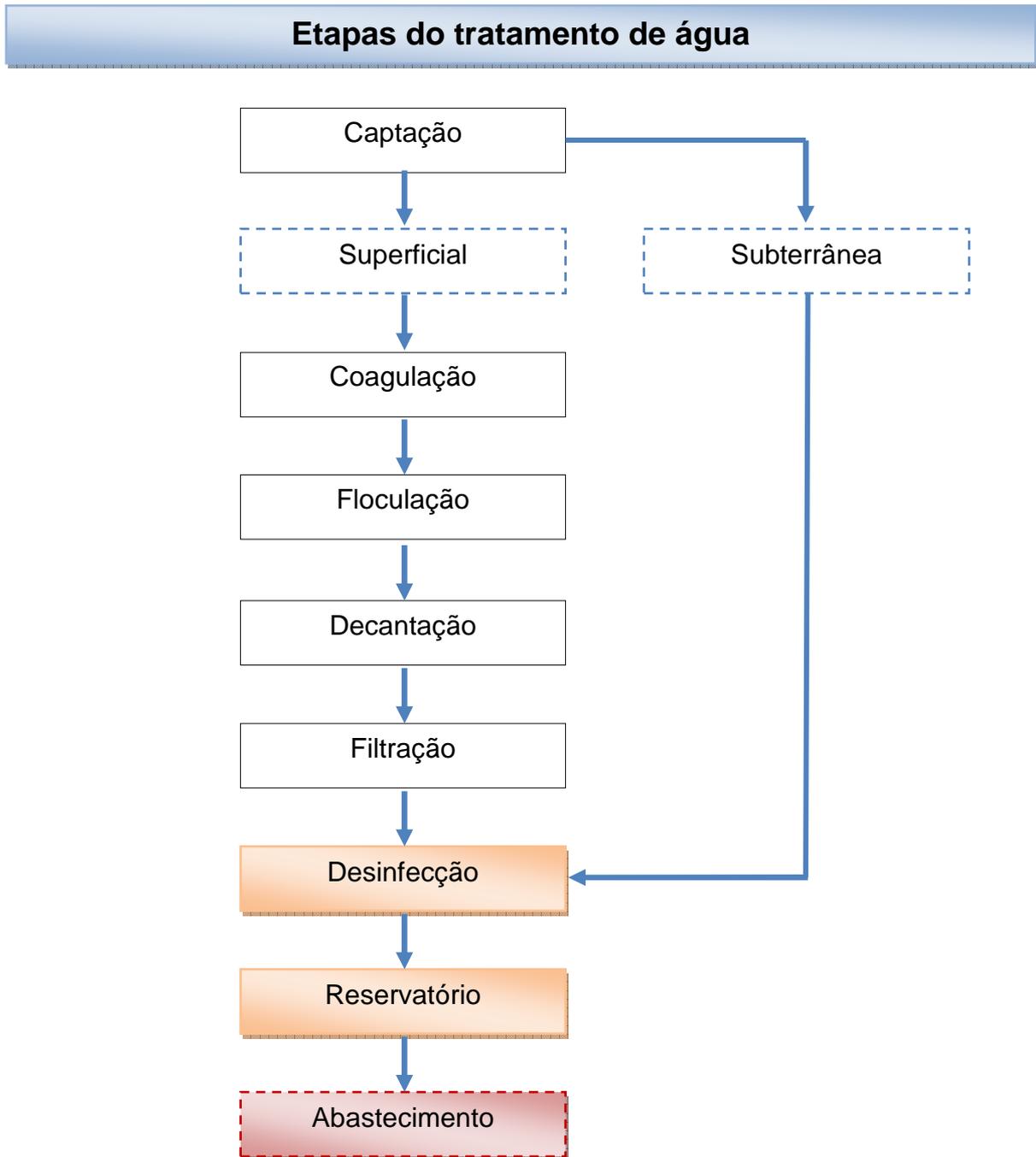
**Fonte:** ARARAQUARA, 2014.

Araraquara é abastecida por três sistemas de captação superficial e doze sistemas de captação subterrânea. O Departamento Autônomo de Água e Esgoto – DAAE é o responsável pela captação e tratamento da água de abastecimento público da cidade de Araraquara. O DAAE dispõe de duas ETAs, a ETA da Fonte

(600 L/s) e a ETA do Paiol (80 L/s). Nesse trabalho, apenas amostras da ETA da Fonte foram analisadas. Essa foi escolhida devido a sua maior representatividade no abastecimento do município (DEPARTAMENTO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO, 2014).

O sistema de abastecimento de água da ETA da Fonte conta com duas unidades de captação superficial: o Ribeirão das Cruzes e o Ribeirão Anhumas (DEPARTAMENTO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO, 2014). Os dois pontos de captação são misturados ao entrar na ETA e passam por tratamento antes da distribuição do abastecimento público. As etapas do tratamento de água são as convencionais como nos demais municípios que são: coagulação (*por meio da adição de Cloreto Férrico*), floculação (*auxiliada por agitação mecânica*), decantação (*sem agitação*), filtração (*por meio de membranas ou leitos porosos – filtros de carvão ativo, areia e cascalho*), cloração (*com cloro gasoso*) e fluoretação (*utilizado o flúor sob a forma de ácido fluossilícico*) (Figura 14). Quando utilizada a captação subterrânea, o tratamento consiste somente de desinfecção com hipoclorito de sódio/ flúor (DEPARTAMENTO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO, 2014)

**Figura 14** – Etapas convencionais do tratamento de água para abastecimento público.



**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2014. A partir de: (DEPARTAMENTO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO, 2014).

Na Figura 15 estão as fotos dos pontos de coleta da ETA de Araraquara, em a) uma visão da fachada do DAAE; b) ponto de coleta da água bruta; c) ponto de coleta de água tratada (em destaque as torneiras) e d) ponto de coleta da água clorada.

**Figura 15** – Fotos dos pontos de coleta da ETA da Fonte. a) foto da fachada da ETA b) ponto de coleta da água de rio, c) ponto de coleta da água tratada e d) ponto de coleta da água clorada.



Fonte: obtidas pelo autor

#### 4.6.1.2 *Bueno de Andrada*

Bueno de Andrada, distrito de Araraquara, possui cerca de 2.000 habitantes, o DAAE de Araraquara é o responsável pela captação e tratamento da água. O sistema de abastecimento de água desse distrito é por captação subterrânea e o tratamento da água se dá na tubulação e consiste somente de desinfecção com hipoclorito de sódio e adição de flúor.

Na Figura 16 estão as fotos dos pontos de coleta da estação de Bueno de Andrada, em a) uma visão geral da ETA à esquerda o poço e a direita o reservatório suspenso; b) ponto de coleta da água bruta, em destaque a torneira; c) dosador automático de cloro/flúor na tubulação; d) ponto de coleta da água clorada, em destaque a torneira.

**Figura 16** – Fotos dos pontos de coleta da ETA de Bueno de Andrada. a) ETA, b) ponto de coleta da água bruta e c) dosador automático d) ponto de coleta da água clorada.



Fonte: obtidas pelo autor

#### 4.6.1.3 Bauru

O município de Bauru (Figura 17) está localizado no centro do estado de São Paulo, possui uma população de 348.146 habitantes representando cerca de 23% da população da URGHI-13. Bauru é o município mais populoso dessa unidade de gerenciamento, e inacreditavelmente ainda não trata 100% dos esgotos produzidos. Segundo dados da Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (CETESB) ele trata apenas 10% dos 98% coletados (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2012).

Como em Araraquara o sistema de captação é composto por captação superficial (que recebe o tratamento convencional) e subterrânea (que recebe Desinfecção e Fluoretação). Bauru tem duas bacias hidrográficas: a bacia do Tietê-Batalha e a Bacia do Tietê-Jacaré. Na primeira está o Rio Batalha, onde Bauru capta água para 40% da população e onde se concentrou os estudos amostrais desse trabalho (DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO, 2014)

**Figura 17** – Localização do município de Bauru-SP.



**Fonte:** BAURU, 2014.

Na Figura 18 estão as fotos dos pontos de coleta da ETA de Bauru, em a) uma visão da fachada do DAE; b) ponto de coleta da água bruta, que em Bauru foi diretamente no rio; c) ponto de coleta das amostras de água tratada e clorada, em destaque as torneiras.

**Figura 18** – Fotos dos pontos de coleta da ETA de Bauru. a) foto da fachada da ETA b) ponto de coleta da água de rio, c) ponto de coleta da água tratada e da água clorada.



**Fonte:** obtidas pelo autor

#### 4.6.1.4 Jaú

Jaú (Figura 19) possui uma população de 133.900 habitantes e representa 9% da população da URGHI-13. Este município coleta e trata 100% dos esgotos gerados. (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2012).

**Figura 19** – Localização do município de Jaú-SP.



**Fonte:** JAÚ, 2014.

O sistema de abastecimento de água de Jaú é ministrado pelo serviço de água e esgoto do município de Jaú – SAEMJA, autarquia municipal. Os principais pontos de captação para o abastecimento da cidade são provenientes da represa Amadeu Botelho e da represa São Joaquim (MOURA, 2009).

Na Figura 20 estão as fotos dos pontos de coleta da ETA de Jaú, em a) uma visão da fachada da ETA; b) ponto de coleta da água bruta; c) ponto de coleta das amostras de água tratada e d) ponto de coleta das amostras de água clorada.

**Figura 20** – Fotos dos pontos de coleta da ETA de Jau. a) foto da fachada ETA b) ponto de coleta da água de rio, c) ponto de coleta da água tratada e d) ponto de coleta da água clorada.



Fonte: obtidas pelo autor

#### 4.6.1.5 São Carlos

O município de São Carlos (Figura 21) possui uma população de 226.322 habitantes representando 15% da população da URGHI-13 (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2012).

**Figura 21** – Localização do município de São Carlos-SP.



Fonte: SÃO CARLOS, 2014.

Como nos demais municípios a captação de água de São Carlos conta com mananciais de superfície e subterrâneos. Os mananciais de superfície responsáveis pelo abastecimento de água da cidade são: a captação do Feijão que capta água do Ribeirão do Feijão e a captação do Espreado, que capta água do Ribeirão Monjolinho (SERVIÇO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO DE SÃO CARLOS, 2014).

Na Figura 22 estão as fotos dos pontos de coleta da ETA de São Carlos, em a) uma visão da fachada da ETA; b) ponto de coleta da água bruta e água clorada; c) ponto de coleta da água tratada.

**Figura 22** – Fotos dos pontos de coleta da ETA de São Carlos. a) foto da fachada da ETA b) ponto de coleta da água de rio e da água clorada c) ponto de coleta da água tratada.



#### 4.6.1.6 *Trabiju*

Dos municípios selecionados para estudo Trabiju (Figura 23) é o menor, tanto em termos territoriais como em população. Ele tem uma população de apenas 1569 habitantes, representando somente 0,1% da população da URGHI-13 (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL, 2012).

**Figura 23** – Localização do município de Trabiju-SP.



**Fonte:** TRABIJU, 2014.

Como em Bueno de Andrada, distrito de Araraquara, o sistema de abastecimento de água é por captação subterrânea e o tratamento da água se dá diretamente na tubulação e consiste somente de desinfecção com hipoclorito de sódio, e adição de flúor.

Na Figura 24 estão as fotos dos pontos de coleta de Trabiju (ponto de coleta da água bruta e ponto de coleta da água clorada).

**Figura 24** – Foto dos pontos de coleta da ETA de Trabiju.



**Fonte:** obtida pelo autor

## 4.7 Lista de materiais utilizados

### 4.7.1 Reagentes e solventes

- Hidróxido de sódio Merck (Darmstádio, Alemanha)
- Ácido clorídrico (HCl, 37% m/v) JT Baker Chemical Co. (Phillipsburg, NJ, USA);
- Metanol grau HPLC Mallinckrodt Baker Inc. (Paris, KY, USA);
- Acetato de etila grau HPLC Mallinckrodt Baker Inc. (Paris, KY, USA);
- Hexano grau HPLC Mallinckrodt Baker Inc. (Paris, KY, USA);
- Diclorometano grau HPLC Mallinckrodt Baker Inc. (Paris, KY, USA);
- Isooctano grau HPLC Mallinckrodt Baker Inc. (Paris, KY, USA);
- Acetona grau HPLC Mallinckrodt Baker Inc. (Paris, KY, USA);
- Água ultrapura obtida do sistema MILLI-Q (Millipore);
- Padrões individuais dos filtros UV (BP-3, ES, EHMC, OC) com pureza >97% Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, USA);
- Surrogate (BP-d10) Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, USA);
- Padrão interno (BC) Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, USA).

### 4.7.2 Materiais e equipamentos

- Cartuchos para SPE Strata-X (Phenomenex, 200 mg / 6 mL);
- Cartuchos para SPE C18 (Sampliq Agilent, 200 mg / 6 mL);
- Membrana filtrante, poro de 0,45 $\mu$ m,  $\Phi$  13 $\pm$  0,5mm;
- Filtro de fibra de vidro com tamanho de poro de 0,6  $\mu$ m (Macherey-Nagel GF3);
- Conjunto de Filtração Sartorius;
- Manifold para SPE de 20 pontos – Agilent Technologies;
- Bomba tipo hidrovácuo MA 053 Marconi;
- Rotaevaporador;
- Balança analítica Mettler Toledo AG245 com precisão 0,01mg;
- Vidrarias comuns de laboratório de química analítica.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Limpeza da vidraria

Como era de se esperar e conforme já relatado (JEON, CHUNG e RYU, 2006), dificuldades foram verificadas na determinação de filtros UV. Como os filtros UV são ingredientes de PCPs (xampu, batom, hidratante, sabonete, protetor solar etc) a contaminação no laboratório mostrou-se relevante. Ainda, devido à natureza lipofílica desses compostos, eles são facilmente transferidos para vidraria e consumíveis. Assim, para evitar contaminação por essas vias, cuidados foram tomados com relação à limpeza da vidraria, sempre fazendo uso de luvas nitrílicas durante todo o procedimento desde a separação da vidraria e materiais a serem utilizados, passando pela amostragem e pré-tratamento da amostra até o momento da determinação instrumental.

A limpeza da vidraria consistiu na seguinte sequencia de etapas: Enxague em água corrente, imersão em solução de Extran<sup>MR</sup> 5% (por 12 h), enxágue em água corrente, enxágue com água destilada, leve enxágue com acetona e secagem na estufa com temperatura de aproximadamente 100 °C. Já a vidraria volumétrica foi seca ao ar. Após secagem, foi feita a proteção das extremidades da vidraria com papel alumínio e guardadas em armários separados, para que fossem somente utilizadas na análise dos filtros UV.

### 5.2 Condições cromatográficas

Os filtros UV são encontrados em águas naturais na faixa de ng L<sup>-1</sup> a µg L<sup>-1</sup>. Dessa forma, poucos métodos analíticos apresentam sensibilidade suficiente para sua determinação e a maioria dos trabalhos é limitada às técnicas cromatográficas. A decisão em usar a técnica de análise por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) foi baseada nas propriedades físico-químicas dos analitos alvo (Tabela 1). Como estas substâncias tem caráter mais apolar e são volatilizáveis, a cromatografia a gás mostrou-se apropriada e vantajosa para análise dos filtros UV, devido sua simplicidade, detectabilidade e menor custo em relação à LC-MS.

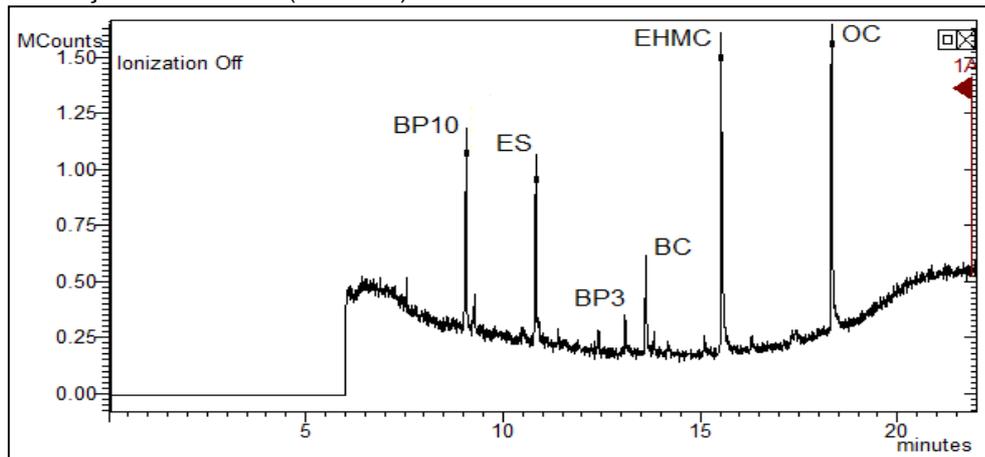
Selecionada a técnica a ser utilizada na determinação e quantificação dos analitos de interesse. Iniciaram-se os estudos das otimizações cromatográficas. As condições foram otimizadas para obtenção de separações satisfatórias com tempo de análise reduzido. Com as condições cromatográficas já otimizadas (Tabela 6) o tempo total da corrida foi 22,0 min (Figura 25). Entretanto, sendo o objetivo desse trabalho a análise de filtros UV em concentrações muito baixas ( $\text{ng L}^{-1}$  a baixos  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em amostras de água tratada e bruta (matrizes complexas). Mostrou-se sensato o uso de técnica analítica que favorecesse não só a detectabilidade como também a seletividade.

