

**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
(CEFET-MG)**

Saymiton Goularte dos Reis Vitório

**CONTAMINANTES EMERGENTES: ORIGEM E EFEITOS DOS
DIRUPTORES ENDÓCRINOS PARA O AMBIENTE E METODOLOGIAS
PARA SUA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO**

Belo Horizonte (MG)

2023

Saymiton Goularte dos Reis Vitório

**CONTAMINANTES EMERGENTES: ORIGEM E EFEITOS DOS
DIRUPTORES ENDÓCRINOS PARA O AMBIENTE E METODOLOGIAS
PARA SUA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado como
requisito parcial para a obtenção do título de
Bacharel em Química Tecnológica.**

Orientador: Prof.(a) Dr. Ildefonso Binatti.

CEFET-MG

Belo Horizonte (MG)

2023

Saymiton Goularte dos Reis Vítório

**CONTAMINANTES EMERGENTES: ORIGEM E EFEITOS DOS
DIRUPTORES ENDÓCRINOS PARA O AMBIENTE E METODOLOGIAS
PARA SUA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO**

**Trabalho de conclusão de curso do Bacharelado em Química
Tecnológica
CEFET-MG**

Belo Horizonte, 2023

**Dr. Ildfonso Binatti
(orientador – CEFET-MG)**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo fôlego de vida e pelas oportunidades até o momento. Agradeço a minha família pelo suporte na minha trajetória profissional. Agradeço aos colegas pelos momentos de lazer e aos professores pela dedicação, paciência e ensinamentos. Agradeço ao CEFET-MG pela infraestrutura dos laboratórios e pela qualidade do ensino.

RESUMO

Este é um trabalho de revisão bibliográfica, na qual é apresentado a definição do que se trata contaminantes emergentes, são apresentados os locais mais propensos de serem expostos com esses contaminantes. Neste trabalho é dado o enfoque para a subclasse denominada disruptores endócrinos, sendo apresentado a definição do termo. Dentro deste grupo existem os hormônios sexuais que são exemplificados neste trabalho, sendo apresentadas as causas e consequências de sua exposição para os seres humanos. É apresentado alguns métodos analíticos que podem ser utilizados para identificar e quantificar essas substâncias. É apresentado uma sugestão de metodologia de análise de hormônios com base em trabalhos acadêmicos.

Palavras-chave: Disruptores endócrinos, contaminantes emergentes, fármacos, hormônios

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Fórmula estrutural do DDT

Figura fluxograma 2 Principais rotas de alguns contaminantes desde sua origem até a água potável.

Figura 3 Fórmula estrutural básica dos isômeros da triazina

Figura 4 Ilustração do mecanismo de mimetização utilizado por desreguladores endócrinos no meio intracelular

Figura 5 Fórmula estrutural do Bisfenol A

Figura 6 Fórmula estrutural Organoestanho

Figura 7 Fórmula estrutural do nonilfenol, exemplo de alquifenol

Figura 8 Fórmula estrutural geral da classe bifenilas policloradas

Figura 9 Fórmula estrutural do fenantreno, um exemplo de hidrocarboneto policíclico aromático

Figura 10 Fórmula estrutural genérica de um retardante de chama bromado

Figura 11 Fórmula estrutural de uma dioxina

Figura 12 Fórmula estrutural de um exemplo de furano

Figura 13 Rotas de exposição de desreguladores endócrinos

Figura 14 Estrutura básica de um esteroide

Figura 15 Numeração dos carbonos na estrutura central de um esteroide

Figura 16 Fórmula estrutural dos estrógenos produzidos pelo ovário

Figura 17 Estruturas enantioméricas do estradiol

Figura 18 A testosterona é a estrutura utilizada como base para produção do estradiol nos homens, como representado abaixo.

Figura 19 Fórmulas estruturais do LH e FSH

Figura 20 Representação gráfica do ciclo menstrual

Figura 21 Fórmula estrutural do estrógeno dietilestilbestrol (DES).

Figura 22 Fórmula estrutural do estrógeno sintético α -etinilestradiol

Figura 23 fluxograma ilustrativo dos componentes do equipamento de cromatografia gasosa (GC).

Figura 24 Influência do tempo de resposta do detector na constante de tempo no CG

Figura 25 Elementos que constituem o espectrômetro de massas

Figura 26 Ilustração da eluição de dois componentes na coluna, de modo que cada um terá fatores de retenção diferentes dependendo do nível de interação intermolecular com a coluna.

Figura 27 Imagem ilustrativa dos componentes do equipamento de cromatografia líquida.

Figura 28 Componentes do UV-VIS e DAD

Figura 29 Ilustração esquemática da fonte de íons *eletrospray* acoplado a um ESI-MS/MS.

Figura 30 Ilustração da montagem do sistema de extração em fase líquida descontínua

Figura 31 Duas configurações de microextração em fase líquida, uma configuração em forma de “U” e outra configuração na forma de haste

Figura 32 Ilustração da metodologia de extração em fase sólida

Figura 33 Etapas da extração em fase sólida

Figura 34 Condições recomendadas para análise de hormônios por GC-MS

Figura 35 Esquema sequencial da metodologia de microextração em fase sólida SPME de headspace (HS-SPME) à direita e microextração em fase sólida SPME direta à esquerda (DI-SPME).

Figura 36 Reação de substituição nucleofílica S_N2 de sililação aplicada para estrógenos

Figura 37 Derivatização do estradiol

Figura 38 Reação de derivatização em duas etapas na estrutura do estradiol

Figura 39 Uso do derivatizante *Amplifex Diene* para inserção no estradiol com o objetivo de análise no *ESI-Positive LC-MS/MS*

Figura 40 Derivatização do estradiol com o uso do derivatizante DMIS

Figura 41 Outros derivatizantes que podem ser aplicados para o estradiol na análise LC-MS/MS

Figura 42 Resumo das condições de análise de amostras de hormônios utilizando LC-MS

Figura 43 Mapa de 2018 a 2019 do Sistema de Informação de Vigilância de Qualidade da Água para Consumo Humano (SISAGUA).

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Excreção em microgramas *per capita* por homens e mulheres

TABELA 2 Correlação das classes de substâncias com os métodos recomendáveis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- GC-ECD - Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons. Do Inglês *Gas chromatography with electron capture detector*.
- GC-NPD - Cromatografia gasosa com detector de nitrogênio-fósforo. Do Inglês *Gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector*.
- GC-MS - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Do Inglês *Gas chromatography coupled to mass spectrometry*.
- GC-MS/MS - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas sequencial. Do Inglês *Gas chromatography coupled to sequential mass spectrometry*.
- HPLC-FLD - Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência. Do Inglês *High performance liquid chromatography with fluorescence detector*.
- HPLC-UV - Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta. Do Inglês *High performance liquid chromatography with ultraviolet detector*.
- HRGC-ECD - Cromatografia gasosa de alta resolução com detector de captura de elétrons. Do Inglês *High resolution gas chromatography with electron capture detector*.
- LC-MS/MS - Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas sequencial. Do Inglês *Liquid chromatography coupled to sequential mass spectrometry*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. OBJETIVOS GERAIS.....	3
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
2. DESENVOLVIMENTO.....	3
2.1. METODOLOGIA DE CONSTRUÇÃO DO TEXTO BIBLIOGRÁFICO.....	3
2.2. CONTAMINANTES EMERGENTES	4
2.3. DISRUPTORES ENDÓCRINOS.....	6
2.4. HORMÔNIOS ESTERÓIDES	11
2.4.1 CICLO MENSTRUAL	14
2.4.2 INFLUÊNCIA DE HORMÔNIOS EXÓGENOS NO ORGANISMO FEMININO	17
3. MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO	20
3.1 CROMATOGRAFIA GASOSA (CG).....	21
3.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA (CL).....	24
4. METODOLOGIAS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE CROMATOGRÁFICA.....	27
4.1. EXTRAÇÃO EM FASE LÍQUIDA	27
4.2. MICROEXTRAÇÃO EM FASE LÍQUIDA	28
4.2.1 METODOLOGIA DE PREPARO DE AMOSTRAS DE HORMÔNIOS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE LÍQUIDA.....	30
4.3. EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA	30
4.3.1 METODOLOGIA DE PREPARO DE AMOSTRAS DE HORMÔNIOS POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA	32
4.4. MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA	33
4.4.1 METODOLOGIA DE PREPARO DE AMOSTRAS DE HORMÔNIOS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA	35
5. METODOLOGIA DE DERIVATIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE HORMÔNIOS	36
6. APLICAÇÃO DA CROMATOGRAFIA NA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DIRUPTORES ENDÓCRINOS	39
7. LEGISLAÇÃO.....	43
7.1 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA.....	43

7.1.1 CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA).....	43
7.1.2 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA)	44
7.2 LEGISLAÇÕES NO EXTERIOR.....	46
8. CONCLUSÃO.....	47
9. REFERÊNCIAS	48

1. INTRODUÇÃO

Contaminantes emergentes são substâncias de origem antrópica que não podem ser removidos com o uso de tecnologias tradicionais. Com relação as tecnologias tradicionais utilizadas nas estações de tratamento de água, podem ser citadas: processos químicos de tratamento, tratamento biológico, biorreator de membrana, flotação, membranas de filtração; dessas tecnologias a mais promissora para separação de contaminantes emergentes são as membranas de filtração; porém não há uma garantia que essa tecnologia com o uso de membrana seja eficaz para remoção de todos os contaminantes emergentes, com base nos dados acadêmicos atuais. O termo contaminante emergente (CE) foi registrado pela primeira vez pela bióloga estadunidense Rachel Carson (1907 - 1964), que foi acusada de pseudocientista ao publicar o livro Primavera Silenciosa em 1962. Em seu trabalho, Rachel pontuava a respeito dos riscos do uso indiscriminado de agrotóxicos nos Estados Unidos [56][40][41]. A principal preocupação da comunidade acadêmica neste tema se deve aos resultados experimentais obtidos, evidenciando que essas substâncias são capazes de resistirem a determinados tipos de tratamento e, mesmo em baixas concentrações, podem prejudicar seriamente o ecossistema, bem como a saúde humana [46][47][48][57].