**Tabela 6:** Condições cromatográficas otimizadas

<b>GC</b>	<b>(VARIAN) – CP-3800</b>
Injetor	1079 (split-splitless)
Volume de injeção ( $\mu\text{L}$ )	1,0
Temperatura do injetor ( $^{\circ}\text{C}$ )	300
Modo de injeção	Splitless
Gás de arraste/ $\text{mL min}^{-1}$	Hélio/1,2
Coluna	ZB-5Msi (5% fenil–95% metilpolisiloxano) 30m x 0,25mm x 0,25 $\mu\text{m}$ .
Programação de temperatura	60 $^{\circ}\text{C}$ (1 min), 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 160 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ até 300 $^{\circ}\text{C}$ (2 min).
<b>Detector</b>	<b>MS (Varian Saturn 2000)</b>
Temperatura linha de transferência ( $^{\circ}\text{C}$ )	300
Temperatura manifold ( $^{\circ}\text{C}$ )	50
Temperatura trap ( $^{\circ}\text{C}$ )	220
Modo de operação	scan (40-400 $m/z$ )
Modo de ionização	Impacto eletrônico (70 eV)

**Fonte:** obtidas pelo autor

**Figura 25** – Cromatograma (TIC) para a solução mista dos filtros UV em acetato de etila a  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ , usando as condições otimizadas (Tabela 6)



**Fonte:** obtido pelo autor

Neste sentido, mostrou-se vantajoso o emprego da cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas com dupla ionização (*tandem mass spectrometry*, MS/MS), uma vez que por MS/MS é possível obter uma grande quantidade de informação estrutural acerca do analito, o que assegura sua identificação com maior confiabilidade, mesmo quando existem compostos que não podem ser totalmente separados pela técnica cromatográfica empregada ou quando o interferente coeluiu com o analito, usando dupla ionização é possível detectá-los individualmente se possuírem diferentes massas molares ou gerarem diferentes espectros de massas (VEKEY, 2001; CHIARADIA, COLLINS e JARDIM, 2008). Diante dessas vantagens, e ainda, levando em consideração que está disponível no laboratório, deste grupo de pesquisa, equipamento com analisador de massas “íon trap” o qual apresenta a versatilidade de operar no modo MS e também no MS/MS dispensando maiores investimentos na parte instrumental, o método GC-MS/MS foi empregado.

No desenvolvimento do método, GC-MS/MS, tomou-se como ponto de partida o cromatograma no modo de varredura (*full scan*) (com as condições cromatográficas já otimizadas), do qual foram obtidos os segmentos referentes ao tempo de retenção de cada analito, bem como seus respectivos espectros (Figura 26). A partir desses espectros foram selecionados os íons precursores para cada um dos analitos (Tabela 7). No geral, o íon precursor foi escolhido objetivando alcançar um compromisso entre seletividade (mais alta  $m/z$  do íon) e detectabilidade (o íon de maior intensidade) (FRIAS et al., 2001).



**Tabela 7** – Condições otimizadas para as análises com dupla fragmentação por GC-MS/MS.

Analito	Segmento de tempo (min)	Intervalo (m/z)	Íon precursor (m/z)	Nível de excitação para armazenamento (m/z)	Amplitude de excitação (V)	Íons produto (m/z)
BP-d10 <sup>a</sup>	8 – 10	158 – 193	192,0	84,5	1,10	162,1; <b>190,1</b>
ES	10 – 12	91 – 121	120,0	52,7	0,60	<b>91,9</b> ; 121,0
BP-3	12 – 13,5	181 – 228	227,2	100,0	0,85	<b>184,0</b> ; <b>212,0</b>
BC <sup>b</sup>	13,5 – 14	75 – 194	193,1	85,0	0,40	114,9; <b>192,0</b>
EHMC (Z) <sup>c</sup>	14 – 15	120 – 179	178,3	78,3	0,70	121,0; <b>132,9</b> ; <b>160,8</b>
EHMC (E) <sup>c</sup>	15 – 17					
OC	17 – 19	247 – 251	250,2	110,2	0,76	<b>248,1</b> ; 249,1

a – surrogate; b – padrão interno e Negrito – íons de quantificação; c – O composto EHMC consiste em isômeros geométrico (Z) e (E). O padrão comercial de EHMC consiste em 99% de (E)-isômero. Após exposição à luz, ocorre rápida isomerização fotoquímica para (Z) e (E)-isômeros.

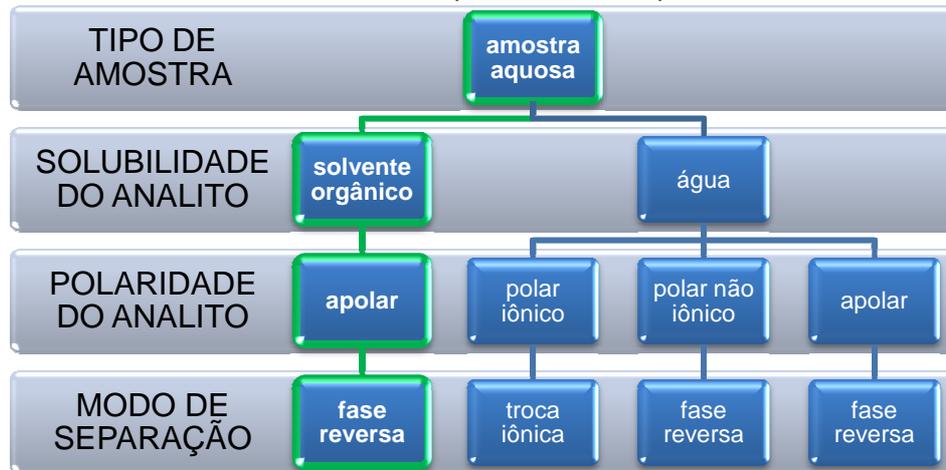
Fonte: obtidas pelo autor

### 5.3 Procedimento de extração

Depois de escolhidas as melhores condições cromatográficas de análise e desenvolvido o método GC-MS/MS, iniciaram-se os estudos das possíveis formas para a extração e pré-concentração desses analitos das amostras de água. Dentre os procedimentos descritos na literatura, para extração e pré-concentração dos filtros UV, tem se destacado o uso da SPE devido a grande disponibilidade comercial das fases extratoras, bem como, sua eficiência em tal procedimento de pré-tratamento e pré-concentração. A técnica de SPE foi então o procedimento selecionado para ser utilizado na etapa de extração e pré-concentração dos analitos de interesse das amostras estudadas.

Levando em consideração o caráter apolar ( $\log$  de  $K_{ow}$  maior que 3) dos filtros UV em estudo, pode-se direcionar a escolha da fase extratora e modo de operação utilizado no procedimento de SPE. Além do analito alvo, a escolha da fase extratora também levou em consideração a natureza da amostra onde o analito se encontrará. Na Figura 27, é esquematizado um fluxograma que mostra as principais etapas envolvidas na seleção da fase sólida apropriada na extração de determinados analitos de amostras aquosas. A parte destacada em verde, contém as etapas envolvidas na escolha do mecanismo de SPE para os filtros UV (BP-3, ES, EHMC e OC). Esses analitos, preferencialmente solúveis em solventes orgânicos e apolares, devem ser extraídos de amostras aquosas, com a fase extratora operando no modo de fase reversa.

**Figura 27** – Escolha do mecanismo de SPE para amostras aquosas.



**Fonte:** Adaptado de (THURMAN e MILLS, 1998).

Dentre as principais fases que atuam como fases reversas podem ser citadas n-aqilsilica ( $C_8$  e  $C_{18}$ , são as mais utilizadas) e fases poliméricas. Ambas têm sido utilizadas na extração de filtros UV de amostras aquosas em trabalhos publicados na literatura. Nesse trabalho, para a seleção da fase extratora foram realizados testes de recuperação com água subterrânea (encanadas para o laboratório). Para esses estudos foram testadas fases n-aqilsilica ( $C_{18}$ ) e poliméricas (Strata X), desses testes (resultados não mostrados) verificou-se que melhores recuperações (porém ainda não satisfatórias) foram obtidas quando a fase polimérica foi utilizada. Dessa forma, o Strata-X foi o sorbente selecionado como mais adequado para extração e pré-concentração dos analitos de interesse.

A melhor extração por Strata-X deve-se provavelmente ao fato da retenção dos filtros UV em  $C_{18}$  ser dificultada, pois mesmo esses analitos apresentando caráter lipofílico, a presença de grupos fenólicos nas suas moléculas pode conferir a eles certa solubilidade em água minimizando assim sua interação com a fase extratora (NEGREIRA et al, 2009a). Já nas fases poliméricas, o material usado (estirenodivinilbenzeno) retém compostos hidrofóbicos que contêm alguma funcionalidade hidrofílica, especialmente aromáticos (GUIDE, 1998). Isso porque, sorbentes poliméricos, geralmente apresentam grande área superficial o que faz aumentar a capacidade de extração do sorbente para compostos orgânicos. Além disso, os anéis aromáticos dos copolímeros existentes no sorbente permitem interações  $\pi$ - $\pi$  que pode ainda aumentar interações analito – sorbente, que potencializa a energia de sorção. Assim, os sorbentes poliméricos são mais

eficientes na extração dos filtros UV que os alquílicos, como o C<sub>18</sub> (THURMAN e MILLS, 1998).

Contudo, mesmo apresentando melhores recuperações que C<sub>18</sub> as recuperações encontradas com Strata-X, como dito, ainda não estavam dentro da faixa ideal (70 – 120%) (EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL, 2013). Dessa forma, objetivando maximizar a resposta no sistema cromatográfico e concomitantemente obtenção de recuperações dos filtros UV dentro da faixa aceitável, as variáveis envolvidas no procedimento de SPE foram reunidas (Tabela 8) para, então, poder decidir como ajustá-las para obter a melhor resposta. Como algumas dessas variáveis não são controláveis, apenas um subconjunto delas foi selecionado (Tabela 8, coluna b) para este ajuste fino (EIRAS et al., 2000). As variáveis não selecionadas foram mantidas constantes.

Uma vez identificadas as variáveis que possivelmente afetam a resposta (área dos picos) do sistema cromatográfico deu-se início a otimização do procedimento SPE. Embora, a otimização univariada seja a mais comum e ainda a mais utilizada em química analítica, nesse trabalho leva-se em consideração todos os fatores selecionados ao mesmo tempo (otimização multivariada), o que é mais rápido e ainda, as interpretações desse modo de otimização leva a conclusões mais fidedignas. Já que, as variáveis em questão podem não ser totalmente independentes, e se avaliadas em conjunto podem ser considerados os possíveis efeitos sinérgicos e/ou antagônicos.

Um inconveniente da otimização multivariável é o grande número de experimentos que são necessários com a adição de cada fator. Diante disso, ao aplicar metodologias de otimização multivariável, é aconselhável manter o número de variáveis tão baixo quanto possível a fim de evitar os modelos de resposta muito complexos e de grande variabilidade (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Uma alternativa para minimizar o número de experimentos, é usar planejamentos fatoriais fracionários (PFF), opção usada nesse trabalho. Os 32 experimentos necessários para otimizar o procedimento de extração com cinco variáveis em um planejamento fatorial completo (PFC), foram reduzidos para 16 experimentos por meio da execução do PFF. O PFF resulta em um menor número de experimentos e, mesmo assim, é capaz de identificar a influência de cada parâmetro bem como interações de primeira ordem entre eles (FERREIRÓS *et al*,

2006). Quanto às interações de ordens superiores, aqui, foi adotado o pressuposto de que essas interações são negligenciáveis (PASSEPORT *et al*, 2010).

**Tabela 8** – Variáveis envolvidas no procedimento de SPE dos filtros UV.

Variável	Variáveis selecionadas	Observações
Tipo de fase extratora		Conforme relatado anteriormente, fases poliméricas apresentaram melhores resultados na extração desses analitos e foram selecionadas para extração dos analitos alvo.
Pré-filtração da amostra		Como, amostras de ETA (água bruta e tratada) serão estudadas, a pré-filtração mostra-se uma etapa necessária.
pH	X	O pH é provavelmente um fator determinante no procedimento de extração, e o melhor valor foi determinado experimentalmente.
Equilíbrio		O equilíbrio foi feito com água deionizada.
Capacidade do cartucho	X	A capacidade do cartucho foi investigada fortificando os volumes de amostra com 500µL da solução padrão mista a 200 µg L <sup>-1</sup> .
Vazão da amostra		A vazão da amostra foi mantida constante a ≈ 10 mL min <sup>-1</sup>
Tempo de secagem da fase		Após passagem da amostra, a fase extratora foi seca, sob vácuo, por 5 min.
Solvente de secagem da fase		Inicialmente não foi utilizado solvente para secagem, visto que o extrato será completamente seco e então resuspendido no solvente de injeção adequado.
Solvente de lavagem	X	Com a finalidade de remover, antes da eluição, interferências que também possam ter ficado retidas na fase sólida, avaliou-se o desempenho do uso de metanol:água nesta etapa, a 0,5 e 10%
Tipo de eluente	X	A escolha do solvente de eluição é dependente dos analitos, inferindo-se que seja um dos fatores mais importantes no sucesso da SPE
Volume do eluente	X	Assim como o tipo de eluente, o volume de eluente é também provavelmente significativo na recuperação dos filtros UV das amostras aquosas.
Vazão do eluente		Para que o analito adsorvido pelo cartucho seja completamente desorvido pelo eluente, é necessário que a vazão do eluente seja lenta o suficiente para a quebra das interações entre o analito e a fase sólida. A vazão foi mantida a ≈ 2 mL min <sup>-1</sup> .
Evaporação do eluato		Inicialmente o eluato foi evaporado a secura completa a temperatura ambiente sob fluxo de N <sub>2</sub> gasoso.

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2014.

A otimização multivariada do procedimento de SPE dos filtros UV foi planejada para ser realizada em duas etapas. Na primeira etapa, os fatores selecionados como possivelmente significativos (pH, capacidade do cartucho, tipo de solvente, volume de solvente e solvente de lavagem) foram rastreados por meio do PFF, onde experimentos de um subconjunto de todas as combinações possíveis foram realizados. Na segunda etapa, a partir das respostas dos experimentos do PFF, pode-se selecionar a configuração desses fatores que indicou aumento na recuperação dos analitos e, um novo estudo foi realizado variando somente aquelas variáveis que se mostraram significativas na primeira etapa.

Antes de detalhar a execução do PFF, o detalhamento de alguns procedimentos mostrou-se necessário para melhor entendimento da extração como um todo. Os primeiros esclarecimentos referem-se aos cuidados tomados quanto ao processo de secagem dos extratos. Isso porque, em experimentos iniciais, os eluatos eram secos completamente e então ressuspensos no padrão interno (BC). No entanto, nesses testes, foi verificado que a secagem completa dos eluatos provocava perdas bastante pronunciadas nos compostos em estudo, especialmente ao BP-d10 e ES. O que provavelmente também foi motivo de expressivos coeficientes de variação (122, 88, 81, 27 e 41% para BP-d10, ES, BP-3, EHMC e OC, respectivamente) encontrados para esses experimentos com secagem completa dos eluatos.

Após várias análises e reanálise dos dados, ocorreu a suspeita da causa dos CVs tão grande para esses testes ser proveniente da perda desses compostos durante o processo de secagem completa. Então, foram realizados testes com solução padrão a  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , injetando diretamente e injetando após secagem completa e ressuspensão no solvente de injeção (Tabela 9).

**Tabela 9** – Áreas obtidas por meio de injeções *com* e *sem* secagem da solução padrão mista de filtros UV em isooctano. E seus respectivos coeficientes de variação (CV).

	<b>BP-d10</b>	<b>ES</b>	<b>BP-3</b>	<b>EHMC</b>	<b>OC</b>	<b>BC</b>
Seco 1	3456	5871	3410	11545	9204	3228
Seco 2	378	4318	3084	12360	10146	3338
Seco 3	855	4891	3084	11328	9287	2915
<b>CV (%)</b>	<b>106</b>	<b>16</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>7</b>
Direto 1	11582	11673	4254	13155	11418	3580
Direto 2	11245	10513	3778	11606	9716	3300
Direto 3	10965	9678	3522	10807	8916	3318
<b>CV (%)</b>	<b>3</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>13</b>	<b>5</b>

**Fonte:** obtidas pelo autor.

Desses testes (Tabela 9), pode-se observar que para BP-d10 e ES o procedimento de secagem completa provoca sérias perdas, o que provavelmente também é motivo dos tão expressivos CVs. Então, na tentativa de mitigar esses inconvenientes, testes com secagem completa com nitrogênio, secagem completa usando evaporador rotatório e secagem parcial até 1 mL foram realizados. Destes testes, obtiveram-se os resultados mostrados na Tabela 10. Dos quais, pode-se concluir que a secagem completa é inapropriada devido as grandes perdas, e que a

secagem parcial parece ser uma solução viável para minimizar tais perdas. Diante disso, desse ponto em diante, os eluatos foram apenas parcialmente secos, e a seguir avolumados até 1 mL (para isso foram utilizados balões volumétricos de 1mL).

**Tabela 10** – Áreas obtidas para os filtros UV após testes de secagem (avolumando por fluxo suave de N<sub>2</sub>, secando completamente por rota evaporador e secando completamente por fluxo suave de N<sub>2</sub>). E seus respectivos CVs.

	<b>BP-d10</b>	<b>ES</b>	<b>BP-3</b>	<b>EHMC</b>	<b>OC</b>	<b>BC</b>
Avolumado 1	8010	11660	7593	-----	8990	5042
Avolumado 2	7521	9874	6508	7057	7779	4987
Avolumado 3	7546	9414	5819	6435	6867	4848
<b>CV (%)</b>	<b>3,6</b>	<b>11,5</b>	<b>13,5</b>	<b>6,5</b>	<b>13,5</b>	<b>2,0</b>
Rota 1	3232	4838	3374	3871	4062	2888
Rota 2	3872	6678	5605	6142	5871	3790
Rota 3	2520	4904	3597	5039	5027	3380
<b>CV (%)</b>	<b>21,1</b>	<b>19,1</b>	<b>29,3</b>	<b>22,6</b>	<b>18,2</b>	<b>13,5</b>
Seco 1	1273	4140	3846	4882	4175	3271
Seco 2	2249	4519	3682	5255	4822	3547
Seco 3	1887	4353	3919	5098	4762	3609
<b>CV (%)</b>	<b>27,4</b>	<b>4,4</b>	<b>3,2</b>	<b>3,7</b>	<b>7,8</b>	<b>5,2</b>

**Fonte:** obtidas pelo autor.

Entretanto, quando se opta por apenas avolumar o eluato, deve ser considerada a necessidade de secagem da fase extratora antes da eluição. Pois, quando os extratos não são secos completamente resquícios de água podem ficar retido na fase. Caso isso ocorra, a água retida poderá ser arrastada pelo eluente e os eluatos contendo água, não poderão ser injetados diretamente no sistema GC-MS/MS, pois isso certamente irá afetar a vida útil da coluna e do filamento de tungstênio da fonte de ionização do MS.

Sendo assim, para certificação da secagem da fase extratora, solvente orgânico foi usado após a passagem da amostra de água. O solvente utilizado para esse propósito foi o metanol que é miscível em água (THURMAN e MILLS, 1998). O volume de metanol usado foi o menor quanto possível, visto que, grandes volumes poderiam remover além da água também os analitos de interesse. Então, foram testado volume de 250 µL, o qual não foi suficiente para remover toda a água retida pela fase sólida. Em seguida, um volume maior (500 µL) foi avaliado, o qual se

mostrou suficiente para remover todos e quaisquer resquícios de água. Então esse volume foi fixado como suficiente para secagem da fase.

Adicionalmente aos cuidados de secagem, foram tomadas precauções para se obter informações fidedignas do planejamento fatorial. A primeira foi a necessidade de fazer repetições do ponto central (Tabela 11 – experimentos 17C, 18C e 19C), para poder estimar o erro experimental. Outro fator foi executar os experimentos em uma ordem aleatória (ordem de execução mostrada na Tabela 11), isso para evitar possíveis efeitos de memória do sistema analítico, bem como evitar distorções estatísticas que pudessem vir a comprometer a qualidade dos resultados obtidos (EIRAS et al., 2000).

Levando em consideração todas estas abordagens e tomadas às devidas precauções, a execução das etapas do procedimento de extração procederam da seguinte maneira. Na primeira etapa, o PFF  $2^{5-1}$  (Tabela 11) foi realizado com a adição de três pontos centrais. Ou seja, cinco variáveis foram estudadas em dois níveis (nível superior e nível inferior), resultando em 16 experimentos, mais três como pontos centrais (pontos médios entre o nível superior e inferior). Isto conduziu a um total de 19 experimentos, os quais foram realizados em um mesmo dia. Para execução desses 19 experimentos, amostras de água, foram obtidas na ETA de Araraquara.

Depois de realizados os experimentos do PFF e calculadas as recuperações para cada analito em cada experimento (resultados mostrados na Tabela 12), foi calculada a resposta normalizada ( $R_n$ ) das recuperações obtidas para cada um dos 19 experimentos do PFF. Para o cálculo foi empregada a equação 8 (GAUJAC et al., 2008).

$$R_n = \sum \frac{R_x}{R_{x(\max)}} \quad \text{Eq.: 8}$$

onde:  $x$  corresponde aos analitos (BP-d10, ES, BP-3, EHMC e OC);  $R_x$  é a recuperação obtida para o composto  $x$ ;  $R_{x(\max)}$  corresponde a recuperação máxima, obtida para o composto  $x$ , de todos 19 experimentos do planejamento fracionário executado.

**Tabela 11** – Variáveis e níveis estudados por PFF 2<sup>5-1</sup> na otimização do procedimento de SPE.

Variáveis		Níveis selecionados		
		baixo	alto	médio
pH		2	6	4
Capacidade do cartucho (mL)		200	500	350
Tipo de eluente		AcOEt	AcOEt/n-hexano 50/50%	AcOEt/n- hexano 75/25%
Volume do eluente (mL)		3X de 2	3X de 6	3X de 4
% de metanol na lavagem		0	10	5

Combinações					
Experimento Ordem de execução	pH	Capacidade do cartucho (mL)	Volume do eluente (mL)	Tipo de eluente	% de metanol na lavagem
6	2	500	3X de 2	AcOEt/n-hexano 50/50%	10
11	6	200	3X de 6	AcOEt	10
5	2	500	3X de 2	AcOEt	0
14	6	500	3X de 2	AcOEt /n-hexano 50/50%	0
19 (C)	4	350	3X de 4	AcOEt /n-hexano 75/25%	5
1	2	200	3X de 2	AcOEt	10
18 (C)	4	350	3X de 4	AcOEt /n-hexano 75/25%	5
2	2	200	3X de 2	AcOEt /n-hexano 50/50%	0
12	6	200	3X de 6	AcOEt /n-hexano 50/50%	0
3	2	200	3X de 6	AcOEt	0
13	6	500	3X de 2	AcOEt	10
15	6	500	3X de 6	AcOEt	0
8	2	500	3X de 6	AcOEt /n-hexano 50/50%	0
9	6	200	3X de 2	AcOEt	0
17 (C)	4	350	3X de 4	AcOEt /n-hexano 75/25%	5
4	2	200	3X de 6	AcOEt /n-hexano 50/50%	10
10	6	200	3X de 2	AcOEt /n-hexano 50/50%	10
7	2	500	3X de 6	AcOEt	10
16	6	500	3X de 6	AcOEt /n-hexano 50/50%	10

\*Em todos os experimentos, o volume de solução de fortificação adicionado foi 500 µL a uma concentração de 200 µg L<sup>-1</sup>.

**Fonte:** obtidas pelo autor.

**Tabela 12** – Recuperações (expressas como porcentagem) obtidas para os filtros UV após SPE dos testes de Planejamento experimental e a resposta normalizada para cada um desses experimentos.

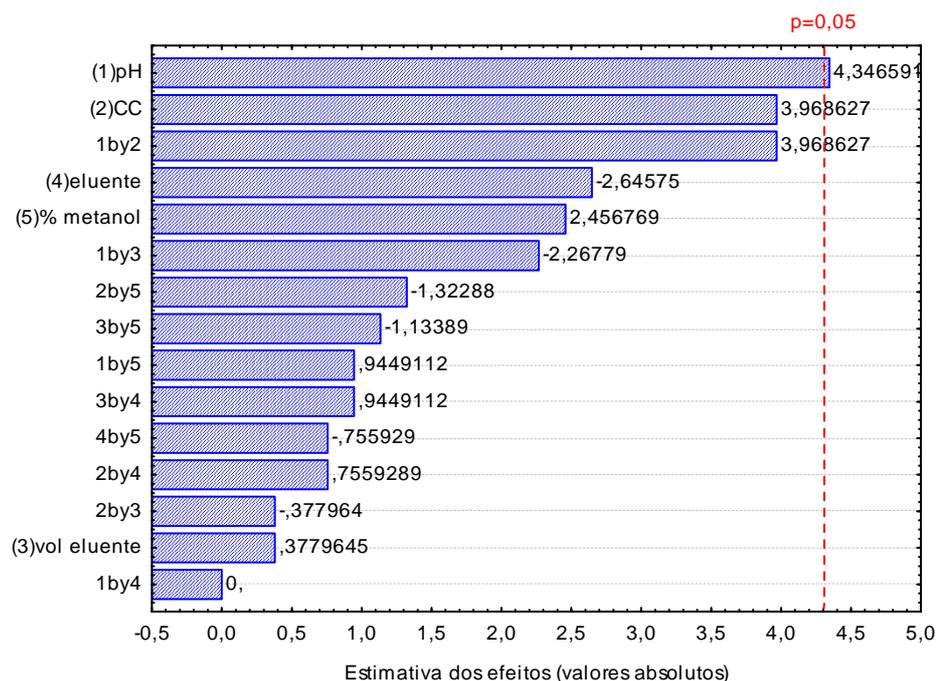
Experimento	BP-d10	ES	BP-3	EHMC	OC	Resposta normalizada*
1	128	85	4	29	35	3,1
2	100	42	2	16	27	2,0
3	123	62	4	24	46	2,9
4	109	66	20	18	38	2,8
5	110	54	5	26	37	2,6
6	100	48	3	25	35	2,4
7	101	75	29	25	32	2,9
8	101	64	4	17	56	2,9
9	98	36	75	22	23	2,7
10	96	55	65	30	25	2,9
11	105	68	5	38	45	3,1
12	91	47	3	32	30	2,3
13	123	72	101	57	40	4,4
14	116	66	5	63	50	3,6
15	102	61	90	33	37	3,6
16	99	73	76	34	40	3,6
17 C	98	42	4	33	27	2,3
18 C	91	66	5	37	32	2,7
19C	103	71	47	12	30	2,8

\*Resposta normalizada obtida por meio da Eq 8.

**Fonte:** obtidas pelo autor.

A partir das respostas normalizadas das recuperações, foi plotado o gráfico de Pareto (Figura 28). A interpretação desse gráfico é que o tamanho de cada barra é proporcional ao efeito estimado da variável ou de suas interações. A linha vertical (pontilhada vermelha) corresponde ao intervalo de confiança de 95%. As barras horizontais que ultrapassa a linha vermelha pontilhada são aquelas variáveis que se mostraram significativas no procedimento. Então pela interpretação do gráfico verifica-se que apenas o pH mostrou-se significativo e que as outras variáveis e suas interações não se mostraram significativas para o procedimento de extração.

**Figura 28** – Gráfico de Pareto para as respostas normalizadas.



**Fonte:** obtido pelo autor.

Como na primeira etapa do procedimento de otimização apenas o pH mostrou-se significativo, apenas ele foi estudado na segunda etapa. As demais variáveis como elas não se mostraram significativas, foram mantidas constantes em: capacidade do cartucho – 500 mL (para obter um maior fator de pré-concentração), o tipo de eluyente – AcOEt (por maior simplicidade), lavagem – com MeOH a 10 % (para retirar maior quantidade de impurezas) e volume de solvente de eluição – 3X de 2 mL (para poupar tempo, e reduzir gastos). No estudo do pH, foram avaliados os valores de pH 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9.

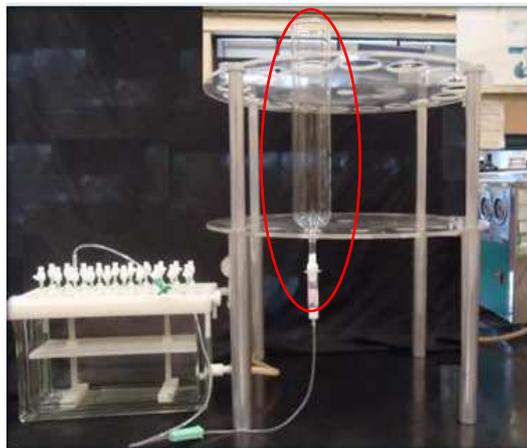
Os resultados do estudo de pH estão mostrados na Tabela 13, por ela pode-se perceber que o pH 3 foi o que apresentou as melhores recuperações para todos os analitos. Isso provavelmente se deve ao fato de que em valores de pH maiores, as moléculas estão na forma ionizada e dessa forma sua retenção pela fase sólida é prejudicada. Já em pH ácido, com redução da carga iônica, melhores recuperações são obtidas (GIOKAS, SAKKAS e ALBANIS, 2004).

**Tabela 13** – Valores de pH estudados na otimização da extração e as respectivas recuperações (%).

	BP-d10	ES	BP-3	EHMC	OC
pH3	113	74	105	53	51
pH4	96	60	106	51	44
pH5	108	61	118	62	45
pH6	100	62	118	54	48
pH7	102	53	115	37	30
pH8	104	40	9	42	41
pH9	104	44	6	50	56

**Fonte:** obtidas pelo autor.

Ainda na Tabela 13, pode-se perceber que os dois últimos analitos (EHMC e OC) não apresentam recuperações satisfatórias em nenhum valor de pH. A suspeita era que eles, por serem mais lipofílicos, estavam sendo adsorvidos nos frascos de vidro (Figura 29), utilizados como reservatório para acondicionar a amostra durante a extração. Essa hipótese foi avaliada e confirmada (Tabela 14). Na tabela, estão as recuperações obtidas para os testes usando os frascos de vidro como reservatório e as recuperações quando os reservatórios não são utilizados, quando as amostras são transferidas diretamente para o cartucho.

**Figura 29** – Sistema utilizado para realizar várias extrações simultaneamente. Em destaque o reservatório para acondicionar a amostra.

**Fonte:** Elaborado pelo autor, 2014.

**Tabela 14** – Recuperações médias (%) obtidas na avaliação da perda dos filtros UV no reservatório da amostra.

	BP-d10	ES	BP-3	EHMC	OC
Com reservatório	117	58	119	50	46
Sem reservatório	106	58	112	71	82

**Fonte:** obtidas pelo autor

Levando em consideração que a transferência direta para o cartucho é inviável devido ao grande número de amostras realizada por vez, e diante da necessidade de minimizar as perdas do EHMC e OC, após passagem da amostra, os frascos foram lavados com 50 mL de solução de MeOH a 5% em água deionizada (LIU et al., 2011). Resultados obtidos para esse teste estão na Tabela 15.

**Tabela 15** – Recuperações médias (%) obtidas na avaliação da lavagem dos reservatórios da amostra.

	BP-d10	ES	BP-3	EHMC	OC
Sem lavagem	97	65	102	64	65
Com lavagem	103	68	111	70	68

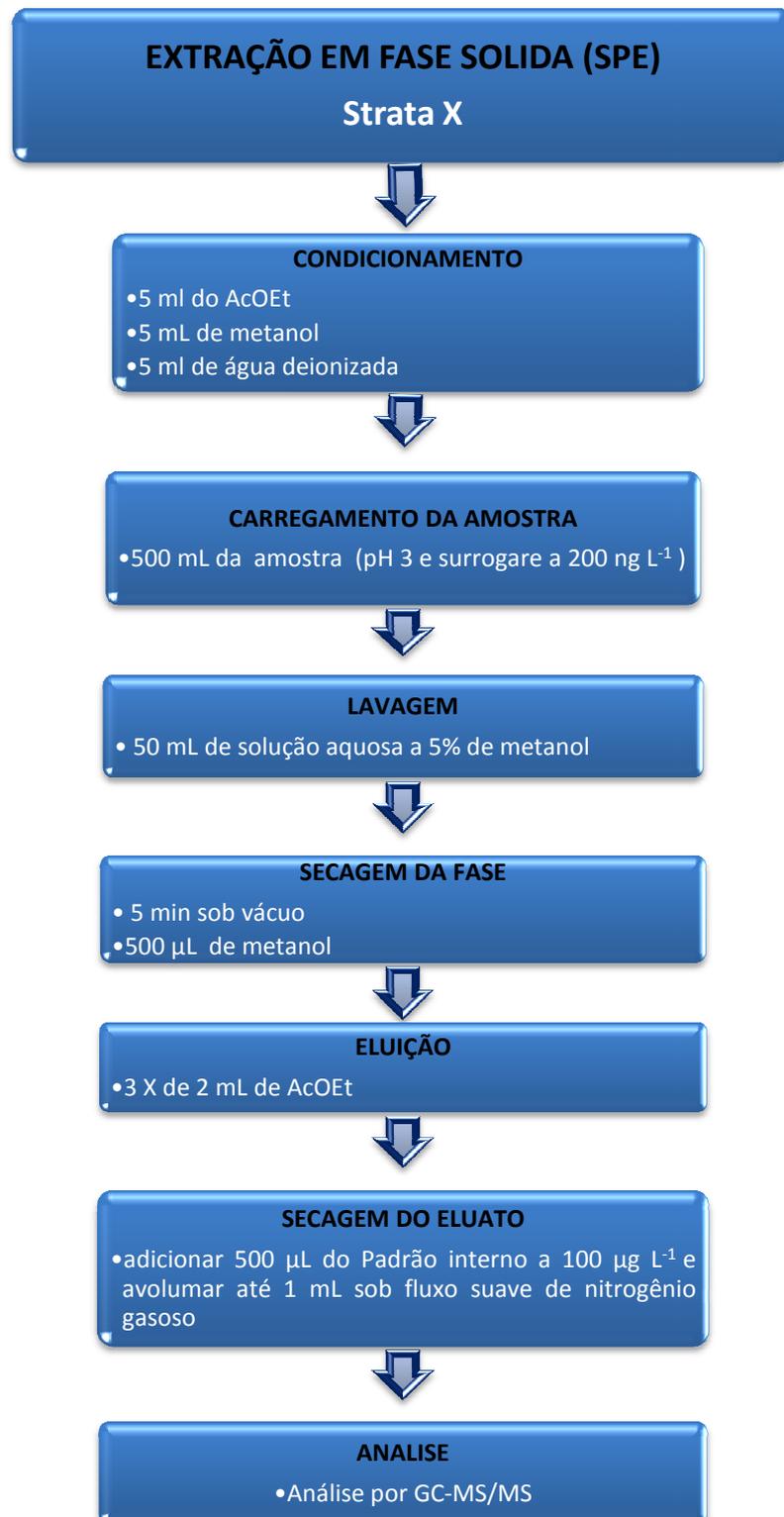
**Fonte:** obtidas pelo autor.