No caso de contaminantes emergentes presentes na água e esgoto, os tratamentos convencionais não apresentam eficiência de remoção. Com relação as tecnologias usuais para o tratamento de esgoto, existem: processos com biomassa aeróbica granular, membranas filtrantes de água, medidores da qualidade da água, entre outros. Destas tecnologias a mais promissora é a de membranas filtrantes, porém sem garantia de eficiência de remoção de todos contaminantes. No caso desses contaminantes presentes solo, água da chuva pode permear o solo e carrear os contaminantes conduzindo-os para os lenções freáticos [49][50]. As principais classes de contaminantes emergentes que apresentam maior notoriedade, devido a sua periculosidade, são os medicamentos, inseticidas, produtos de limpeza e de higiene pessoal, protetores solares, produtos de cloração e ozonização de águas, entre outros, totalizando mais de mil compostos [1][5][57].

Algumas dessas substâncias apresentam a capacidade de interferirem na síntese, na secreção, no transporte de hormônios, sendo conhecidas como disruptores endócrinos (DE). Alguns disruptores são usados como: solventes industriais (bifenilas policlorados), dioxinas; plásticos (bisfenol A – BPA, ftalatos); pesticidas (metoxicloro, cloropirifos, diclorodifeniltricloroetano – DDT); fungicidas (vinclozolina), medicamentos (dietilestilbestrol

– DES, claritromicina, ciprofloxacina, codeína, ofloxacina, tetraciclina) e conservantes (parabenos); íons de metais tóxicos (chumbo, mercúrio); produtos de construção (produtos químicos em isolantes); produtos de origem têxtil (perfluoroquímicos); hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's); surfactantes alquilfenóis e seus etoxilados (APEO)[58]. O fato de serem substâncias capazes de provocarem alterações hormonais configura-se um problema com grande tendência de causar grandes alterações nas futuras gerações, caso não sejam realizadas medidas visando a substituição, sua eliminação ou remoção em âmbito de não causarem malefícios [5][27][28][29][30].

Dentro deste subgrupo dos DE foram priorizados aqueles que são capazes de causarem distúrbios e alterações relacionadas ao dimorfismo sexual de animais e seres humanos, tais como hormônios e pesticidas. Existem algumas metodologias analíticas capazes de identificar e quantificar alguns disruptores endócrinos. Entretanto, para que possa ser realizada a extração e pré-concentração do analito presente em matrizes simples (água) e complexas (tecidos de seres vivos). A etapa de preparo de amostra é essencial para que os equipamentos de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e de cromatografia em fase gasosa (CG) sejam capazes de identificá-los e quantificá-los com a exatidão e precisão adequadas [59].

1.1. OBJETIVOS GERAIS

Realizar uma revisão bibliográfica a respeito de contaminantes emergentes, com ênfase nos disruptores endócrinos, abordando sua origem e seus efeitos no meio ambiente através da citação de trabalhos acadêmicos. Especificar nos disruptores: seus principais efeitos no meio ambiente, quais são as principais fontes de contaminação desses compostos. Abordar métodos analíticos de preparo de amostras. Abordar o que é preconizado por algumas legislações brasileiras e do exterior acerca do tema.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elencar os principais efeitos do DE no ambiente e em seres humanos.
- Apresentar as principais técnicas instrumentais, com o princípio de cada uma, para a identificação e quantificação dos DE.
- Analisar a legislação brasileira e do exterior acerca do tema e destacar os principais pontos no texto da revisão.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. METODOLOGIA DE CONSTRUÇÃO DO TEXTO BIBLIOGRÁFICO

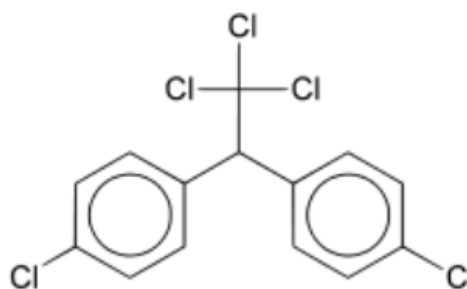
Este trabalho foi construído com o uso de pesquisa em alguns endereços eletrônicos como o Google acadêmico, na qual por meio desta plataforma foi possível ter acesso a alguns trabalhos acadêmicos como periódicos, artigos científicos, trabalhos de conclusão de curso, teses de mestrado e doutorado. As principais palavras e frases que foram utilizadas para pesquisa foram: “contaminantes emergentes”, “disruptores endócrinos”, “hormônios sexuais”, “uso de cromatografia líquida para análise de disruptores endócrinos”, “uso de cromatografia gasosa para análise de disruptores endócrinos”, “preparo de amostras de disruptores endócrinos para análise cromatográfica”, “tecnologias usuais para análise de água no Brasil”, “tecnologias usuais de análise de esgoto no Brasil”, “legislações brasileiras vigentes para análise de efluentes”, “legislações no exterior para análise de efluentes”. Foi notório uma certa limitação de fontes de informação para pesquisas realizadas no idioma Português, nesse sentido com intuito de aumentar o número de fontes foram realizadas algumas pesquisas no idioma Inglês, sendo que algumas poucas pesquisas foram feitas no idioma Espanhol. A seleção de referências

foi realizada dando maior prioridade para aquelas que eram mais recentes e que continham maior riqueza de detalhes com relação as respectivas definições dos termos e com relação as respectivas descrições de metodologias analíticas que apresentaram resultados mais relevantes para o tema, com o uso de gráficos e tabelas. As principais contribuições para construção dos tópicos de metodologias analíticas, da descrição do preparo de amostras, da descrição de causas e dos efeitos da exposição de seres humanos aos disruptores endócrinos foram obtidas através de pesquisas feitas em Inglês. Não houve limitação de pesquisa com base nas respectivas datas de publicação dos trabalhos acadêmicos.

2.2. CONTAMINANTES EMERGENTES

Contaminantes emergentes (CE) são substâncias de origem antrópica que apresentam certo nível de toxicidade e que não podem ser removidas do meio ambiente com o uso de metodologias tradicionais de tratamento de água e esgoto. Os medicamentos, inseticidas, produtos de limpeza e de higiene pessoal, protetores solares, produtos de cloração e ozonização de águas, configuram-se entre as classes mais citadas em trabalhos acadêmicos. Alguns destes contaminantes são enquadrados nas classes de pesticidas e hormônios. Desde 1940, houve um aumento considerável no número e abundância de produtos químicos produzidos, alguns dos quais foram descartados inapropriadamente no meio ambiente [1]. Essa atividade antrópica mudou irreversivelmente os ecossistemas de maneira que houve graves impactos na vida selvagem e na saúde humana. O livro *Silent Spring* (Primavera Silenciosa) de Rachel Carson, publicado em 1962, foi a primeira advertência pública de que a contaminação ambiental, em particular do pesticida dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), poderia ser responsável pela redução no número de aves, devido às falhas reprodutivas causadas por este composto [1]. Está ilustrado na Figura 1 abaixo a fórmula estrutural do DDT, na qual é possível perceber em sua estrutura dois anéis aromáticos e cinco átomos de cloro (Cl).