Tomada essa medida, as recuperações obtidas para EHMC e OC melhoram um pouco sem prejudicar as obtidas para os analitos mais polares. Com essas recuperações, deu-se o procedimento como otimizado (fluxograma do passo a passo do procedimento de SPE otimizado esquematizado na Figura 30).

Utilizando os procedimentos cromatográficos e de extração otimizados (Tabela 6 Tabela 7 e Figura 30) obteve-se o cromatograma da Figura 31. O cromatograma foi obtido no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) após o procedimento de SPE e GC-MS-MS da amostra de água (tratada), obtida na ETA de Araraquara.

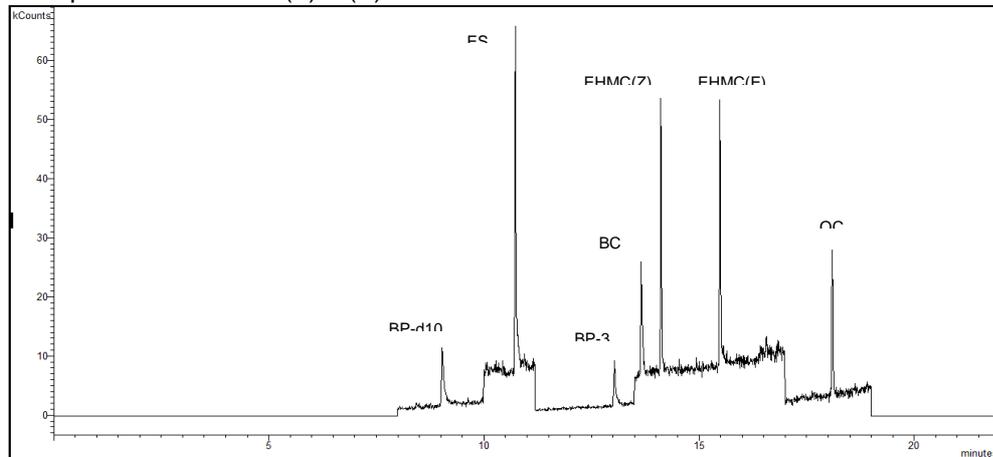
Depois de otimizado, o método cromatográfico e de extração para a determinação dos filtros UV das amostras de água, iniciaram-se os estudos para comprovação que o método desenvolvido é suficientemente confiável para originar resultados com confiança, ou seja, iniciaram-se os estudos de validação.

**Figura 30** – Fluxograma do procedimento de SPE otimizado.



Fonte: Elaborado pelo autor, 2014.

**Figura 31:** Cromatograma obtido no modo MRM com fortificações dos filtros UV e surrogate a 200 ng L<sup>-1</sup> (concentração na amostra). O padrão interno (BC) a 100 µg L<sup>-1</sup> (concentração no extrato final). EHMCs estão presentes ambos (Z) e (E) isômeros.



## 5.4 Validação

Para a obtenção do método que permitiu a eficiente quantificação dos filtros UV nas matrizes aquosas foi necessária otimização dos parâmetros de extração e análise. Entretanto, apenas isso, não é condição suficiente para garantir confiável quantificação. Para obtenção de dados fidedignos, o desempenho do método deve ser avaliado sob as condições de extração e análise otimizadas. A avaliação de desempenho, também chamada de validação, foi estudada nos termos de seletividade, curva analítica, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação.

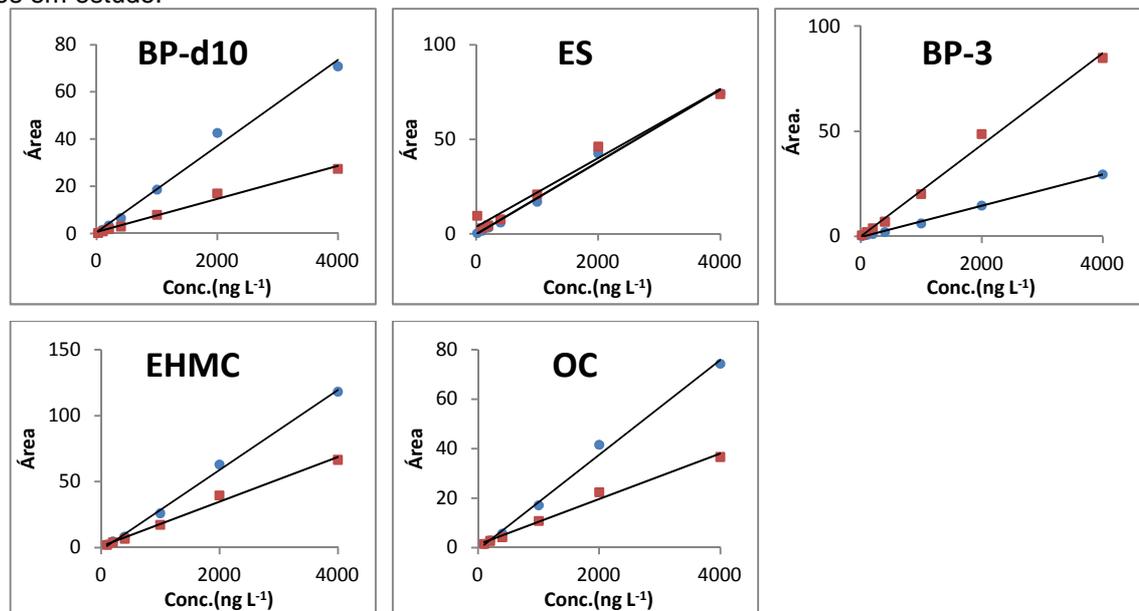
Mesmo, a validação sendo uma ferramenta fundamental na certificação da produção de dados confiáveis, não há um padrão a ser seguido. Na verdade, há varias divergências entre os documentos orientadores (ROZET et al., 2007; BERNARDES, SOUZA, 2011). Sendo assim, aqui, os estudos de validação foram planejados e executados tendo como referência guias e documentos orientadores, publicados nacional e/ou internacionalmente, bem como artigos publicados em anos recentes.

### 5.4.1 Seletividade

Para garantir a seletividade do método proposto foi avaliada a seletividade específica e a seletividade não específica. A comprovação da seletividade específica

foi garantida pela detecção MS/MS após a separação cromatográfica. Já a averiguação da seletividade não específica (também conhecida como efeito matriz) foi verificada pela ocorrência, ou não, de interferências na matriz que comprometesse o desempenho da medição. Para isso foram preparadas curvas analíticas no solvente e no extrato da matriz. Essas curvas, mostradas na Figura 32, foram preparadas nas mesmas concentrações e em níveis englobando o mesmo intervalo. Pela análise visual dessas curvas infere-se que apenas o ES não apresenta efeito matriz pronunciado. Que o BP-d10, EHMC e OC apresentam diminuição da resposta cromatográfica induzida pela matriz enquanto BP-3 apresenta aumento da resposta cromatográfica.

**Figura 32** – Curvas analíticas (GC-MS/MS) em solvente (●) e no extrato da matriz (■) para os analitos em estudo.



Fonte: obtido pelo autor.

Matematicamente, o cálculo para avaliar o efeito matriz pode ser realizado utilizando a equação 9 (ECONOMOU et al., 2009).

$$\% \text{ efeito matriz} = \frac{X_2 - X_1}{X_2} \times 100 \quad \text{Eq.: 9}$$

sendo:  $X_1$  é a inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparados na matriz;  $X_2$  é a inclinação da curva obtida pela injeção das soluções analíticas de cada analito, preparados no solvente.

Quando o resultado desta equação for  $> 20\%$  ou  $< -20\%$ , considera-se que existe efeito matriz, podendo influenciar na análise quantitativa (ECONOMOU et al., 2009). Os valores encontrados no cálculo, para avaliar o efeito matriz para BP-d10, ES, BP-3, EHMC e OC foram 62, 5, -280, 44 e 52 %, respectivamente. Confirmando a análise visual que quatro dos cinco filtros UV estudados sofrem influência da matriz. Ainda, notam-se valores expressivos de efeito matriz para o BP-3 (-280 %). Isso se deve provavelmente a maior polaridade do BP-3. Quando injetados em solvente puro, os sítios ativos do sistema cromatográfico estão disponíveis para a retenção de analitos mais polares e, assim, menor quantidade é detectada. Já, quando no extrato da matriz, ocorre uma competição entre os componentes da matriz e os analitos mais polares pelos sítios ativos do sistema cromatográfico, ocasionando então, a superestimação da resposta (POOLE, 2007).

Como a resposta para a maioria dos analitos estudados apresentaram-se influenciadas (superestimação ou subestimação do sinal) pelas substâncias co-extraídas. Concluiu-se que a forma mais confiável para quantificação dos analitos seria a construção das curvas analíticas no extrato da matriz, procedimento adotado para prosseguir o trabalho.

#### 5.4.2 Curva analítica

As curvas analíticas foram preparadas em amostras de água, antes do procedimento de extração por SPE em um mínimo de seis níveis de concentração no intervalo de 20 a 4000 ng L<sup>-1</sup> para BP-d10, ES e BP-3 e de 50 a 4000 ng L<sup>-1</sup> para EHMC e OC (curvas mostradas na Tabela 16).

**Tabela 16** – Curvas analíticas (GC-MS/MS) para os analitos de interesse na matriz.

Analito	faixa (ng L <sup>-1</sup> )	Curva de calibração (y=ax+b)	R <sup>2</sup>
BP-d10	20-4000	y = 0,0078x + 0,7028	0,994
ES	20-4000	y = 0,0144x + 2,2911	0,991
BP-3	20-4000	y = 0,0241x - 0,2487	0,998
EHMC	50-4000	y = 0,0111x + 1,2692	0,991
OC	50-4000	y = 0,0067x + 1,2121	0,987

**Fonte:** obtidas pelo autor.

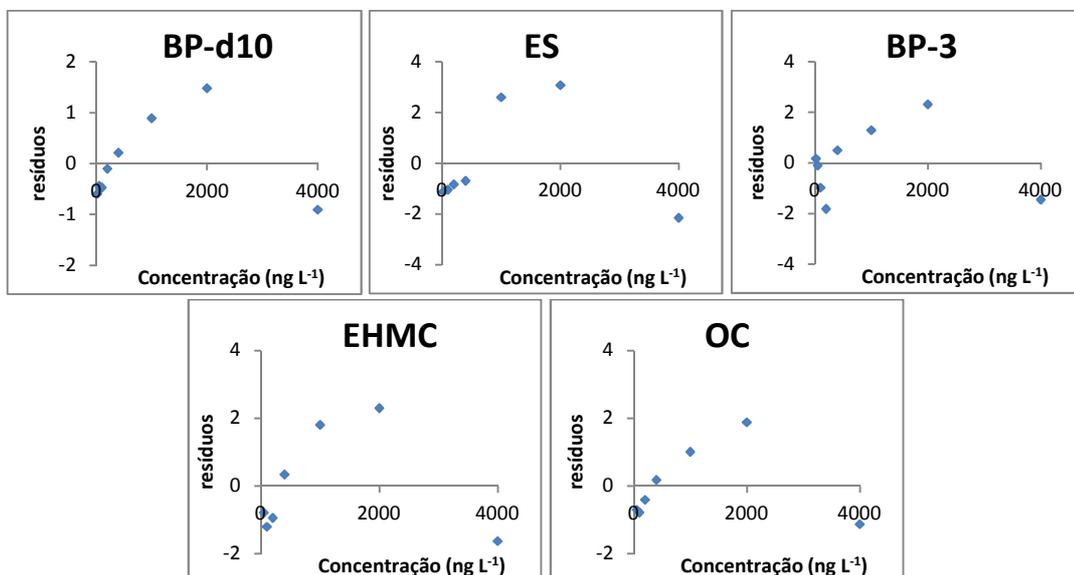
Como pode ser verificado na tabela 16, todas as curvas apresentam um valor para coeficiente de determinação “R<sup>2</sup>” igual ou superior a 0,99. Entretanto, como já

abordado na introdução, o valor de  $r$  ou  $R^2$  é inapropriado como avaliação do modelo de calibração (ROZET et al., 2011). Sendo, dessa forma, necessário avaliar o modelo de outro modo. O que foi realizado pela verificação da homocedasticidade dos dados (MANSILHA et al., 2010).

O estudo da homocedasticidade dos dados foi realizado pelo teste F e pelo gráfico dos resíduos. No teste F, os resultados obtidos para BP-d10, ES, BP-3, EHMC e OC foram respectivamente: 20009, 1173, 24583, 1178 e 8274. Todos maior que o  $F_{tab} = 99$  (obtido da tabela F com nível de confiança de 99%, para grau de liberdade (n-1) igual a 2). Como a condição de homocedasticidade ( $F_{tab} > F_{exp}$ ) não foi assumida para nenhum dos analitos fica evidenciada a ocorrência de heterocedasticidade nos dados.

Pela análise dos gráficos dos resíduos (Figura 33) nota-se que os resíduos não estão aleatoriamente distribuídos ao redor do eixo das concentrações e que em concentrações mais altas a variância é mais pronunciada, confirmando assim a heterocedasticidade dos dados, conforme já tinha sido revelada pelo teste F.

**Figura 33** – Gráfico dos resíduos versus concentração.



**Fonte:** obtido pelo autor.

Comprovada a heterocedasticidade dos dados, mostrou-se necessária a escolha de uma nova curva analítica mais apropriado para definir a relação entre a concentração e a resposta dos analitos, e conseqüentemente suas confiáveis quantificações (MANSILHA et al., 2010). É muito usual a redução do intervalo da

curva analítica para ajustar o modelo. No entanto, não era o objetivo trabalhar com uma faixa de concentração estreita, visto que os filtros UV têm sido encontrados no ambiente desde  $\text{ng L}^{-1}$  a baixos  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Assim, faixas amplas foram obtidas para as quantificações. Para isso, foi utilizado o modelo de regressão linear dos mínimos quadrados ponderados. Esses modelos com ponderação são comumente adotados para neutralizar a maior influência das concentrações maiores na linha de regressão (ALMEIDA, CASTEL-BRANCO, FALCÃO, 2002), perfil que foi encontrado nos gráficos de resíduos mostrados na Figura 33.

A escolha do melhor modelo de ponderação levou em consideração os critérios do menor somatório do erro relativo em conjunto com a distribuição aleatória em torno do eixo das concentrações. Na escolha do melhor fator de ponderação para o BP-d10, dos oito modelos avaliados, o modelo 2 foi escolhido para melhor definir a correlação entre a concentração e a resposta do analito. A Tabela 17 informa os parâmetros de regressão da curva analítica do BP-d10 gerada para cada um dos oito pesos e os somatórios dos erros relativos para cada um deles. Pela análise dessa tabela, os modelos 2, 4 e 8 foram os que apresentaram menor somatório do erro relativo. Então, plotando ER% *versus* concentração desses modelos (Figura 34), observa-se que os modelos 4 e 8 apresentam um menor valor para somatório de ER%, entretanto, o modelo 2 além de também apresentar um baixo valor para o somatório de ER%, esse modelo exibe uma melhor distribuição do ER% ao redor do eixo das concentrações.

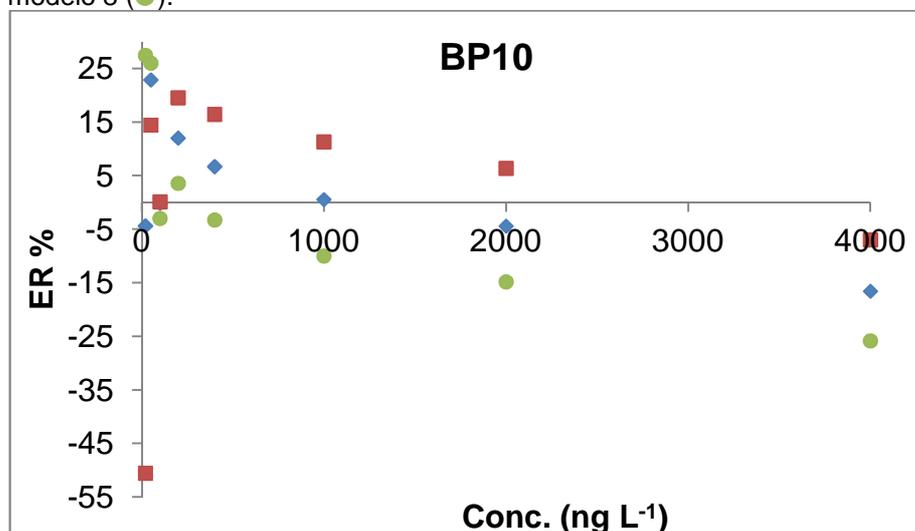
**Tabela 17** – Parâmetros de regressão da curva de calibração ( $y=ax+b$ ) gerada para cada peso (W) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o BP-d10.

BP-d10					
Modelo	wi	a**	b***	r****	$\sum ER\%$
1	1*	0,0155	0,7028	0,9972	-538
2	$\frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$	0,0184	0,0887	0,9941	16
3	$\frac{1}{y^{0.5}}$	0,0161	0,2592	0,9968	-53
4	$\frac{1}{y}$	0,0165	0,1834	0,9958	11
5	$\frac{1}{y^2}$	0,0140	0,3854	0,9922	-103
6	$\frac{1}{x^{0.5}}$	0,0163	0,0334	0,9967	181
7	$\frac{1}{x}$	0,0170	0,0038	0,9955	176
8	$\frac{1}{x^2}$	0,0208	0,0001	0,9912	0

\* não ponderado; \*\* coeficiente angular; \*\*\* coeficiente linear; \*\*\*\* coeficiente de correlação.

**Fonte:** obtidas pelo autor.

**Figura 34** – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 2 (◆), modelo 4 (■) e modelo 8 (●).



**Fonte:** obtido pelo autor.

Para os demais analitos, os dados estão no Apêndice A (parâmetros de regressão da curva de calibração) e no Apêndice B (gráficos da percentagem do erro relativo (ER%) *versus* concentração). Para eles seguiu-se o mesmo raciocínio para definição do melhor fator de ponderação. Os modelos escolhidos para todos os analitos em estudo estão mostrados na Tabela 18. Então, essas novas curvas (valores de a e b ponderados) serão utilizadas na quantificação das amostras de água.

**Tabela 18** – Parâmetros (otimizados) de regressão da curva de calibração gerada para cada analito e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum$  ER%).

Analito	Modelo	wi	a*	b**	r***	$\sum$ ER%
BP-d10	2	$\frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$	0,0184	0,0887	0,9941	16
ES	2	$\frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$	0,0321	1,0877	0,9977	20
BP-3	3	$\frac{1}{y^{0,5}}$	0,0484	-0,3162	0,9985	-13
EHMC	3	$\frac{1}{y^{0,5}}$	0,0233	0,2815	0,9949	51
OC	2	$\frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$	0,0163	0,4134	0,9912	-13

\* coeficiente angular; \*\* coeficiente linear ; \*\*\* coeficiente de correlação.

**Fonte:** obtidas pelo autor.

#### 5.4.3 Exatidão e precisão

Para avaliar a exatidão desse método foram conduzidos ensaios de recuperação em quatro níveis de fortificação: no LOQ, a 200, 1000 e 2000 ng L<sup>-1</sup>, com ensaios conduzidos em triplicata. A precisão foi avaliada pela repetibilidade dos ensaios de recuperação por meio dos cálculos dos coeficientes de variação (CV). Recuperações e coeficientes de variação obtidos para os filtros UV estão mostrados na Tabela 19.

**Tabela 19** – Recuperações médias e coeficientes de variação (CV) para n = 3

Analito	no LOQ* ng L <sup>-1</sup> (%CV)	200 ng L <sup>-1</sup> (%CV)	1000 ng L <sup>-1</sup> (%CV)	2000 ng L <sup>-1</sup> (%CV)
BP-d10	107(11)	96(3)	98(3)	105(10)
ES	77(10)	72(5)	72(5)	69(5)
BP-3	91(12)	85(3)	95(4)	94(4)
EHMC	85(7)	76(5)	74(5)	65(10)
OC	62(13)	76(5)	70(5)	63(14)

LOQ\* - Limite de quantificação obtido visualmente. Fortificado a 10, 100, 10, 50 e 50 ng L<sup>-1</sup> para BP-d10, ES, BP-3, EHMC e OC, respectivamente. O padrão interno (BC) foi fortificado a 50 µg L<sup>-1</sup>.

**Fonte:** obtidas pelo autor.

Analisando a tabela pode-se perceber no que se refere à exatidão e precisão, que o método proposto mostra-se apto e confiável na determinação dos filtros UV, já que as recuperações e os coeficientes de variação obtidas nos quatro níveis de fortificação estão dentro dos limites aceitáveis recomendados (recuperações de 70-120% e CV menor que 20%) (U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN..., 2001).

#### 5.4.4 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)

Os limites de detecção dos filtros UV foram calculados a partir dos parâmetros das curvas analíticas no intervalo de 1 a 100 ng L<sup>-1</sup> para BP-d10, ES e BP-3, de 1 a 200 ng L<sup>-1</sup> para EHMC e de 10 a 200 ng L<sup>-1</sup> para OC. As curvas analíticas foram preparadas na faixa do LOD (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION..., 2005). As correspondentes concentrações do LOD foram calculadas usando uma equação mais simples equação 10 e também por uma equação estatisticamente mais aceitável, publicada pela ISO 11843-2:2000, ISO (BRITISH STANDARD INSTITUTION, 2007) (Equação 12) (HIBBERT e GOODING, 2006).

$$LOD = \frac{3s_{y/x}}{a} \quad \text{Eq.: 10}$$

Onde:  $s_{y/x}$  é o erro padrão de regressão que é calculado pela equação 11 e  $a$  é o coeficiente angular da equação de regressão.

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (y_i - \hat{y}_i)^2}{df}} \quad \text{Eq.: 11}$$

Onde:  $y_i$  é sinal experimental;  $\hat{y}_i$  é o valor estimado da equação de regressão e  $df$  é o grau de liberdade da regressão. Como são calculados dois coeficientes ( $a$  e  $b$ ) no modelo, o grau de liberdade é  $(n - 2)$ .

$$LOD = \frac{2t_{0.05, n-2} S_{y/x}}{a} \sqrt{\frac{1}{k} + \frac{1}{I \times J} + \frac{\bar{x}^2}{J \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{Eq.: 12}$$

Onde:  $I$  é o número de pontos da curva;  $k$  é o número de extrações repetidas, que foi feito em cada ponto da curva para dar uma resposta média;  $J$  é o número de vezes que cada réplica de extração foi injetada.

Os limites de quantificação, diferentemente dos LODs, devem apresentar valores aceitáveis de precisão e exatidão. Alguns autores, como por exemplo, (TARAZONA et al., 2010; BENEDEÉ et al., 2014) tem usado a Equação 13 para calcular o LOQ. No entanto, a proposta que os LOQs sejam calculados por esta equação não tem encontrado grande benefício (HIBBERT e GOODING, 2006), isso porque, havendo necessidade de maior precisão, uma concentração maior deve ser registrada para o LOQ ou ainda, se as concentrações abaixo do LOQ se apresentarem precisas e exatas, uma concentração menor pode ser registrada para o LOQ. Em resumo, uma boa regra a ser seguida é que deve ser assumido um compromisso entre a precisão e a exatidão.

$$LOQ = \frac{10S_{y/x}}{a} \quad \text{Eq.: 13}$$

Usando as equações 10, 12 e 13 os valores obtidos para LOD e LOQ do método para os filtros UV estão na Tabela 20.

**Tabela 20** – Limite de detecção e quantificação do método de extração por SPE e GC-MS/MS.

Analito	LOD <sup>a</sup> (ng L <sup>-1</sup> )	LOD <sup>b</sup> (ng L <sup>-1</sup> )	LOQ <sup>c</sup> (ng L <sup>-1</sup> )	LOQ <sup>d</sup> (ng L <sup>-1</sup> )
BP-d10	9.3	10.0	30.9	10
ES	12.1	13.1	40.4	40
BP-3	7.1	7.6	23.5	10
EHMC	23.5	24.1	78.2	50
OC	19.3	20.8	64.4	50

<sup>a</sup> - da Eq.: 10

<sup>b</sup> - da Eq.: 12

<sup>c</sup> - da Eq.: 13

<sup>d</sup> - de testes de recuperação com aceitável precisão e exatidão

**Fonte:** obtidas pelo autor.

Os valores obtidos para LOD são comparáveis e por vezes melhores que aqueles obtidos em trabalhos publicados anteriormente, onde a extração foi por SPME (BASAGLIA, PASTI e PIETROGRANDE, 2011; BASAGLIA e PIETROGRANDE, 2012), por DLLME (TARAZONA et al., 2010) por SBSE ((NGUYEN et al., 2011; MAGI et al., 2012) e também por SPE (CUDERMAN e HEATH, 2007).

Com relação aos LOQs, cabe ressaltar aqui que em ensaios de recuperação realizados com concentrações inferiores aos LOQs calculados pela equação 13 (dados mostrados na segunda coluna da tabela 19), exceto para o ES, apresentaram valores de precisão e recuperação aceitáveis. Então, seguindo a definição, que diz que o LOQ do método é o menor valor quantitativamente determinado com aceitável precisão e exatidão (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION..., 2005). Pode-se inferir que os limites de quantificação para esse método são menores que os calculados pela equação 13. O que é facilmente justificável a partir da fórmula usada para o cálculo. Pois, a multiplicação do erro padrão de regressão por dez (valor estimado) nos fornece apenas um valor aproximado. Podendo este, ser maior ou menor que o encontrado. Dessa forma, os limites de quantificação utilizados na determinação das concentrações dos filtros UV em todas as amostras analisadas, são os mostrados na 5ª coluna da Tabela 20. Os quais, por sua vez apresentaram valores aceitáveis de precisão e exatidão.

## 5.5 Ocorrência e concentrações dos filtros UV na Bacia Hidrográfica Tietê-Jacaré

Depois do método otimizado e validado, iniciaram-se os estudos das estratégias de amostragem e então a aplicação do método para avaliação da presença dos filtros UV em águas de rio e de abastecimento.

Para definir a área a ser caracterizada, partimos do cenário nacional mais favorável (sudeste), no que diz respeito ao saneamento básico, onde a coleta de esgoto supera em muito a média nacional. Entretanto, vale destacar que, ainda, o tratamento é feito em apenas 48% dos municípios coletores (95,1%). Essa inexistência de tratamento de esgoto em mais da metade dos municípios coletores na região do país onde se tem as melhores condições de saneamento, nos mostra claramente a gravidade da situação ambiental nacional. Destacando, o quanto a coleta e o tratamento de esgoto são pouco disseminados no território brasileiro, o que pode levar a sérias consequências negativas, à saúde pública e ao ambiente. Nesse contexto, a determinação quantitativa desses contaminantes na água bruta de abastecimento público, no “melhor” cenário (Sudeste), revela-se importante. Pois, torna-se possível o estabelecimento do verdadeiro cenário ambiental da área estudada. Ainda, sendo possível, por comparação, predizer a situação da porção do país menos privilegiada, no que se refere ao saneamento ambiental.

Nesse sentido, para avaliar a ocorrência dos filtros UV na água bruta e na água de abastecimento, seis ETAs da URGHI-13 foram avaliadas. Destas, cinco (Bauru, Bueno de Andrada, Jaú, São Carlos, e Trabiju) foram avaliadas por um período de seis meses e uma (Araraquara) por um período de um ano, para melhor avaliar a influência da sazonalidade na ocorrência das substâncias estudadas. Por motivos de comparação, os municípios de (Araraquara, Bauru, Jaú e São Carlos) foram selecionados por apresentarem as maiores populações da UGRHI-13 e outros dois (Bueno de Andrada distrito de Araraquara e Trabiju) por serem os menos populosos e possuírem sistema de obtenção e tratamento de água diferenciado dos anteriores.

As amostras de água foram coletadas no período de 7:00 às 9:30 da manhã (na entrada antes de qualquer tratamento – **água de rio**, após tratamento sem cloração – **água tratada** e após a cloração – **água clorada**) e extraídas e analisadas pelo método desenvolvido SPE-GC-MS/MS no mesmo dia. Os resultados obtidos são apresentados nas Tabelas 21 a 26. Em Trabiju e Bueno de Andrada, como a

água é obtida de poço e recebe tratamento (cloração) direto na tubulação apenas dois tipos de amostra (águas) foram analisados: água de poço e água clorada Tabelas 25 e 26.

## Araraquara

**Tabela 21** – Concentração dos filtros UV em água ( $\text{ng L}^{-1}$ ) de março/2013 a fevereiro/2014 na ETA de Araraquara. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação ( $n=3$ ).

Analito	Março/2013			Abril/2013			Maio/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	102(5)	100(2)	110(10)	76(9)	83(3)	84(8)	89(5)	86(2)	98(11)
ES	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	19(10)	18(9)	18(9)	23(3)	25(4)	21(8)	< LOD	< LOD	< LOD
EHMC	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD				
OC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Analito	Junho/2013			Julho/2013			Agosto/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	59(6)	63(5)	71(2)	80(5)	92(1)	85(4)	89(9)	90(11)	97(10)
ES	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
EHMC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
OC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	59(67)	< LOQ
Analito	Setembro/2013			Outubro/2013			Novembro/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	111(6)	109(11)	109(12)	68(11)	82(7)	85(4)	77(8)	73(8)	86(5)
ES	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	22(1)	19(2)	20(4)	33(2)	28(15)	25(7)	38(2)	29(9)	31(4)
EHMC	< LOD	< LOD	75(11)	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
OC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Analito	Dezembro/2013			Janeiro/2014			Fevereiro/2014		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	58(8)	61(12)	69(8)	59(3)	63(15)	65(5)	106(9)	106(16)	141(5)
ES	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	26(4)	23(3)	23(10)	36(5)	32(4)	28(3)	30(6)	25(13)	23(7)
EHMC	< LOQ	< LOQ	57(64)	65(19)	55(11)	70(58)	55(10)	< LOD	< LOD
OC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

BP-10\* - foi fortificado a  $200 \text{ ng L}^{-1}$

LOD – limite de detecção do método;

LOQ – limite de quantificação do método.

**Fonte:** obtidas pelo autor.

## Bauru

**Tabela 22** – Concentração dos filtros UV em água ( $\text{ng L}^{-1}$ ) de Abril/2013 a setembro/2013 na ETA de Bauru. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação ( $n=3$ ).

Analito	Abril/2013			Maio/2013			Junho/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	107(15)	105(5)	131(3)	48(6)	81(17)	115(23)	59(6)	63(5)	71(2)
ES	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	28(15)	33(14)	115(1)	20(36)	26(27)	72(54)	< LOD	< LOD	< LOD
EHMC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
OC	< LOQ	< LOQ	87(57)	n.d.	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD
Analito	Julho/2013			Agosto/2013			Setembro/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	45(12)	57(3)	73(8)	93(6)	100(18)	111(9)	123(16)	106(9)	105(3)
ES	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
EHMC	< LOD	< LOD	< LOD	669(5)	707(6)	309(6)	< LOD	< LOD	< LOD
OC	n.d.	n.d.	n.d.	188(2)	211(4)	199(4)	< LOD	< LOD	< LOD

BP-10\* - foi fortificado a  $200 \text{ ng L}^{-1}$

LOD – limite de detecção do método;

LOQ – limite de quantificação do método

Fonte: obtidas pelo autor.

## São Carlos

**Tabela 23** – Concentração dos filtros UV em água ( $\text{ng L}^{-1}$ ) de abril/2013 a setembro/2013 na ETA de São Carlos. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação ( $n=3$ ).

Analito	Abril/2013			Maio/2013			Junho/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	110(8)	121(7)	93(3)	93(9)	85(5)	81(11)	80(2)	82(10)	82(4)
ES	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	nd	nd	nd	< LOQ	< LOQ	< LOD	44(10)	60(31)	< LOD
EHMC	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	101(10)	< LOQ	< LOD
OC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Analito	Julho/2013			Agosto/2013			Setembro/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	86(11)	84(5)	80(8)	94(10)	94(15)	92(40)	105(6)	104(9)	114(6)
ES	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOD
BP-3	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
EHMC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
OC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

BP-10\* - foi fortificado a  $200 \text{ ng L}^{-1}$

LOD – limite de detecção do método;

LOQ – limite de quantificação do método

Fonte: obtidas pelo autor.