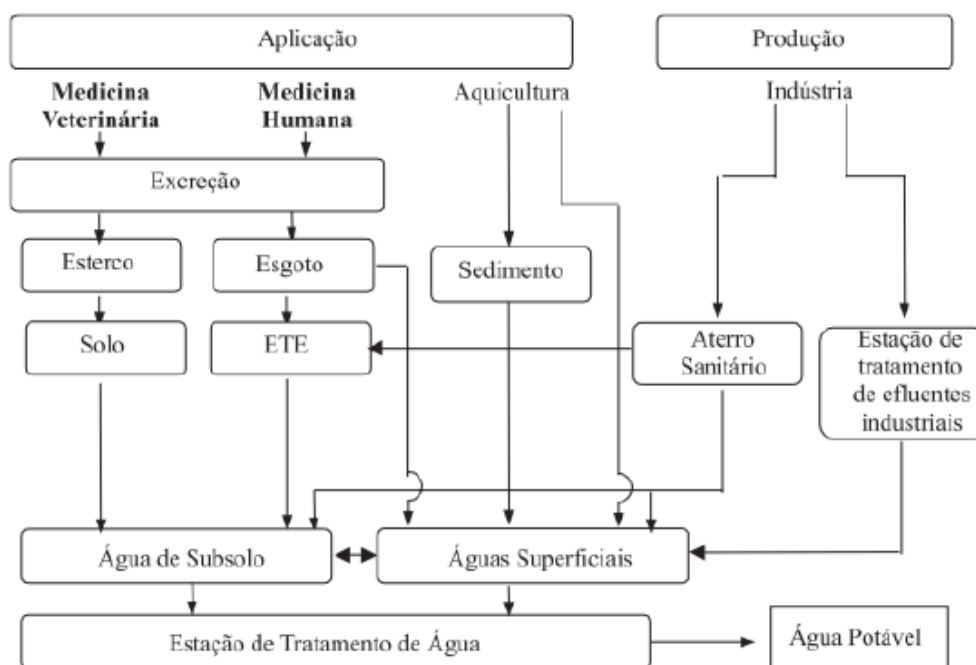
Figura 1 Fórmula estrutural do DDT



Fonte: [74]

Atualmente vários efeitos estão relacionados à exposição crônica a esses compostos que ocorrem em concentrações baixíssimas, principalmente em matrizes aquáticas, na ordem de ng/L a pg/L, de modo que seja ainda mais complexa a análise de avaliação de risco [57][2][3][4]. Os CE podem ser identificados em áreas urbanas ou rurais, podendo serem identificados em resíduos ou subprodutos derivados de usos industriais. Podem ser encontrados no lixo, contaminando solo, mananciais de água para abastecimento público e pela queima de resíduos hospitalares e industriais. Com base no que está ilustrado na figura 2 abaixo é possível observar que o setor industrial apresenta grande influência em outros ramos do fluxograma, como apresentado abaixo. Os setores de Medicina Veterinária, de Medicina Humana e Aquicultura também apresentam fontes de exposição aos contaminantes emergentes, como ilustrado abaixo, de modo que intervenções de tratamento mais sofisticadas podem apresentar relevância para o contexto de evitar possíveis alterações no ambiente [1]. Figura 2, abaixo, estão apresentadas as principais fontes de contaminação.

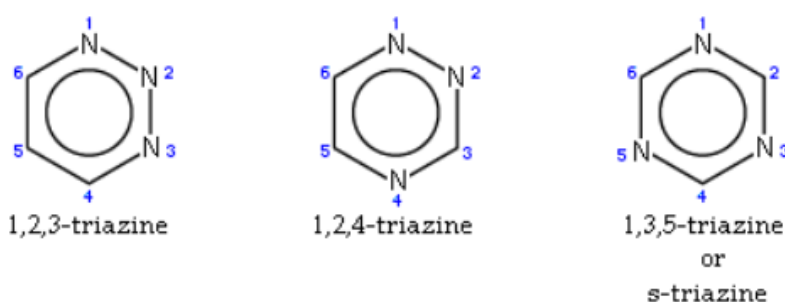
Figura fluxograma 2 Principais rotas de alguns contaminantes desde sua origem até a água potável.



Fonte: [49].

No Brasil, as pesquisas relacionadas a esses compostos iniciaram em 1995 com os trabalhos de Lanchote e colaboradores identificando nos pesticidas a classe das triazinas no Córrego Espreado localizado na região de Ribeirão Preto (SP) [1]. A classe das triazina refere-se a compostos orgânicos que apresentam como fórmula molecular básica $C_3H_3N_3$, existem três isômeros, como apresentado na Figura 3 abaixo.

Figura 3 Fórmula estrutural básica dos isômeros da triazina



Fonte: [78]

Após este ano de 1995, diversos trabalhos foram feitos com o interesse em estudar a presença dessas substâncias em diferentes matrizes aquáticas como águas superficiais, água tratada para o consumo humano e esgoto no Brasil. O Brasil apresenta uma extensa área territorial, na qual existem diferentes tipos de disparidades sociais, sendo que a desigualdade de acesso de água e esgoto tratado é relevante no contexto deste trabalho para explicar a relação entre os diferentes níveis de exposição da população com base em sua localidade [1].

2.3. DISRUPTORES ENDÓCRINOS

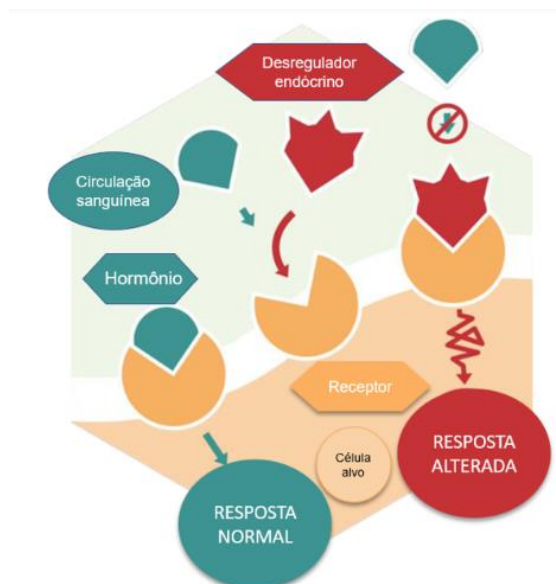
Dentro do grupo de contaminantes emergentes, existem os disruptores endócrinos (DE) que podem ser classificados como substâncias exógenas ao corpo humano e que apresentam a capacidade de interferirem na síntese, na secreção e no transporte de hormônios [1].

Diversas vias metabólicas são reguladas pelo sistema endócrino, através de mensageiros químicos que são capazes de interagir com receptores celulares e outras moléculas orgânicas presentes na corrente sanguínea. Um interferente endócrino pode mimetizar hormônios naturais e interferir no sistema de mensagens de diversas formas: bloqueando sítios receptores ou a formação de mais receptores, e enzimas, estimulando a síntese e a secreção de hormônios naturais, afetando o metabolismo [50]. Na figura abaixo é possível observar uma interface que

separa o meio intracelular do meio extracelular. Essa interface é a membrana plasmática, na qual estão localizados os receptores celulares.

Conforme pode ser observado na Figura 4, está ilustrado no meio extracelular os hormônios produzidos pelo organismo e os desreguladores endócrinos obtidos através de alguma fonte de contaminação, nessa imagem é possível observar que um desregulador endócrino é capaz de se ligar em um desses receptores impedindo a ligação de um hormônio produzido pelo organismo, gerando como consequência uma resposta alterada. Esta resposta alterada pode sinalizar modificações em diferentes níveis de potencialidade dependendo de qual receptor foi bloqueado. Na Figura 4 está ilustrado o mecanismo de mimetização.

Figura 4 Ilustração do mecanismo de mimetização utilizado por desreguladores endócrinos no meio intracelular



Fonte: [75].

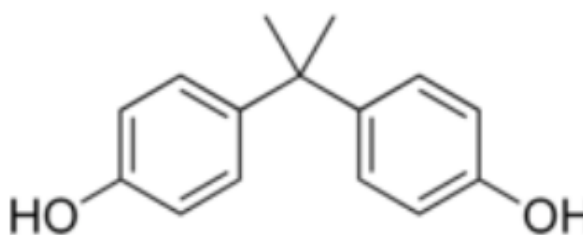
A preocupação da comunidade acadêmica com relação aos riscos de exposição aos desreguladores endócrinos é relativamente recente, com base nas datas de publicação dos trabalhos correlatos. Inúmeras agências de saúde pública, incluindo a Organização Mundial de Saúde (OMS), as Nações Unidas e o Programa Nacional de Toxicologia dos EUA, expressam preocupação sobre os efeitos dos disruptores endócrinos no cérebro e sobre o comportamento. A prevalência dos transtornos neuro-psiquiátricos na infância tende a aumentar, sendo que nos EUA uma em cada seis crianças é diagnosticada com pelo menos um distúrbio. Estes distúrbios incluem os transtornos de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) e transtorno do espectro do autismo, do Inglês *autism spectrum disorder* (ASD), bem como a depressão e outros

transtornos de humor, dificuldades de aprendizagem, *déficits* de ordem executiva e transtornos de conduta. Há evidências de distúrbios associados ao neurodesenvolvimento, coeficiente de inteligência (QI) reduzido e a problemas de atenção, memória e de habilidades motoras finas, tais como escrita [10][11][12][13].

Dentre os disruptores endócrinos sintéticos, podemos destacar os contraceptivos, que estão relacionados a contracepção feminina, ao tratamento de reposição hormonal e as drogas de aplicação veterinária. Podemos destacar, ainda, os xenoestrogênios que são conhecidos por serem substâncias que não são produzidas pelo corpo humano, não apresentam estrutura química esteroideal, porém quando inseridos no corpo humano podem apresentar um comportamento bioquímico parecido ao estrogênio, hormônio importante para o pleno funcionamento do organismo feminino, principalmente para a sua função reprodutiva [6][7][8][9].