## Jau

**Tabela 24** – Concentração dos filtros UV em água ( $\text{ng L}^{-1}$ ) de março/2013 a agosto/2013 na ETA de Jau. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação ( $n=3$ ).

Analito	Março/2013			Abril/2013			Maio/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	96(5)	100(3)	105(6)	79(5)	79(11)	82(5)	65(23)	73(10)	74(17)
ES	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	18(8)	18(1)	nd	24(8)	26(6)	28(15)	< LOD	< LOD	< LOD
EHMC	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
OC	< LOD	< LOD	< LOD	nd	nd	nd	< LOD	< LOD	< LOD
Analito	Junho/2013			Julho/2013			Agosto/2013		
	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada	Água de rio	Água tratada	Água clorada
BP-10*	60(1)	59(7)	66(4)	83(6)	84(1)	92(6)	115(6)	123(6)	135(13)
ES	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	21(20)	< LOQ	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
EHMC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	755(8)	629(16)	292(3)
OC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	208(12)	176(10)	183(24)

BP-10\* - foi fortificado a  $200 \text{ ng L}^{-1}$

LOD – limite de detecção do método;

LOQ – limite de quantificação do método

Fonte: obtidas pelo autor.

## Bueno de Andrada

**Tabela 25** – Concentração dos filtros UV em água ( $\text{ng L}^{-1}$ ) de março/2013 a agosto/2013 na ETA de Bueno de Andrada. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação ( $n=3$ ).

Analito	Março/2013		Abril/2013		Maio/2013	
	Água de poço	Água clorada	Água de poço	Água clorada	Água de poço	Água clorada
BP-10*	133(7)	143(11)	107(10)	99(9)	108(5)	112(10)
ES	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD
BP-3	nd	nd	nd	nd	< LOQ	< LOD
EHMC	< LOQ	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD
OC	< LOD	< LOD	< LOD	nd	n.d.	n.d.
Analito	Junho/2013		Julho/2013		Agosto/2013	
	Água de poço	Água clorada	Água de poço	Água clorada	Água de poço	Água clorada
BP-10*	71(8)	72(23)	105(13)	122(3)	130(40)	80(30)
ES	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
EHMC	< LOD					
OC	< LOD					

BP-10\* - foi fortificado a  $200 \text{ ng L}^{-1}$

LOD – limite de detecção do método;

LOQ – limite de quantificação do método

Fonte: obtidas pelo autor.

## Trabiju

**Tabela 26** – Concentração dos filtros UV em água ( $\text{ng L}^{-1}$ ) de março/2013 a agosto/2013 na ETA de Trabiju. Para BP-10 recuperações médias e coeficientes de variação ( $n=3$ ).

Analito	Março/2013		Abril/2013		Maio/2013	
	Água de poço	Água clorada	Água de poço	Água clorada	Água de poço	Água clorada
BP-10*	105(21)	113(3)	88(8)	88(9)	59(14)	66(14)
ES	< LOD	105(258)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
BP-3	nd	nd	nd	nd	< LOD	< LOD
EHMC	137(148)	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
OC	< LOD	< LOD	nd	nd	n.d.	n.d.
Analito	Junho/2013		Julho/2013		Agosto/2013	
	Água de poço	Água clorada	Água de poço	Água clorada	Água de poço	Água clorada
BP-10*	60(5)	61(6)	93(3)	85(2)	115(15)	112(6)
ES	< LOD					
BP-3	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD
EHMC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	724(4)	273(2)
OC	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	175(22)	174(19)

BP-10\* - foi fortificado a  $200 \text{ ng L}^{-1}$

LOD – limite de detecção do método;

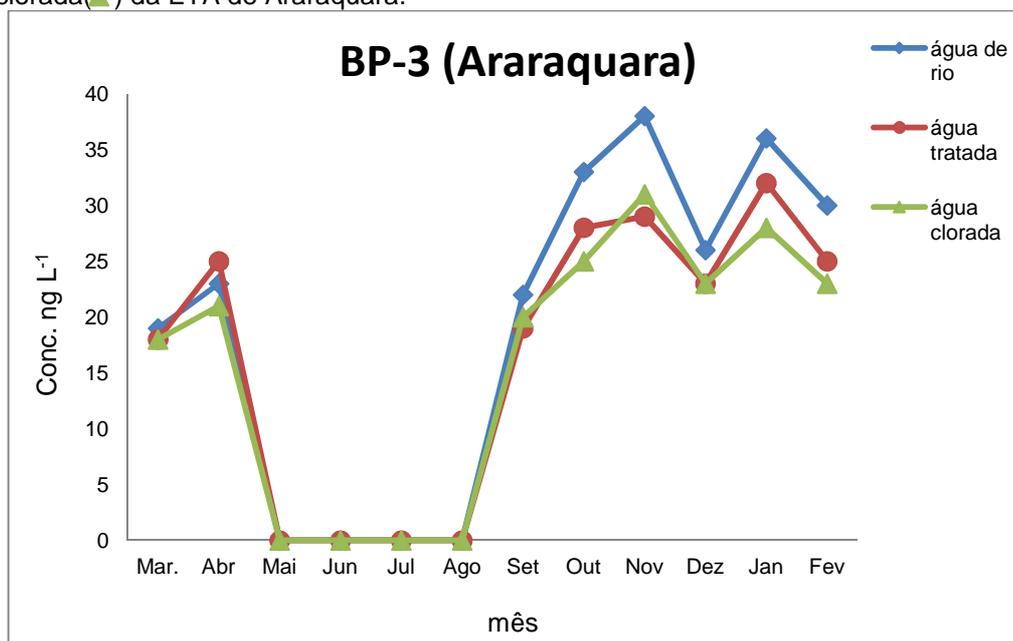
LOQ – limite de quantificação do método

**Fonte:** obtidas pelo autor.

Como pode ser observado nas Tabelas 21 a 26, pelas recuperações do surrogate (BP-d10) e seus respectivos coeficientes de variação, o método desenvolvido mostrou-se muito eficiente e oportuno para as quantificações. Com recuperações muito próximas de 100% e coeficientes de variação < 20% (com poucas exceções), indicando que o método atendeu as exigências de precisão e exatidão.

O analito com maior incidência de ocorrência foi o BP-3. Ele juntamente com o EHMC e OC são os filtros UV mais utilizados em PCPs, dos três, o BP-3 é o mais polar e apresenta a maior frequência de ocorrência em água. Ele se mostrou quantificável em Araraquara, Bauru, São Carlos e Jaú. Sua ocorrência em água no município de Araraquara de março/2013 a fevereiro/2014 é mostrado na Figura 35.

**Figura 35** – Concentração média (n=3) mensal para BP-3 em água de rio (◆), água tratada(●) e água clorada(▲) da ETA de Araraquara.



**Fonte:** obtido pelo autor

Pela análise do gráfico da Figura 35, podemos notar que os meses em que os filtros UV não foram quantificáveis (maio a agosto) coincidem exatamente com o período de inverno em Araraquara, quando o uso de protetores solares provavelmente diminuem significativamente, o que seria a explicação para ausência de quantificação desse analito no ambiente avaliado. Com relação a menor concentração do BP-3 para amostras cloradas em relação a tratada e água de rio isso deve-se provavelmente a cloração do anel aromático do BP-3 (NEGREIRA et al., 2008).

Entretanto, as concentrações nas amostras cloradas não são tão inferiores que as amostras tratadas e de rio. Isso sugere que o procedimento de tratamento de água não seja suficiente na eliminação dessas substâncias da água, antes do abastecimento público. O que é motivo de atenção, pois, BP-3 tem sido frequentemente relatado como Interferente endócrino (FENT, KUNZAC e GOMEZD, 2008), induzindo a atividade hormonal, in vitro e in vivo. As benzofenonas tem sido associados à: indução de vitelogenina, alterações nas gônadas, diminuição na fertilidade e reprodução, e feminização em características sexuais de peixes machos (Díaz-Cruz et al., 2012).

As altas concentrações obtidas para EHMC e OC no mês de agosto, nos municípios de Bauru, Jaú e Trabiçu, acredita-se que deva ter ocorrido alguma

contaminação (desconhecida até o momento) durante a coleta e/ou a extração da amostra. Embora, estes compostos já tivessem sido detectados (abaixo do LOQ) em meses anteriores, esses valores não são compatíveis com o cenário de onde as amostras foram coletadas. Mesmo que seus coeficientes de variação sejam excelentes, essa desconfiança se dá pelo motivo da coincidência dos mesmos analitos serem detectados nos três municípios e em concentrações bem semelhantes. Como as amostras dos três municípios foram coletadas no mesmo dia e também processadas em conjunto, não se descarta a possibilidade de contaminação. Embora também não se confirme, já que todo um procedimento de limpeza das vidrarias e materiais era realizado, além dos cuidados com a utilização de luvas durante todo o procedimento desde a separação da vidraria para coleta até o momento das injeções.

Com relação à ocorrência dos outros filtros UV, todos foram detectados nas ETAs integrantes deste estudo. Contudo, apenas o BP3 e EHMC em concentrações quantificáveis. As concentrações encontradas para o BP3 estiveram entre 18 a 115 ng L<sup>-1</sup> e para EHMC entre 55 a 101 ng L<sup>-1</sup> (o mês de agosto foi desconsiderado). Os demais analitos, mesmo presentes em algumas amostras não apresentavam níveis e/ou mesmo precisão suficiente para serem quantificados adequadamente.

Tanto BP-3 como o EHMC está entre os mais encontrados filtros UV em todo o mundo, eles tem sido detectados em água, solo, sedimentos, lodo, biota etc. O nível máximo detectado para o BP-3 em águas doces é de 125 ng L<sup>-1</sup> na Suíça, segundo artigo de revisão de 2014 (KIM, 2014). Já o EHMC tem sido encontrado em concentrações um pouco maiores. Kameda e colaboradores encontraram concentrações de até 1040 ng L<sup>-1</sup> para o EHMC em rios altamente poluídos do Japão (KAMEDA, KIMURA e MIYAZAKI, 2011). Na Espanha, concentrações de 295 ng L<sup>-1</sup> e 256 ng L<sup>-1</sup> foram reportadas em águas de abastecimento público para BP-3 e EHMC, respectivamente (Díaz-Cruz et al., 2012). Estes valores são comparáveis aos obtidos nesse trabalho, visto que os dados obtidos correspondem a região mais privilegiada (em termos de saneamento sanitário) do cenário nacional. Convém lembrar que, se as coletas de amostra fossem realizadas por 24 horas (hora em hora – amostra composta) em cada mês utilizando amostradores automáticos a amostragem seria mais representativa. Entretanto por questões de logística com as ETAs e custos, não foi empregado.

E importante destacar ainda, que os baixos níveis encontrados não quer dizer que essas substâncias não sejam contaminantes potenciais nesse ambiente, visto que apenas a água foi analisada. Além disso, deve-se levar em consideração que não temos estudos conclusivos com relação aos efeitos temporais em concentrações ambientalmente relevantes. Ainda, mesmo em concentrações muito baixas, a exposição em longo prazo podem ter efeitos deletérios (DÍAZ-CRUZ; BARCELO 2009). Também, não se deve negligenciar a propensão de uma rápida acumulação, já que são introduzidos diariamente ao ambiente, e o potencial de efeitos de mistura. Todas essas questões indicam, claramente, a necessidade de mais estudos para avaliar a ocorrência e destino e dos filtros UV no ambiente, bem como a carência de estudos toxicológicos e ecotoxicológicos que possam subsidiar a regulação ambiental desses compostos.

## 6 CONCLUSÕES

Um método sensível, seletivo e confiável para a determinação e quantificação de filtros UV BP-3, ES, EHMC OC e em amostras de água foi desenvolvido. A SPE aliada com GC-MS/MS já é bem conhecida por ser uma valiosa combinação para determinação de filtros UV em amostras aquosas em níveis de  $\text{ng L}^{-1}$ . Nesse trabalho, a contribuição foi feita pelo uso de otimização multivariada no desenvolvimento do método de extração. Esta combinação entre SPE, GC-MS/MS e otimização multivariável mostrou-se muito proveitosa, pois a aplicação de planejamento fatorial fracionário proporcionou um desenvolvimento/otimização de método simples e rápido e mais ambientalmente amigável. Pois, com um número reduzido de experimentos pode-se otimizar o procedimento de extração, podendo inferir dele conclusões mais fidedignas que se fosse realizado um planejamento univariado.

A confiança das quantificações pode ser garantida pelos parâmetros de desempenho analíticos avaliados, os quais se mostraram satisfatórios. Em termos de seletividade, curva analítica, precisão, exatidão, limite de detecção e quantificação. As recuperações obtidas, para os quatro níveis de fortificação estiveram entre 63 e 107%, e com repetibilidade entre 3 e 14%. Os limites de quantificação calculados estiveram entre 23,5 e 78,2  $\text{ng L}^{-1}$  com evidências claras que valores mais baixos apresentam-se quantificáveis.

Todos os filtros UV foram detectados em algum momento durante o estudo, tanto na água bruta como na água final. Entretanto, apenas o BP-3 (18 a 115  $\text{ng L}^{-1}$ ) e o EHMC (55 a 101  $\text{ng L}^{-1}$ ) em concentrações quantificáveis. Contudo, esses baixos níveis encontrados para os filtros UV não quer dizer que essas substâncias nesse ambiente não são passíveis de provocar prejuízos ambientais e humanos; pois, não se sabe ao certo o nível de segurança para esses compostos no ambiente. Também, somente a água foi analisada, e as propriedades fisicoquímicas desses compostos lhes confere também grande potencial para acumula-se no material particulado, sedimento e até mesmo nos organismos vivos. Além disso, deve ser considerado que as análises foram realizadas no “melhor” cenário em termos de Brasil.

Dessa forma, conclui-se a inquestionável necessidade de estudos químicos e biológicos integrados na obtenção de dados sobre a ocorrência, como também na

confiável caracterização da toxicidade desses compostos na forma individual e em misturas. Podendo esse trabalho servir de ponto de partida para mais estudos, considerando que: ao nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo sobre filtros UV no ambiente brasileiro. Podendo também, no futuro, contribuir para desenvolvimento de legislação ambiental.

## **DESTINAÇÃO DOS RESÍDUOS QUÍMICOS GERADOS**

Os resíduos gerados no desenvolvimento deste trabalho foram armazenados em frascos devidamente identificados, seguindo os procedimentos preconizados nas Normas para Gerenciamento de Resíduos Químicos do IQ-UNESP (UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 2002). Os resíduos foram mantidos no laboratório até serem transferidos para o Entrepósito de Resíduos do IQ/UNESP, de onde foram encaminhados para incineração por empresa autorizada pela CETESB.

## TRABALHOS FUTUROS

Ao nosso conhecimento, essa tese, é o primeiro trabalho no estudo dos filtros UV no ambiente brasileiro, assim sendo, muitos são os trabalhos que podem ser desencadeados deste primeiro estudo, elencamos a seguir alguns:

- Estudar a ocorrência dessas substâncias em outras matrizes ambientais (sedimento e material particulado, por exemplo);
- Estudar a ocorrência dos metabolitos dos filtros UV em mananciais hídricos;
- Estudar a ocorrência dos filtros UV no norte e nordeste do Brasil onde o saneamento básico é praticamente inexistente;
- Estudar os aspectos toxicológicos e ecotoxicológicos dessas substâncias, em estudos que integrem profissionais da área de Química e Biologia.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. Brasília, DF, 2011. 327 p. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/publicacoes/guia-nacional-coleta-2012.pdf>>. Acesso em: 04 jul. 2014.

AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução - RDC nº 47, de 16 de março de 2006. Aprova o regulamento técnico lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoais, cosméticos e perfumes. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 17 mar. 2006. Seção 1.

ALMEIDA, A. M.; CASTEL-BRANCO, M. M.; FALCÃO, A. C. Linear regression for calibration lines revisited: weighting schemes for bioanalytical methods. **Journal of Chromatography B**, v. 774, n. 2, p. 215-222, 2002.

ALMEIDA, C.; STEPKOWSKA, A.; ALEGRE, A.; NOGUEIRA, J. M. F. Determination of trace levels of benzophenone-type ultra-violetfilters in real matrices by bar adsorptive micro-extraction usingselective sorbent phases. **Journal of Chromatography A**, v. 1311, n. 2, p. 1-10, 2013.

ARARAQUARA. **Localização de Araraquara em São Paulo**. In: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. 1 mapa, color. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Araraquara>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS. **Brasil tem maior taxa de crescimento percentual entre os top 10 mercados mundiais de HPPC**. 2012. Disponível em: <<http://www.abihpec.org.br/2012/04/brasil-tem-maior-taxa-de-crescimento-percentual-entre-os-top-10-mercados-mundiais-de-hppc>>. Acesso em: 31 de mar. de 2014.

BALMER, M. E.; BUSER, H.-R.; MÜLLER, M. D.; POIGER, T. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface water, and in fish from Swiss lakes. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 4, p. 953-962, 2005.

BARÓN, E.; GAGO-FERRERO, P.; GORGA, M.; RUDOLPH, I.; MENDOZA, G.; ZAPATA, A. M.; DÍAZ-CRUZ, S.; BARRA, R.; OCAMPO-DUQUE, W.; PÁEZ, M.; DARBRA, R. M.; ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D. Occurrence of hydrophobic organic pollutants (BFRs and UV-filters) in sediments from South America. **Chemosphere**, v. 92, n. 3, p. 309-316, 2013.

BASAGLIA, G.; PASTI, L.; PIETROGRANDE, M. C. Multi-residual GC-MS determination of personal care products in waters using solid-phase microextraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 399, n. 6, p. 2257-2265, 2011.

BASAGLIA, G.; PIETROGRANDE, M. C. Optimization of a SPME/GC/MS method for the simultaneous determination of pharmaceuticals and personal care products in waters. **Chromatographia**, v. 75, n. 7, p. 361-370, 2012.

BAURU. **Localização de Bauru em São Paulo**. In: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. 1 mapa, color. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Bauru>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

BENEDÉ, J. L.; CHISVERT, A.; SALVADOR, A.; SÁNCHEZ-QUILES, D.; TOVAR-SÁNCHEZ, A. Determination of UV filters in both soluble and particulate fractions of seawaters by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. **Analytical Chemistry Acta**, v. 812, p. 50-58, 2014.

BERNARDES, A. C. M.; SOUZA, S. V. C. Análise comparativa do guia para validação de métodos analíticos proposto pela ANVISA (RE nº 899 de 2003) com o documento orientativo do INMETRO e o Protocolo Internacional Harmonizado pela AOAC Internacional, ISO e IUPAC. **Revista Analytica**, n. 51, p. 66-77, 2011.

BHATIA, S. P.; WELLINGTON, G. A.; COCCHIARA, J.; LALKO, J.; LETIZIA, C. S.; API A. M. Fragrance material review on benzyl cinnamate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 40-48, 2007.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e conseqüências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007.

BRITISH STANDARD INSTITUTION. **BS ISO 11843-2:2000**: capability of detection - part 2: methodology in the linear calibration case. London, 2007.

CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. 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. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604-1617, 2011.

CARDOSO, M. H. W. W.; NÓBREGA, A. W.; ABRANTES, S. Efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz: estudo de caso em tomates. **Revista Analytica**, n. 34, p. 48-55, 2008.

CASSIANO, N. M.; BARREIRO, J. C.; MARTINS, L. R. R.; OLIVEIRA, R. V.; CASS, Q. B. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009.

CERQUEIRA, M. B. R.; DIAS, A. N.; CALDAS, S. S.; SANTANA, F. B.; D'OCA, M. G. M.; PRIMEL, E. G. Validação de método para determinação de ácidos orgânicos voláteis em efluentes de reatores anaeróbios empregando cromatografia líquida. **Química Nova**, v. 34, n. 1, p. 156-159, 2011.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

CHISVERT, A.; SALVADOR, A. UV filters in sunscreens and other cosmetics. Tanning and whitening agents. Analytical methods. In: SALVADOR, A.; CHISVERT, A.; SALVADOR CARREÑO, A.; TOWNSHEND, A. **Analysis of cosmetic products**. Amsterdam: Elsevier Science, 2007. Chap. 3, p. 83-120.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo 2012**. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/35-publicacoes/-relatorios>. Acesso em: 10 jul. 2012.

CUDERMAN, P.; HEATH, E. Determination of UV filters and antimicrobial agents in environmental water samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 4, p. 1343-1350, 2007.

CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, M. C.; LAMPARELLI, M. C. MENEGON JUNIOR, N. Resolução CONAMA 357/2005: análise espacial e temporal de não conformidades em rios e reservatórios do estado de São Paulo de acordo com seus enquadramentos (2005-2009). **Engenharia Sanitária Ambiental**, v. 18, n. 2, p. 159-168, 2013.

DE ORSI, D.; GIANNINI, G.; GAGLIARDI, L.; PORRÁ, R.; BERRI, S.; BOLASCO, A.; CARPANI, I.; TONELLI, D. Simple extraction and HPLC determination of UV-A and UV-B filters in sunscreen products. **Chromatographia**, v. 64, n. 9, p. 509-515, 2006.

DEPARTAMENTO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO. **Estações de tratamento de água**. Araraquara. Disponível em: <<http://www.daaearaquara.com.br/eta.htm>>. Acesso em: 15 jun. 2014.

DEPARTAMENTO DE ÁGUA E ESGOTO. **Preservação de mananciais**. Bauru. Disponível em: <<http://www.daebauru.com.br/2014/agua/agua.php?secao=qualidade&pagina=21>>. Acesso em: 15 jun. 2014.

DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELO, D. Chemical analysis and ecotoxicological effects of organic UV-absorbing compounds in aquatic ecosystems. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 6, p. 708-717, 2009.

DÍAZ-CRUZ, M. S.; GAGO-FERRERO, P.; LLORCA, M.; BARCELÓ, D. Analysis of UV filters in tap water and other clean waters in Spain. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, n. 7, p. 2325-2333, 2012.

ECONOMOU, A.; BOTITSI, H.; ANTONIOU, S.; TSIPI, D. 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.

EIRAS, S. P.; COSCIONE, A. R.; CUSTODIO, R.; ANDRADE, J. C. Métodos de otimização em química. **Chemkeys**, 2000. Disponível em: <<http://chemkeys.com/br/wp-content/themes/chemkeysbr/article1.php?u=bWV0b2Rvcy1kZS1vdGltaXphY2FvLWVtLXF1aW1pY2E=>>>. Acesso em: 15 jun. 2014.

EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL. **SANCO/12571/2013**: guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. 2013. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/food/plant/plant\\_protection\\_products/guidance\\_documents/docs/qualcontrol\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/plant/plant_protection_products/guidance_documents/docs/qualcontrol_en.pdf)>. Acesso em: 04 jul. 2014.

FELIX, T.; HALL, B. J.; BRODBELT, J. S. Determination of benzophenone 3 and metabolites in water and human urine by solid-phase microextraction and quadrupole ion trap GC-MS. **Analytica Chimica Acta**, v. 371, n. 2/3, p. 195-203, 1998.

FENT, K.; KUNZAC, P.Y.; GOMEZD, E. UV filters in the aquatic environment induce hormonal effects and affect fertility and reproduction in fish. **Chimia**, v. 62, n. 5, p. 368-375, 2008.

FENT, K.; ZENKER, A.; RAPP, M. Widespread occurrence of estrogenic UV filters in aquatic ecosystems in Switzerland. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 5, p. 1817-1824, 2010.

FERREIRÓS, N.; IRIARTE, G.; ALONSO, R. M.; JIMÉNEZ, R. M. MultiSimplex and experimental design as chemometric tools to optimize a SPE-HPLC-UV method for the determination of eprosartan in human plasma samples. **Talanta**, v. 69, n. 3, p. 747-756, 2006.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R. Protetores solares. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

FRANCISCO, A. M. DE A. **Estudo da lamotrigina em doentes epilépticos submetidos a monitorização vídeo-electroencefalográfica**. 2008. 343 f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2008.

FRÍAS, M. M.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. M.; SÁNCHEZ, M. M.; OLEA, F.; OLEA, N. Analyses of lindane, vinclozolin, aldrin, *p*, *p*<sub>9</sub>-DDE, *o*, *p*<sub>9</sub>-DDT and *p*, *p*<sub>9</sub>-DDT in human serum using gas chromatography with electron capture detection and tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 760, n. 1, p. 1-15, 2001.

GAGO-FERRERO, P.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Occurrence of multiclass UV filters in treated sewage sludge from wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 84, n. 8, p. 1158-1165, 2011.

GAGO-FERRERO, P.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Multi-residue method for trace level determination of UV filters in fish based on pressurized liquid extraction and liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1286, n. 19, p. 93-101, 2013.

GAGO-FERRERO, P.; MASTROIANNI, N.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Fully automated determination of nine ultraviolet filters and transformation products in natural waters and wastewaters by on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1294, p. 106-116, 2013.

GAUJAC, A.; EMÍDIO, E. S.; NAVICKIENE, S.; FERREIRA, S. L. C.; DÓREA, H. S. Multivariate optimization of a solid phase microextraction-headspace procedure for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in effluent samples from a waste treatment plant. **Journal of Chromatography A**, v. 1203, n. 1, p. 99-104, 2008.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 695-706, 2007.

GIOKAS, D. L.; SAKKAS, V. A.; ALBANIS, T. A. Determination of residues of UV filters in natural waters by solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-photodiode array detection and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1026, n. 1/2, p. 289-293, 2004.

GIOKAS, D. L.; SALVADOR, A.; CHISVERT, A. UV filters: from sunscreens to human body and the environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 360-374, 2007.

GIOKAS, D. L.; SAKKAS, V. A.; ALBANIS, T. A.; TRIANTAFYLLOS A.; LAMPROPOULOU, D. A. Determination of UV-filter residues in bathing waters by liquid chromatography UV-diode array and gas chromatography-mass spectrometry after micelle mediated extraction-solvent back extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1077, n. 1, p. 19-27, 2005.

GROZ, M. P.; BUENO, M. J. M.; ROSAIN, D.; FENET, H.; CASELLAS, C.; PEREIRA, C.; MARIA, V.; BEBIANNO, M. J.; GOMEZ, E. Detection of emerging contaminants (UV filters, UV stabilizers and musks) in marine mussels from Portuguese coast by QuEChERS extraction and GC-MS/MS. **Science of the Total Environment**, v. 493, p. 162-169, 2014.

GUIDE to solid phase extraction. **Bulletin Supelco**, n. 910, 1998. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4600/4538.pdf>>. Acesso em: 24 jul. 2012.

HIBBERT, D. B.; GOODING, J. J. **Data analysis for chemistry**: an introductory guide for students and laboratory scientists. New York: Oxford University Press, 2006. 192 p.

HO, Y.-C.; DING, W. H. Solid-phase extraction coupled simple on-line derivatization gas chromatography tandem mass spectrometry for the determination of benzophenone-type UV filters in aqueous samples. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 59, n. 1, p. 107-113, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa nacional de saneamento básico**. 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pnsb2008/default.shtm>>. Acesso em: 10 jul. 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **DOQ-CGCRE-008**: Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. 2007. 25 p. Revisão 02.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **DOQ-CGCRE-008**: orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. 2010. 20 p. Revisão 03.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. **Validation of analytical procedures**: text and methodology Q2(R1), 2005. Disponível em: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q2\\_R1/Step4/Q2\\_R1\\_\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf)>. Acesso em: 04 jun. 2014.

JAÚ. **Localização de Jaú em São Paulo**. In: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. 1 mapa, color. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Ja%C3%BA>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

JEON, H.; CHUNG, Y.; RYU, J. Simultaneous determination of benzophenone-type UV filters in water and soil by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1131, n. 1/2, p. 192-202, 2006.

JURADO, A.; GAGO-FERRERO, P.; VÁZQUEZ-SUÑÉ, E.; CARRERA, J.; PUJADES, E.; DÍAZ-CRUZ, M. S.; BARCELÓ, D. Urban ground water contamination by residues of UV filters. **Journal of Hazardous Materials**, v. 271, p. 141-149, 2014.

KAMEDA, Y.; KIMURA, K.; MIYAZAKI, M. Occurrence and profiles of organic sun-blocking agents in surface waters and sediments in Japanese rivers and lakes. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 6, p. 1570-1576, 2011.

KANAVY, H. E.; GERSTENBLITH, M. R. Ultraviolet radiation and melanoma. seminars in cutaneous. **Medicine and Surgery**, v. 30, n. 4, p. 222-228, 2011.

KIM, S.; CHOI, K. Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: a mini-review. **Environment International**, v. 70, n. 1, p. 143-157, 2014.

KOSHY, J. C.; SHARABI, S. E.; JERKINS, D.; COX, J.; CRONIN, S. P.; HOLLIER, L. H. Jr. Sunscreens: evolving aspects of sun protection. **Journal of Pediatric Health Care**, v. 24, n. 5, p. 343-346, 2010.

KUNZ, P. Y.; FENT, K. Multiple hormonal activities of UV filters and comparison of in vivo and in vitro estrogenic activity of ethyl-4-aminobenzoate in fish. **Aquatic Toxicology**, v. 79, n. 4, p. 305-324, 2006.

LAMBROPOULOU, D. A.; GIOKAS, D. L.; SAKKAS, V. A.; ALBANIS, T. A.; KARAYANNIS, M. I. Gas chromatographic determination of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyldimethyl-*p*-aminobenzoic acid sunscreen agents in swimming pool and bathing waters by solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 967, n. 2, p. 243-253, 2002.

LI, W.; MA, Y.; GUO, C.; HU, W.; LIU, K.; WANG, Y.; ZHU, T. Occurrence and behavior of four of the most used sunscreen UV filters in a wastewater reclamation plant. **Water Research**, v. 41, n. 15, p. 3506-3512, 2007.

LIU, H.; LIU, L.; XIONG, Y.; YANG, X.; LUAN, T. Simultaneous determination of UV filters and polycyclic musks in aqueous samples by solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 43, p. 6747-6753, 2010.

LIU, Y.-S.; YING, G.-G.; SHAREEF, A.; KOOKANA, R. S. Simultaneous determination of benzotriazoles and ultraviolet filters in ground water, effluent and biosolid samples using gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 31, p. 5328-5335, 2011.

MAGI, E.; DI CARRO, M.; SCAPOLLA, C.; NGUYEN, K. T. N. Stir bar sorptive extraction and LC MS/MS for trace analysis of UV filters in different water matrices. **Chromatographia**, v. 75, n. 17/18, p. 973-982, 2012.

MANSILHA, C.; MELO, A.; REBELO, H.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; PINHO, O.; DOMINGUES, V.; PINHO, C.; GAMEIRO, P. Quantification of endocrine disruptors and pesticides in water by gas chromatography-tandem mass spectrometry. Method validation using weighted linear regression schemes. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 43, p. 6681-6691, 2010.

MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 5th ed. Harlow: Pearson Prentice Hall, 2005.

MOEDER, M.; SCHRADER, S.; WINKLER, U.; RODIL, R. At-line microextraction by packed sorbent-gas chromatography-mass spectrometry for the determination of UV filter and polycyclic musk compounds in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 17, p. 2925-2932, 2010.

MOTTALEB, M. A.; USENKO, S.; O'DONNELL, J. G.; RAMIREZ, A. J.; BROOKS, B. W.; CHAMBLISS, C. K. Gas chromatography-mass spectrometry screening methods for select UV filters, synthetic musks, alkylphenols, an antimicrobial agent, and an insect repellent in fish. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 5, p. 815-823, 2009.

MOURA, J. A. **Estudo da eficiência de estações de tratamento de esgoto – ETE e estações de tratamento de água - ETA na eliminação de resíduos de estrógenos naturais e sintéticos na bacia hidrográfica Tietê-Jacaré (UGRHI 13)**. 2009. 178 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

NEGREIRA, N.; CANOSA, P.; RODRÍGUEZ, I.; RAMIL, M.; RUBÍ, E.; CELA, R. Study of some UV filters stability in chlorinated water and identification of halogenated by-products by gas chromatography mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1178, n. 1/2, p. 206-214, 2008.

NEGREIRA, N.; RODRÍGUEZ, I.; RAMIL, M.; RUBÍ, E.; CELA, R. Sensitive determination of salicylate and benzophenone type UV filters in water samples using solid-phase microextraction, derivatization and gas chromatography tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 638, n. 1, p. 36-44, 2009a.

NEGREIRA, N.; RODRÍGUEZ, I. ; RUBÍ, E.; CELA, R. Determination of selected UV filters in indoor dust by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 31, p. 5895-5902, 2009b.

NEGREIRA, N.; RODRÍGUEZ, I. ; RUBÍ, E.; CELA, R. Optimization of pressurized liquid extraction and purification conditions for gas chromatography-mass spectrometry determination of UV filters in sludge. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 2, p. 211-217, 2011.

NGUYEN, K. T. N.; SCAPOLLA, C.; DI CARRO, M.; MAGI, E. Rapid and selective determination of UV filters in seawater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with stir bar sorptive extraction. **Talanta**, v. 85, n. 5, p. 2375-2384, 2011.

OKANOUCHI, N.; HONDA, H.; ITO, R.; KAWAGUCHI, M.; SAITO, K.; NAKAZAWA, H. Determination of benzophenones in river-water samples using drop-based liquid phase microextraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Sciences**, v. 24, n. 5, p. 627-630, 2008.