Os xenoestrogênios podem ter sua origem natural ou sintética. O bisfenol A (BPA) é um exemplo de xenoestrogênio que é obtido industrialmente. Este composto é um monômero de policarbonato, que serve para fabricação de plásticos rígidos e transparentes, tais como os recipientes de alimentos e bebidas, como mamadeiras, embalagens plásticas e copos infantis [15]. Na Figura 5 abaixo está ilustrado a fórmula molecular do bisfenol A.

Figura 5 Fórmula estrutural do Bisfenol A



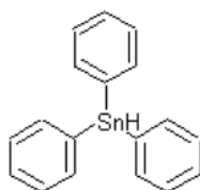
Fonte: [84]

Alguns trabalhos apresentam resultados que corroboram para a relação causal entre a exposição pelo corpo humano com os xenoestrogênios e o aumento na incidência da puberdade precoce. Os xenoestrogênios foram inseridos no meio ambiente em grande medida por empresas industriais, agrícolas e químicas e consumidores nos últimos setenta anos aproximadamente. A maioria dos pesquisadores que estudam os xenoestrogênios, incluindo a *The Endocrine Society*, os considera como contaminantes potenciais para causarem desequilíbrios ambientais [16][17][18][19].

Dentro do grupo de xenoestrogênios existem ainda os pesticidas, aditivos plásticos, compostos organoestanhos, alquifenóis, bifenilas policloradas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, retardantes de chama bromados, dioxinas, furanos, entre outros [20][21][24][25].

Nas Figuras 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12 abaixo estão ilustrados respectivamente um exemplo de cada uma das seguintes classes: organoestanhos, alquifenóis, bifenilas policloradas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, retardantes de chama bromados, dioxinas, furanos.

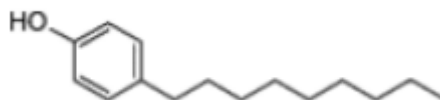
Figura 6 Fórmula estrutural Organoestanho



Trifenilestano (TPHT)

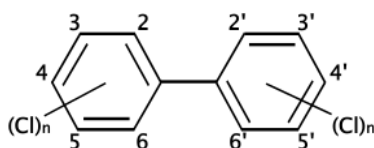
Fonte: [102]

Figura 7 Fórmula estrutural do nonilfenol, exemplo de alquifenol



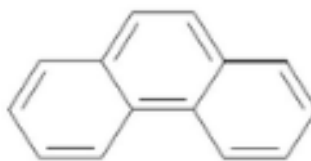
Fonte: [103]

Figura 8 Fórmula estrutural geral da classe bifenilas policloradas



Fonte: [104]

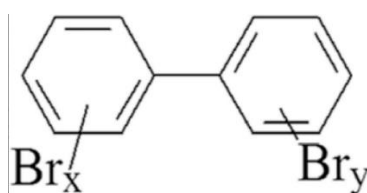
Figura 9 Fórmula estrutural do fenantreno, um exemplo de hidrocarboneto policíclico aromático



Fenantreno

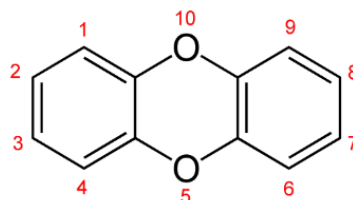
Fonte: [105]

Figura 10 Fórmula estrutural genérica de um retardante de chama bromado



Fonte: [106]

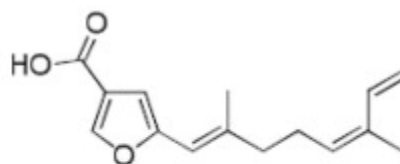
Figura 11 Fórmula estrutural de uma dioxina



(1,4) dibenzodioxina

Fonte: [107]

Figura 12 Fórmula estrutural de um exemplo de furano



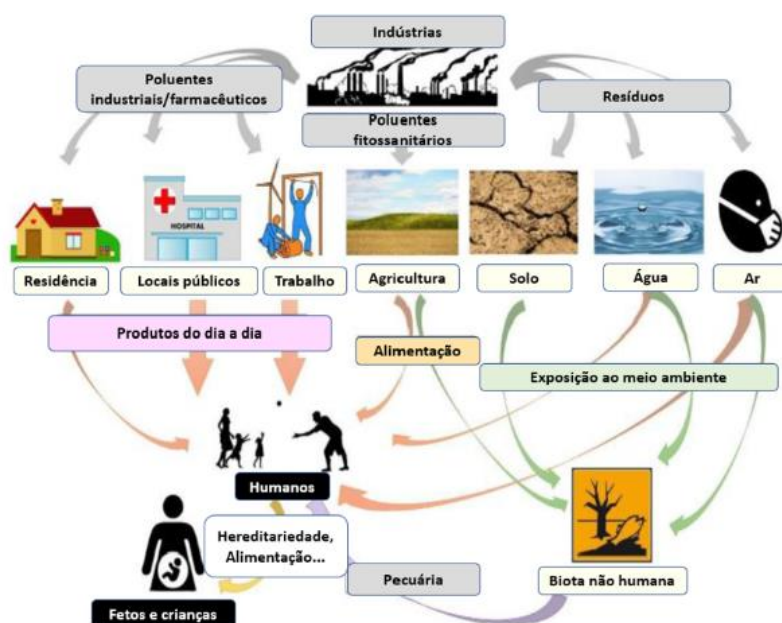
**Furano-sesquiterpene
carboxylic acid**

Fonte: [108]

O fato de serem substâncias capazes de provocar alterações hormonais configura-se um problema com grandes tendências de causarem alterações significativas nas futuras gerações,

caso não sejam realizadas medidas de intervenção com antecedência com o objetivo de evitar o aumento da quantidade dessas substâncias no ambiente [5]. Na Figura 13 está ilustrado a diversidade de rotas de exposição. Com base na figura abaixo é possível observar que os resíduos de origem industrial quando descartados inapropriadamente são capazes de contaminarem o solo, a água e o ar expondo assim o ambiente, de modo que conseqüentemente os seres vivos e os seres humanos podem ser expostos indiretamente tendo a possibilidade de alterações na hereditariedade dos mesmos, como ilustrado abaixo. A exposição dos seres humanos também pode ser direta através de colaboradores inseridos no ambiente industrial sem os apropriados equipamentos de proteção individual (EPI's), como ilustrado abaixo.

Figura 13 Rotas de exposição de desreguladores endócrinos



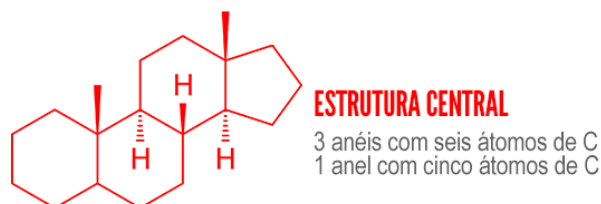
Fonte: [75].

2.4. HORMÔNIOS ESTERÓIDES

Os hormônios esteroides constituem um grupo de substâncias biologicamente ativas que são sintetizadas a partir do colesterol e que apresentam, em comum, uma estrutura de três anéis hexagonais e um pentagonal. Na Figura 14 abaixo está ilustrado em vermelho a fórmula estrutural básica de um esteroide.

Figura 14 Estrutura básica de um esteroide

ESTRUTURA BÁSICA DE UM ESTEROIDE

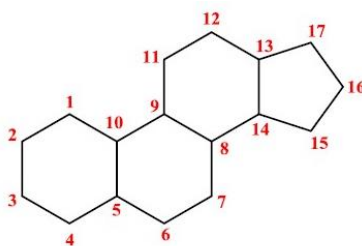


Fonte: [76].

Dentre os hormônios esteroides podemos destacar os hormônios sexuais que se subdividem em três classes que são: os estrógenos (hormônios femininos), os andrógenos (hormônios sexuais masculinos) e os progestógenos (hormônios relacionados a gravidez) [36].

Os estrogênios possuem estruturas policíclicas, com um grupo hidroxila em C3, um grupo metila no carbono C13 e diferentes substituintes no C17. Possuem ainda um anel fenólico, na qual apresentam um grupo hidroxila responsável pela atividade [36]. Na Figura 15 abaixo está ilustrado a numeração da estrutura central de um esteroide.