PASSEPORT, E.; GUENNE, A.; CULHAOGLU, T.; MOREAU, S.; BOUYÉ, J.; TOURNEBIZE, J. Design of experiments and detailed uncertainty analysis to develop and validate a solid-phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry method for the simultaneous analysis of 16 pesticides in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 33, p. 5317-5327, 2010.

PEDROUZO, M.; BORRULL, F.; MARCÉ, R. M.; POCURULL, E. Ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determining the presence of eleven personal care products in surface and wastewaters. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 42, p. 6994-7000, 2009.

PEDROUZO, M.; BORRULL, F.; MARCÉ, R. M.; POCURULL, E. Analytical methods for personal-care products in environmental waters. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 5, p. 749-760, 2011.

POIGER, T.; BUSER, H.-R.; BALMER, M. E.; BERGQVIST, P.-A.; MULLER, M. D. Occurrence of UV filter compounds from sunscreens in surface waters: regional mass balance in two Swiss lakes. **Chemosphere**, v. 55, n. 7, p. 951-963, 2004.

POOLE, C. F. Matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1/2, p. 241-250, 2007.

RICHARDSON, S. D. Water analysis: emerging contaminants and current issues **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 12, p. 4645-4677, 2009.

RODIL, R.; MOEDER, M. Development of a method for the determination of UV filters in water samples using stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1179, n. 2, p. 81-88, 2008.

RODIL, R.; SCHRADER, S.; MOEDER, M. Non-porous membrane-assisted liquid liquid extraction of UV filter compounds from water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 24, p. 4887-4894, 2009.

RODIL, R.; QUINTANA, J. B.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; PRADA-RODRÍGUEZ, D. Multiclass determination of sunscreen chemicals in water samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 4, p. 1307-1315, 2008.

ROZET, E.; CECCATO, A.; HUBERT, C.; ZIEMONS, E.; OPREAN, R.; RUDAZ, S.; BOULANGER, B.; HUBERT, P. Analysis of recent pharmaceutical regulatory documents on analytical method validation. **Journal of Chromatography A**, v. 1158, n. 1/2, p. 111-125, 2007.

ROZET, E.; MARINI, R. D.; ZIEMONS, E.; BOULANGER, B.; HUBERT, P. H. Advances in validation, risk and uncertainty assessment of bioanalytical methods **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 4, p. 848-858, 2011.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; ALBERO, B.; TADEO, J. L. Analysis of salicylate and benzophenone-type UV filters in soils and sediments by simultaneous extraction cleanup and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 28, p. 4291-4298, 2011.

SÃO CARLOS. **Localização de São Carlos em São Paulo**. In: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. 1 mapa, color. Disponível em: <[http://pt.wikipedia.org/wiki/S%C3%A3o\\_Carlos\\_%28S%C3%A3o\\_Paulo%29](http://pt.wikipedia.org/wiki/S%C3%A3o_Carlos_%28S%C3%A3o_Paulo%29)>. Acesso em: 02 jun. 2014.

SERVIÇO AUTÔNOMO DE ÁGUA E ESGOTO DE SÃO CARLOS. **Estação de tratamento de água**. São Carlos, 2009. Disponível em: <<http://www.saesocarlos.com.br/index.php/eta>>. Acesso em: 17 jun. 2014.

SIGMA ALDRICH. **Ethylhexyl salicylate**. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w514500?lang=pt&region=BR>>. Acesso em: 05 jun. 2014a.

SIGMA ALDRICH. **Octocrylene**. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/fluka/02343?lang=pt&region=BR>>. Acesso em: 05 jun. 2014b.

SIGMA ALDRICH. **Benzyl cinnamate**. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/234214?lang=pt&region=BR>>. Acesso em: 05 jun. 2014c.

SIGMA ALDRICH. **Ficha de informações de segurança de produtos químicos**. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=BR&language=pt&productNumber=471178&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fsearch%3Finterface%3DCAS%2520No.%26term%3D22583-75-1%26N%3D0%2B%26mode%3Dpartialmax%26focus%3Dproduct%26lang%3Dpt%26region%3DBR>>. Acesso em: 05 jun. 2014d.

SINGTOROJ, T.; TARNING, J.; ANNERBERG, A.; ASHTON, M.; BERGQVIST, Y.; WHITE, N. J.; LINDEGARDH, N.; DAY, N. P. J. A new approach to evaluate regression models during validation of bioanalytical assays. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, n. 1, p. 219-227, 2006.

SVENNBERG, H.; BERGH, S.; STENHOFF, H. Factorial design for the development of automated solid-phase extraction in the 96-well format for determination of tesaglitazar, in plasma, by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v.787, n. 2, p. 231-241, 2003.

TARAZONA, I.; CHISVERT, A.; LEÓN, Z.; SALVADOR, A. Determination of hydroxylated benzophenone UV filters in sea water samples by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 29, p. 4771-4778, 2010.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338-350, 2006.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. R. L.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.

THURMAN, E. M.; MILLS, M. S. **Solid-phase extraction: principles and practice**. New York Wiley, 1998. 344 p.

TRABIJU. **Localização de Trabiju em São Paulo**. In: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. 1 mapa, color. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Trabiju>>. Acesso em: 02 jun. 2014.

TUCHINDA, C.; LIM, H. W.; OSTERWALDER, U.; ROUGIER, A. Novel emerging sunscreen technologies. **Dermatologic Clinics**, v. 24, n. 1, p. 105-117, 2006.

U. S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES; FOOD AND DRUG ADMINISTRATION; CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH; CENTER FOR VETERINARY MEDICINE. **Guidance for industry: bioanalytical method validation**. Rockville, 2001. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070107.pdf>>. Acesso em: 04 jul. 2014.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Instituto de Química. **Gerenciamento de resíduos químicos normas gerais – revisão 2002**. Versão 2002. Araraquara, 2002. Disponível em: <<http://www.iq.unesp.br/Home/normas-residuos.pdf>>. Acesso em: 05 set. 2014.

VÉKEY, K. J. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 921, n. 2, p. 227-236, 2001.

VERENITCH, S. S.; LOWE, C. J.; MAZUMDER, A. Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography ion trap tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1116, n. 1/2, p. 193-203, 2006.

VIDAL, J. L. M.; ARREBOLA, F. J.; MATEU-SÁNCHEZ, M. J. Application of gas chromatography-tandem mass spectrometry to the analysis of pesticides in fruits and vegetables. **Journal of Chromatography A**, v. 959, n. 1/2, p. 203-213, 2002.

VOSOUGH, M.; MOJDEHI, N. R. Fast liquid chromatography-diode array detection assisted by chemometrics for quantification of seven ultraviolet filters in effluent wastewater. **Talanta**, v. 85, n. 4, p. 2175-2181, 2011.

WU, J.-W.; CHEN, H.-C.; DING, W.-H. Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction plus simultaneous silylation for rapid determination of salicylate and benzophenone-type ultraviolet filters in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1303, p. 20-27, 2013.

ZENKER, A.; SCHMUTZ, H.; FENT, K. Simultaneous trace determination of nine organic UV absorbing compounds (UV filters) in environmental samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1202, n. 1, p. 64-74, 2008.

ZHANG, P.-P.; SHI, Z.-G.; YU, Q.-W.; FENG, Y.-Q. A new device for magnetic stirring-assisted dispersive liquid-liquid microextraction of UV filters in environmental water samples. **Talanta**, v. 83, n. 5, p. 1711-1715, 2011.

ZHANG, H.; LEE, H. K. Simultaneous determination of ultraviolet filters in aqueous samples by plunger-in-needle solid-phase microextraction with graphene-based sol-gel coating as sorbent coupled with gas chromatography-mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 742, n. 12, p. 67-73, 2012.

ZHANG, Y.; LEE, H. K. Determination of ultraviolet filters in environmental water samples by temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1271, n. 1, p. 56-61, 2013.

## APÊNDICES

**APÊNDICE A – Parâmetros de regressão da curva de calibração ( $y=ax+b$ ) gerada para os peso (W) estudados e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o ES, BP-3, EHMC e OC respectivamente.**

**Tabela 27 - Parâmetros de regressão da curva de calibração ( $y=ax+b$ ) gerada para cada peso (W) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o ES.**

ES					
Modelo	Wi	a**	b***	r****	$\sum ER\%$
1	1*	0,0288	2,2911	09954	-476
2	$\frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$	0,0321	1,0877	0,9977	20
3	$\frac{1}{y^{0.5}}$	0,0306	0,5474	09953	301
4	$\frac{1}{y}$	0,0318	0,2493	0,9951	393
5	$\frac{1}{y^2}$	0,0372	0,0930	0,9958	291
6	$\frac{1}{x^{0.5}}$	0,0311	0,1269	0,9953	469
7	$\frac{1}{x}$	0,0308	0,1660	0,9952	464
8	$\frac{1}{x^2}$	0,0545	0,0013	0,9967	0

\* não ponderado; \*\* coeficiente angular; \*\*\* coeficiente linear; \*\*\*\* coeficiente de correlação.

**Tabela 28** - Parâmetros de regressão da curva de calibração ( $y=ax+b$ ) gerada para cada peso ( $W$ ) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o BP-3.

BP-3					
Modelo	Wi	a**	b***	r****	$\sum ER\%$
1	1*	0,0483	-0,2487	0,9991	-36
2	$\frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$	0,0336	-0,1562	0,9116	247
3	$\frac{1}{y^{0.5}}$	0,0484	-0,3162	0,9985	-13
4	$\frac{1}{y}$	0,0477	-0,2675	0,9940	-20
5	$\frac{1}{y^2}$	0,0348	-0,0108	0,9326	137
6	$\frac{1}{x^{0.5}}$	0,0482	-0,0465	0,9986	-185
7	$\frac{1}{x}$	0,0478	-0,0072	0,9961	-118
8	$\frac{1}{x^2}$	0,0406	-0,0001	0,9627	0

\* não ponderado; \*\* coeficiente angular; \*\*\* coeficiente linear; \*\*\*\* coeficiente de correlação.

**Tabela 29** - Parâmetros de regressão da curva de calibração ( $y=ax+b$ ) gerada para cada peso ( $W$ ) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o EHMC.

EHMC					
Modelo	Wi	a**	b***	r****	$\sum ER\%$
1	1*	0,0223	1,2692	0,9955	-261
2	$\frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$	0,0245	0,1776	0,9740	49
3	$\frac{1}{y^{0.5}}$	0,0233	0,2815	0,9949	51
4	$\frac{1}{y}$	0,0241	0,1151	0,9935	84
5	$\frac{1}{y^2}$	0,0260	0,0417	0,9795	47
6	$\frac{1}{x^{0.5}}$	0,0237	0,0440	0,9948	119
7	$\frac{1}{x}$	0,0246	0,0037	0,9932	103
8	$\frac{1}{x^2}$	0,0282	0,0001	0,9779	0

\* não ponderado; \*\* coeficiente angular; \*\*\* coeficiente linear; \*\*\*\* coeficiente de correlação.

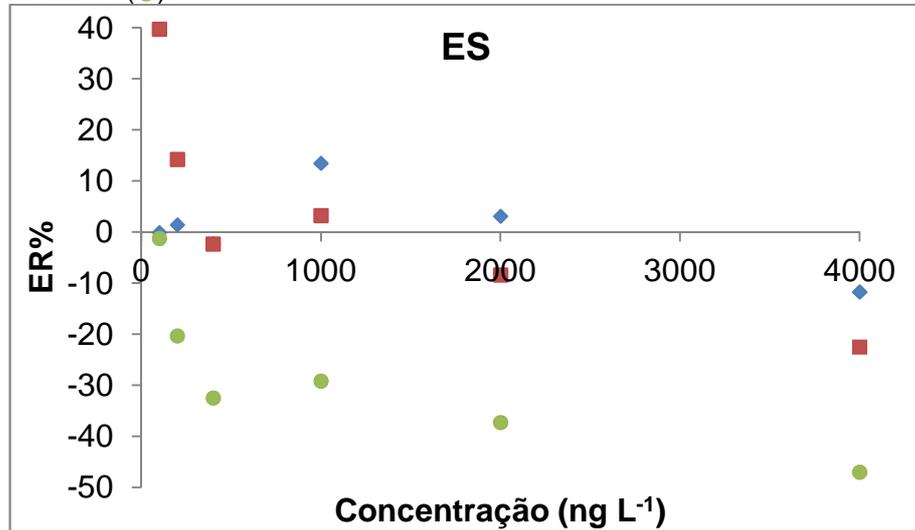
**Tabela 30** - Parâmetros de regressão da curva de calibração ( $y=ax+b$ ) gerada para cada peso ( $W$ ) e as respectivas somas dos erros relativos ( $\sum ER\%$ ) para o OC.

OC					
Modelo	Wi	a**	b***	r****	$\sum ER\%$
1	1*	0,0133	1,2121	0,9937	-328
2	$\frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2} / n}$	0,0163	0,4134	0,9912	-13
3	$\frac{1}{y^{0.5}}$	0,0142	0,4054	0,9934	97
4	$\frac{1}{y}$	0,0148	0,2322	0,9924	156
5	$\frac{1}{y^2}$	0,0173	0,1257	0,9894	78
6	$\frac{1}{x^{0.5}}$	0,0146	0,0522	0,9932	263
7	$\frac{1}{x}$	0,0155	0,0052	0,9920	231
8	$\frac{1}{x^2}$	0,0207	0,0001	0,9895	0

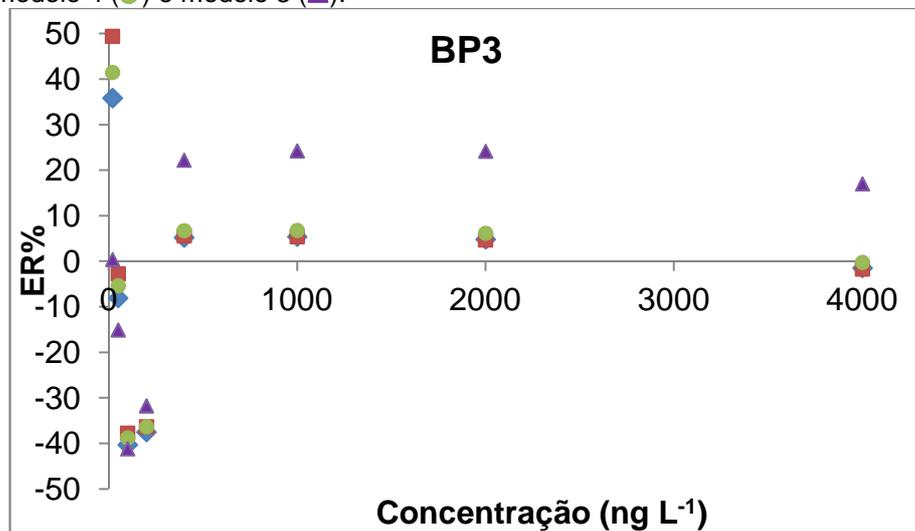
\* não ponderado; \*\* coeficiente angular; \*\*\* coeficiente linear; \*\*\*\* coeficiente de correlação.

## APÊNDICE B – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração

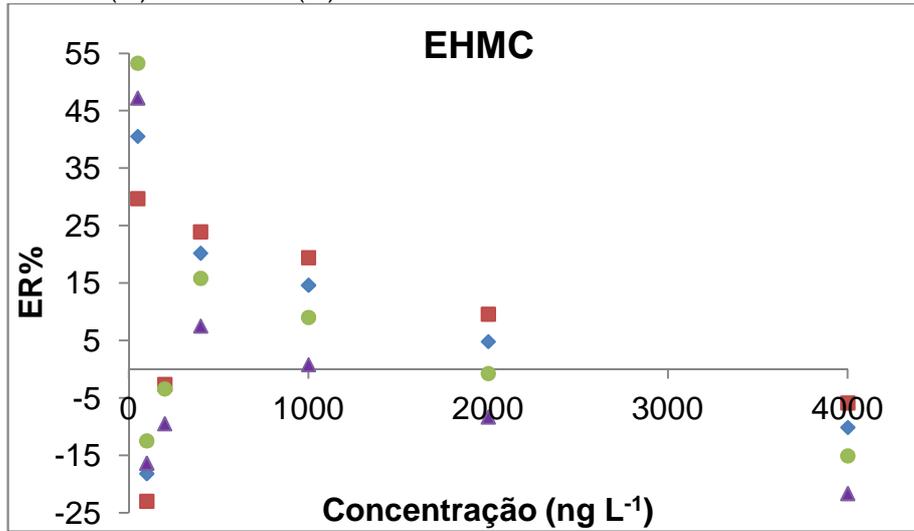
**Figura 36** – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 2 (◆), modelo 5 (■) e modelo 8 (●).



**Figura 37** – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 1 (◆), modelo 3 (■), modelo 4 (●) e modelo 8 (▲).



**Figura 38** – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 2 (◆), modelo 3 (■), modelo 5 (●) e modelo 8 (▲).



**Figura 39** – Percentagem do erro relativo (ER%) versus concentração obtida para o modelo 2 (◆), modelo 3 (■), modelo 5 (●) e modelo 8 (▲).