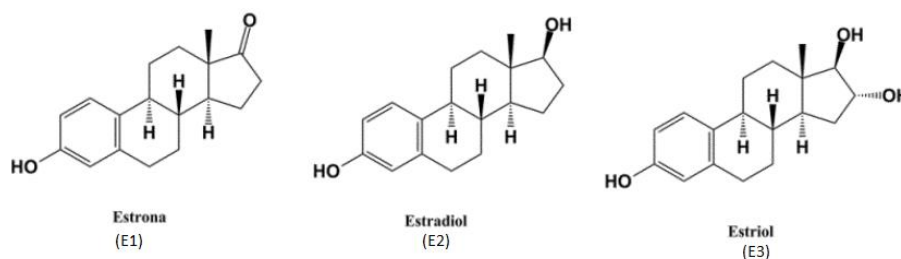
Figura 15 Numeração dos carbonos na estrutura central de um esteroide



Fonte: [85]

O nome estrogênio está relacionado a um conjunto de hormônios responsáveis pela ovulação e manifestação do fenótipo feminino. Dentre esses hormônios existem três que apresentam maior destaque que são: estrona (E1), estradiol (E2) e estriol (E3). Na Figura 16 abaixo está apresentado as respectivas fórmulas moleculares das seguintes substâncias: Estrona (E1), Estradiol (E2), Estriol (E3)[51][52][53][54].

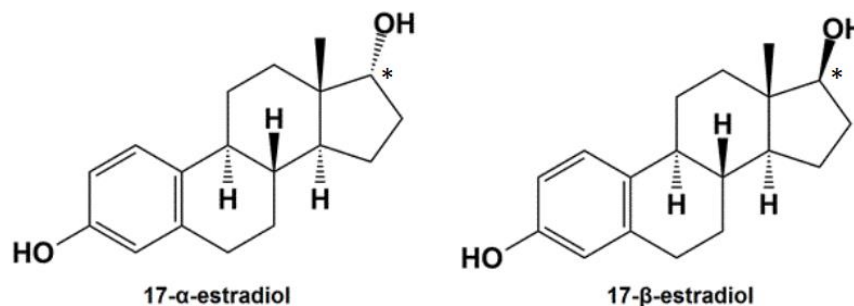
Figura 16 Fórmula estrutural dos estrógenos produzidos pelo ovário



Fonte: [77]

O estradiol é o mais potente e prevalente no organismo feminino. Esta classe de hormônios é encontrada em ambos os sexos, sendo que nos homens apresenta-se em baixa concentração quando comparada a concentração presente no sangue de mulheres. O estrogênio natural β -estradiol (E2) (secretado pelo ovário) é o principal estrógeno, a estrona (E1) é secretada em menores quantidades sendo menos ativa que o estradiol. Embora a estrona (E1) seja menos abundante e menos potente que o estradiol (E2) a mesma apresenta utilidade após a menopausa, pois passa a atuar na proteção do sistema cardiovascular. O estriol (E3) é o estrógeno mais fraco, quando comparado com os demais, sendo produzido em grande medida pelas células trofoblásticas da placenta pela metabolização de intermediários esteroides formados pelas adrenais. Devido a quiralidade do carbono C13 o estradiol (E2), sintetizado nas mulheres pelas glândulas suprarrenais a partir do colesterol, apresenta duas estruturas enantioméricas que são 17- α -estradiol e 17- β -estradiol, sendo que o 17- β -estradiol é a versão predominante, sendo quarenta vezes mais ativo que seu enantiômero alfa [77]. Na Figura 17 abaixo está ilustrado as estruturas enantioméricas do estradiol.

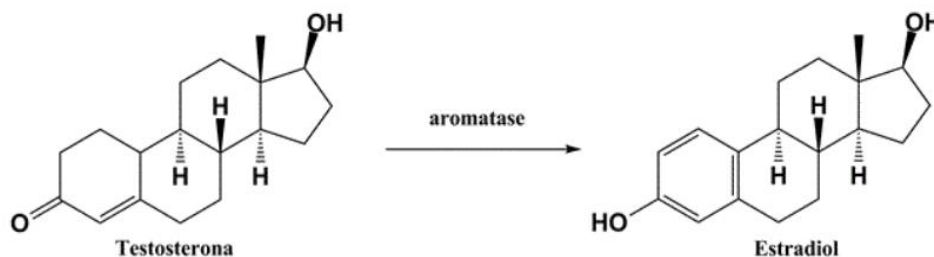
Figura 17 Estruturas enantioméricas do estradiol



Fonte: [77]

Nos homens o estradiol (E2) é produzido pelos testículos a partir da testosterona por meio do uso da enzima aromatase responsável pela conversão de uma estrutura em outra, como ilustrado na Figura 18 abaixo [77].

Figura 18 A testosterona é a estrutura utilizada como base para produção do estradiol nos homens, como representado abaixo.



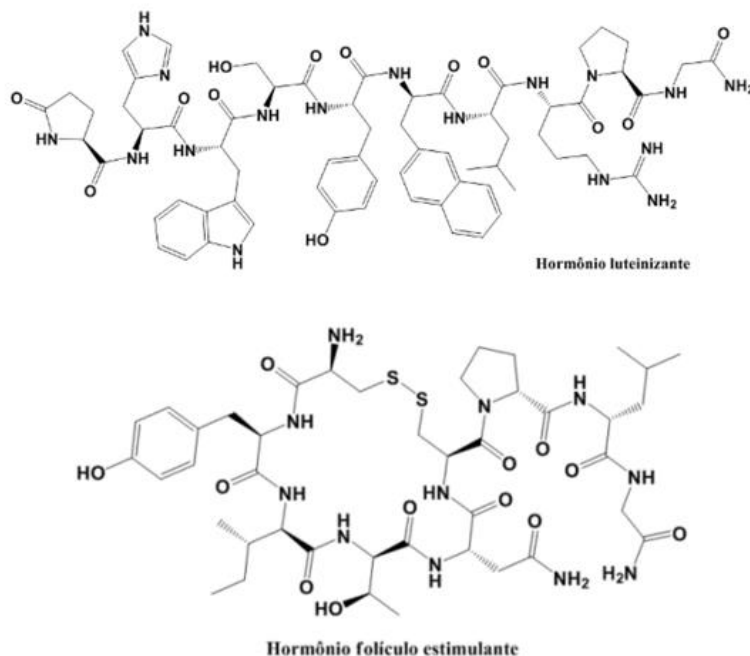
Fonte: [77]

No período da gravidez, a placenta é a principal fonte de estrógenos, de modo que o estriol (E3) pode ser produzido na ordem de grandeza de miligramas (mg), e não mais em microgramas (μg). Os estrógenos (E1, E2, E3) são mais preocupantes devido a suas respectivas potencialidades no organismo, além do que são continuamente lançados no meio ambiente, principalmente através do esgoto tratado ou não tratado, o que mostra que os tratamentos convencionais de tratamento de esgoto não são capazes de reter estes contaminantes. Esses estrógenos podem ser excretados pelo organismo através da urina, quando o esgoto é tratado esses contaminantes são conduzidos para as estações de tratamento de esgoto, onde podem passar pelos tratamentos convencionais sem serem eliminados e com isso serem lançados no ambiente. Quando não há o tratamento do esgoto, esses contaminantes podem entrar em contato com o ambiente diretamente [51][52][53][54].

2.4.1 CICLO MENSTRUAL

O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é responsável pelo estímulo de secreção hipofisária do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio folículo-estimulante (FSH). Na Figura 19 abaixo estão ilustradas as respectivas fórmulas estruturais do LH e FSH.

Figura 19 Fórmulas estruturais do LH e FSH



Fonte: [77]

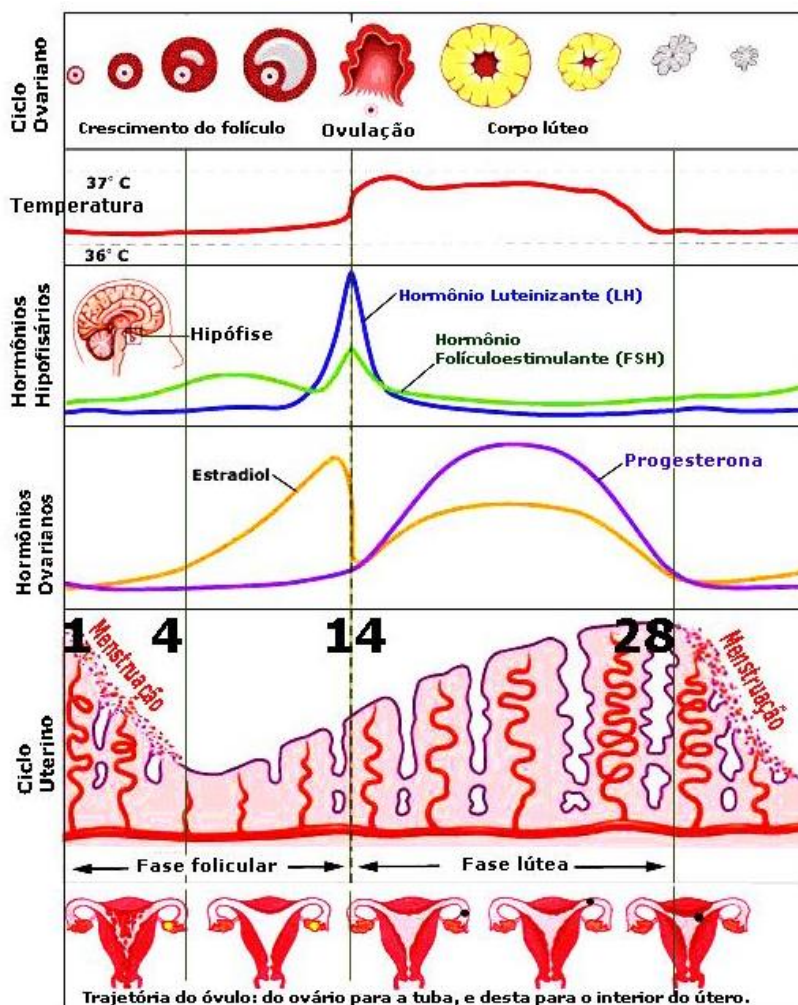
Esses processos são controlados pela intensidade e frequência dos pulsos de GnRH. Os pulsos de GnRH de baixa frequência são necessários para a liberação de hormônio foliculo-estimulante (FSH), enquanto os pulsos de GnRH de alta frequência estimulam os pulsos de hormônio luteinizante (LH). Existem diferenças na secreção de GnRH entre mulheres e homens. Nos homens, o GnRH é secretado em pulsos a uma frequência constante, nas mulheres, a frequência dos pulsos varia durante o ciclo menstrual, sendo que há um grande aumento de GnRH imediatamente antes da ovulação [7].

O processo da puberdade é caracterizado pelo aumento dos níveis do hormônio liberador de gonadotrofina hipotalâmica. O GnRH desencadeia a secreção do LH e do FSH da glândula pituitária anterior, que por sua vez faz com que os ovários respondam e secretem estradiol. O aumento no estrogênio gonadal possibilita o desenvolvimento das mamas, distribuição de gordura feminina e crescimento do esqueleto. O androgênio adrenal e o androgênio gonadal resultam em pelos pubianos e axilares [35][36][37][39].

No ciclo menstrual os ovários devido a influência dos hormônios FSH atuam no amadurecimento folicular e o LH é responsável em atuar no processo de ovulação, que se trata

da liberação do ovócito secundário pelo folículo maduro. Os ovários são órgãos produtores de gametas, apresentam atividade desde o momento em que a mulher atinge a puberdade até o período da menopausa, quando as ovulações deixam de ocorrer [55][56][58]. No momento do nascimento de uma mulher, cada ovário apresenta cerca de 200000 ovócitos primários, esses permanecem até que a mulher atinja maturidade sexual, de modo que na puberdade é o momento final na qual por ação do FSH, os ovócitos primários completam a divisão com o amadurecimento folicular. Destes ovócitos primários cerca de 300 a 400 ovócitos (ovócitos maduros) podem ser transformados em óvulos a cada ciclo de ovulação que teoricamente apresenta um período de duração de 28 dias. O ciclo menstrual pode ser compreendido como sendo o período de duas menstruações consecutivas, no qual o corpo da mulher sofre alterações cíclicas que se repetem no intervalo de aproximadamente 28 dias. O ciclo menstrual se inicia quando a camada superficial do endométrio desprende-se, de modo que este fenômeno é acompanhado de sangramento durante um intervalo de 3 a 5 dias em média. Nesse período estão baixas as concentrações plasmáticas dos hormônios hipofisários (LH e FSH) e dos hormônios ovarianos (estrógeno e progesterona). Por influência do FSH, um folículo ovariano inicia sua maturação quando o ovócito I continua a primeira divisão meiótica. O folículo produz, então quantidades crescentes de estrógeno, na qual estimula a proliferação do endométrio uterino. A elevação da concentração de estrógeno estimula um acréscimo na produção LH pela hipófise. O aumento abrupto deste hormônio, aproximadamente na metade do ciclo menstrual, faz com que o folículo maduro se rompa liberando o ovócito II (ovulação). O folículo rompido origina o corpo lúteo, que produz progesterona em grande quantidade e pouco estrógeno. A progesterona estimula ainda mais o desenvolvimento do endométrio, onde surgem as glândulas produtoras de glicogênio e cujos vasos sanguíneos se dilatam e se entortilham. Juntos, o estrógeno e a progesterona passam a inibir a hipófise. A queda na produção de FSH e de LH induz a atrofia do corpo lúteo, que se converte em corpo *albicans*, inativo. A diminuição na concentração de estrógeno e progesterona provocará o descolamento da camada superficial do endométrio, bem como como cessará a inibição sobre a hipófise, que retorna a produzir FSH. Por ação deste hormônio, outro folículo inicia sua maturação e outro ciclo menstrual é iniciado [35][42]. Na Figura abaixo está ilustrado o ciclo menstrual de modo gráfico.

Figura 20 Representação gráfica do ciclo menstrual

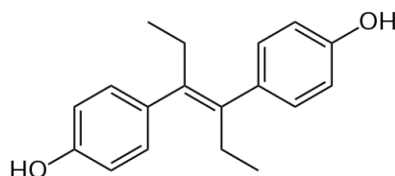


Fonte: [69]

2.4.2 INFLUÊNCIA DE HORMÔNIOS EXÓGENOS NO ORGANISMO FEMININO

Em 1938 foi sintetizado o primeiro xenoestrogênio, um agonista estrogênico não-esteróide denominado dietilestilbestrol (DES) utilizado por milhares de mulheres grávidas entre 1940 e 1970 com o objetivo de prevenir o aborto e diminuir o desconforto dos enjoos. Na Figura 21 está ilustrada a fórmula estrutural deste estrogênio [70].

Figura 21 Fórmula estrutural do estrógeno dietilestilbestrol (DES).



Fonte: [79]

No entanto, em 1971 demonstrou-se por meio de resultados experimentais que o DES causava carcinoma vaginal, um tumor raro, em mulheres que tinham sido expostas a este medicamento. Alguns anos depois, foi possível observar nas filhas, dessas mães, que as mesmas apresentaram distúrbios nos aparelhos reprodutores. Foi constatado que as filhas destas usuárias passaram a desenvolver uma maior ocorrência de adenose vaginal e de adenocarcinoma de células claras da vagina. Também neste grupo de pacientes foi observado uma tendência de acometimento de anomalias uterinas, caracterizando-se como útero em T, em torno de 68% destas e de outras anomalias como hipoplasia uterina, anormalidades nas tubas e no colo uterino. Os especialistas concluíram que a razão deste distúrbio poderia estar relacionado aos efeitos ocasionados pelo estrogênio sintético.

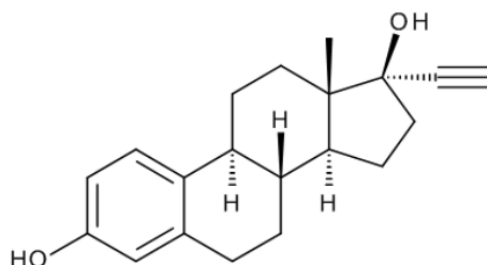
Nos estudos realizados nas últimas décadas tem sido relatado uma tendência crescente para o aparecimento precoce de sinais de desenvolvimento da puberdade, principalmente no sexo feminino. No século XIX a puberdade apresentava os primeiros sinais nas mulheres quando alcançavam os 17 anos, no entanto desde os anos 40 esse fenômeno se estabilizou entre 12 a 13 anos. Essa rápida alteração na faixa do início da puberdade em mulheres em um curto intervalo de tempo provavelmente está associada majoritariamente aos fatores ambientais conciliados com a melhoria da qualidade de vida. Surgiram recentemente trabalhos documentando que na população americana atual o fenômeno da puberdade está acontecendo ainda mais precocemente levantando-se a hipótese de estar havendo alterações que possam não ser de origem natural no corpo das mulheres [19][26][31][32][33][34].

A puberdade precoce periférica pode estar relacionada com níveis reduzidos de gonadotrofinas, xenoestrogênios em plásticos, alimentos embalados. Os xenoestrogênios podem mudar temporariamente ou permanentemente os ciclos de *feedback* no cérebro, hipófise,

gônadas e tireoide, imitando os efeitos do estrogênio e ativando seus receptores específicos, ou podem se ligar a receptores hormonais e bloquear a ação dos hormônios naturais. Nesse sentido, é plausível que os xenoestrogênios lançados no meio ambiente possam estar relacionados com o fenômeno de acelerar o desenvolvimento sexual se estiverem presentes em uma concentração suficiente ou com exposição crônica [42].

O estriol (E3), (Figura 10) estrogênio fraco e o sintético α -etinilestradiol, Figura 22, desenvolvido para uso médico em terapias de reposição hormonal e métodos contraceptivos, são os que despertam maior preocupação, tanto pela quantidade continuamente introduzida no ambiente quanto pela sua potência, respectivamente [61].

Figura 22 Fórmula estrutural do estrogênio sintético α -etinilestradiol.



Fonte: [80]

Os estrogênios possuem a melhor conformação reconhecida pelos receptores intracelulares, resultando em respostas máximas, sendo considerados como responsáveis pela maioria dos efeitos disruptores desencadeados pela disposição de efluentes. Vários organismos excretam diferentes quantidades de esteróides sexuais. A quantidade de estrogênio excretada por uma mulher grávida pode ser até mil vezes maiores do que a de uma mulher em atividade normal, dependendo do estágio da gravidez [61]. Na Tabela 1 abaixo está registrado em micrograma a quantidade de hormônios *per capita* excretada por homens e mulheres.

TABELA 1 Excreção em microgramas per capita por homens e mulheres

	17 β -estradiol	Estrona	Estriol	17 α -etinilestradiol
Homens	1,6	3,9	1,5	
Mulheres na fase fértil (15 a 59 anos)	3,5	8,0	4,8	
Mulheres na menopausa (acima de 59 anos)	2,3	4,0	1,0	
Gestantes	259,0	600,0	6000,0	
Mulheres que tomam contraceptivos				35,0

Fonte: [61]

Os estrogênios são compostos orgânicos hidrofóbicos que podem ser retidos na camada lipídica das células presentes no lodo biológico, ocasionando assim, a bioacumulação de tais substâncias. O fato de os estrogênios apresentarem baixa solubilidade em água, de modo que são retidos no lodo biológico não é uma garantia, com base nos trabalhos acadêmicos atuais, que este processo de remoção seja eficiente para remoção segura destes contaminantes em níveis pouco preocupantes, uma vez que esses contaminantes ainda podem ser capazes de causarem alterações no ambiente, mesmo em baixas concentrações. Por se tratar de hormônios sua determinação instrumental não é muito simples, pois se trata de uma determinação de concentrações na faixa de $\mu\text{g/L}$ e ng/L desses contaminante nos corpos d'água, outra razão para sua difícil quantificação seria a complexidade química dessas substâncias.

3. MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Existem alguns métodos de eliminação e isolamento que apresentam utilidade para alguns disruptores endócrinos, no entanto ainda não se tem documentado a efetividade destes métodos para todos os disruptores endócrinos existentes. Alguns desses métodos que apresentam destaque são: processo oxidativo avançado como cloração/ozonização, remoção adsortiva com o uso de carvão ativado, uso de membranas filtrantes e troca iônica. Devido à falta de garantia de efetividade destes métodos para todos os contaminantes existentes desta classe, se faz necessário a comprovação da remoção destes contaminantes à níveis desejáveis, a detecção e quantificação dos meios pode ser realizada por diversas metodologias das quais podemos destacar a cromatografia [65][68].

A cromatografia é uma técnica de separação, identificação e quantificação utilizada em diversas áreas de pesquisa, com destaque para a química orgânica, química de produtos naturais

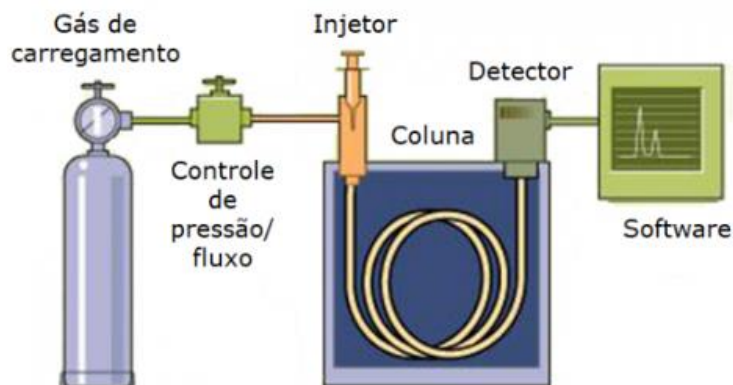
e química ambiental. Instrumentos modernos proporcionam separação de misturas complexas tanto em fase líquida quanto em fase gasosa [65][68].

A cromatografia gasosa pode ser uma alternativa, porém o equipamento relacionado a este método impõe a necessidade de que o analito seja volátil e termicamente estável. Caso o analito não atenda a esta técnica instrumental pode-se aplicar algumas intervenções como por exemplo a derivatização como forma de tentar superar essa limitação, o que normalmente ocorre para o caso de compostos estrogênicos. Uma outra técnica aplicada é a cromatografia líquida, do Inglês *High-performance liquid chromatography* (HPLC), independentemente da técnica aplicada se faz necessário o preparo da amostra que pode ser realizado por extração em fase sólida (SPE), microextração em fase sólida (SPME) ou extração líquido-líquido (LLE).

3.1 CROMATOGRAFIA GASOSA (CG)

Na cromatografia gasosa as separações são obtidas por uma série de partições entre uma fase gasosa em movimento e uma fase estacionária líquida mantida em um tubo de pequeno diâmetro (a coluna) após uma mistura ser injetada [65][68]. A amostra é introduzida na coluna na forma de vapor ou introduzida na forma líquida e após a injeção, a amostra passa para o estado gasoso rapidamente. Na coluna, a solubilidade de cada componente na fase gasosa depende da sua pressão de vapor, que por sua vez é uma função da temperatura da coluna e da afinidade entre o composto e a fase estacionária. Diferenças na pressão de vapor fazem com que as moléculas de cada componente sejam divididas entre a fase gasosa móvel e a fase líquida estacionária. A separação das substâncias ocorre na coluna cromatográfica na qual cada substância possui um tempo de retenção específico, de modo que tendo consciência do tempo de retenção de cada substância é possível comparar com os respectivos tempos de retenção de padrões de referência e com isso fazer sua identificação. Um detector monitora a composição do fluxo de gás conforme ele emerge da coluna, carregando os componentes separados, e os sinais resultantes fornecem dados requeridos para a análise [44][45][43]. Na Figura 23 abaixo está ilustrado um esquema simplificado dos componentes do equipamento de cromatografia gasosa.

Figura 23 fluxograma ilustrativo dos componentes do equipamento de cromatografia gasosa (GC).



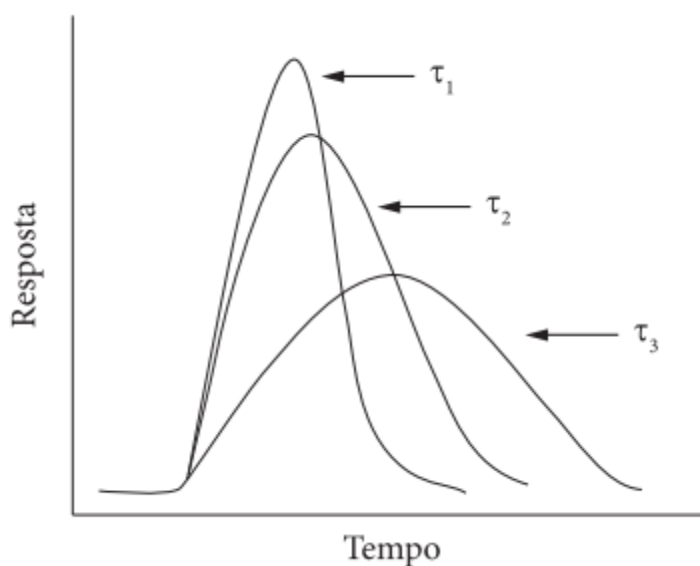
Fonte: [66]

O sistema de detecção no CG possibilita responder aos analitos previamente separados na coluna cromatográfica e que chegam ao detector como bandas discretas em fase gasosa. O detector registra a passagem dessas bandas discretas, a qual normalmente ocorre na faixa de poucos segundos, resultando em um sinal transiente. O nível de sensibilidade do equipamento depende do tipo de detector utilizado [86].

Em função de algumas características dos detectores, eles podem ser classificados como seletivos ou universais, caso possam responder para poucos ou para muitos analitos diferentes; como destrutivos ou não-destrutivos, se a integridade do analito é mantida ou não durante a detecção e como sensíveis à concentração ou ao fluxo de massa, se o detector fornece uma resposta proporcional à concentração do analito naquela banda discreta ou à quantidade absoluta do analito. Os detectores de ionização em chama (FID, do Inglês *flame ionization detector*), os de condutividade térmica (TCD, do Inglês, *thermal conductivity detector*), os de captura de elétrons (ECD, *electron capture detector*) e o de espectrômetro de massas (MS, do Inglês *mass spectrometer*) costumam ser os mais empregados em laboratórios. Para que o detector apresente utilidade é necessário que alguns pré-requisitos sejam contemplados como a capacidade de detectar pequenas quantidades do analito, a capacidade de fornecer uma resposta linear aos analitos em várias ordens de grandeza, a capacidade de apresentar estabilidade e reprodutibilidade, a capacidade de apresentar sensibilidade adequada para pequenas variações de concentração em dois pontos muito próximos dentro da curva de calibração analítica, a capacidade de operar em faixas de temperaturas desde a ambiente até 400 °C, é necessário também que o detector apresente fácil operação e apresente tempo de resposta curto. Com relação ao sinal que o detector é capaz de produzir, existem dois parâmetros de relevância para

a análise que são o ruído e a constante de tempo (τ). O ruído pode ser definido como sendo a variação do sinal do detector na ausência da amostra, normalmente originada por vazamentos, variações de temperatura, contaminação do gás de arraste ou alterações no ambiente e nos componentes dos amplificadores de sinal. A constante de tempo pode ser definida como sendo a medida da velocidade de resposta do detector, definida como o tempo, em milissegundos, que o detector leva para responder. Na Figura abaixo é possível observar a influência da constante de tempo do detector no perfil do pico cromatográfico. É notório que quanto maior for o valor da τ , onde ($\tau_1 < \tau_2 < \tau_3$), mais baixo, largo e deslocado para tempos de retenção maiores será o sinal; entretanto a área do pico cromatográfico não é alterada, é comum que os detectores modernos apresentem a constante de tempo na ordem de grandeza de 10 ms [86].

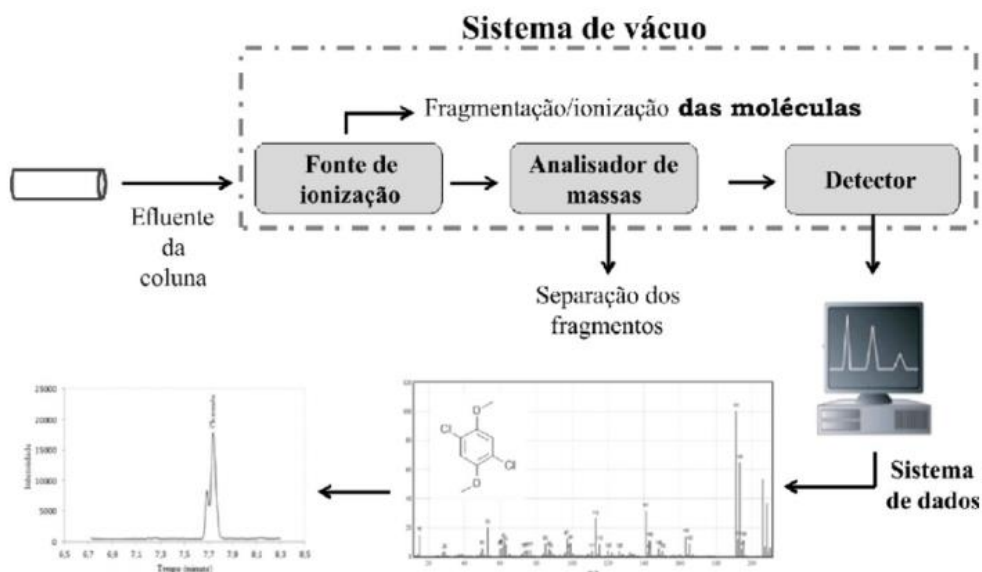
Figura 24 Influência do tempo de resposta do detector na constante de tempo no CG



Fonte: [86]

Dentre todos os vários detectores utilizados, existe o espectrômetro de massas que pode ser utilizado para confirmar a identificação através da elucidação estrutural da substância. No espectrômetro de massas pode-se empregar algumas fontes de ionização como por exemplo na qual a substância é submetida a um feixe de elétrons capaz de promover a ruptura da ligação química da substância promovendo sua quebra em vários fragmentos carregados, de modo que esses os fragmentos com carga positiva são conduzidos para o analisador através da aplicação de um campo magnético conhecido, o analisador mede a taxa de massa/carga (m/z). Nesta metodologia a ruptura das moléculas sempre segue um padrão, na qual é possível estabelecer uma relação comparativa com as respectivas intensidades dos íons obtidos com os registrados na biblioteca com o objetivo de confirmar a estrutura química do analito [44]. Na Figura abaixo está ilustrado elementos que constituem o espectrômetro de massas.

Figura 25 Elementos que constituem o espectrômetro de massas

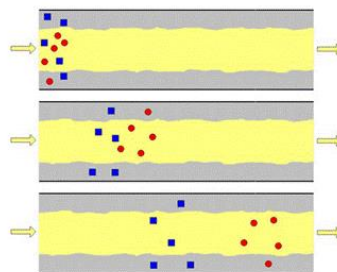


Fonte: [100]

3.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA (CL)

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) pode ser compreendida como um método de separação de substâncias químicas em solução, que consiste no bombeamento de um solvente líquido contendo a amostra de interesse na qual percorre uma coluna preenchida com uma natureza química conhecida, de modo que cada componente da amostra realiza interações intermoleculares de forma distinta com o material presente na coluna [43][45]. Na Figura 26 abaixo está ilustrado um esquema simplificado que evidencia que diferentes componentes provavelmente terão tempos de retenção diferentes em consequência do nível de interação intermolecular estabelecido com a coluna.

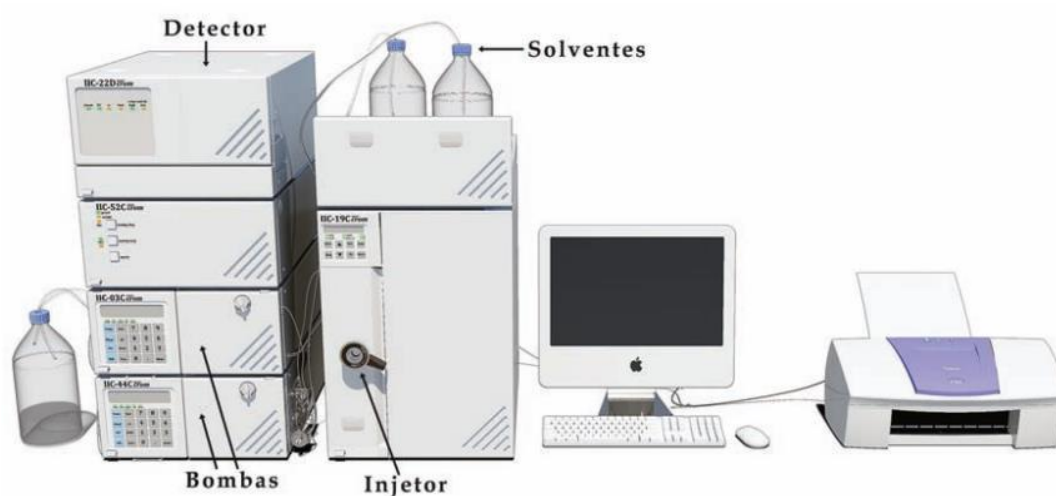
Figura 26 Ilustração da eluição de dois componentes na coluna, de modo que cada um terá fatores de retenção diferentes dependendo do nível de interação intermolecular com a coluna.



Fonte: [101]

Deste modo cada componente possui um tempo de retenção específico e que pode ser comparado com padrões de referência [43][45]. Na figura 27 abaixo está ilustrado os componentes do equipamento de cromatografia líquida.

Figura 27 Imagem ilustrativa dos componentes do equipamento de cromatografia líquida.

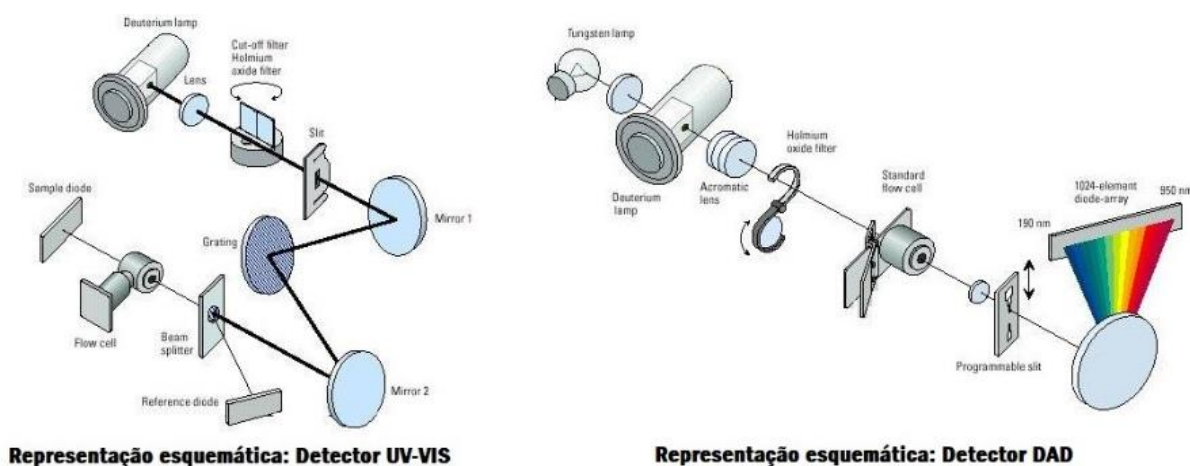


Fonte: [91]

Os principais detectores utilizados em cromatografia líquida são o ultravioleta-visível (UV-VIS/DAD), o de espectrometria de massas (MS). Os detectores UV-VIS costumam ser os mais empregados em laboratórios, devido ao seu baixo custo e devido a possibilidade do uso de gradiente em sua programação, de modo que não são afetados por pequenas mudanças no fluxo do gás de arraste ou pequenas mudanças na temperatura. Este compartimento é constituído de um fotômetro que permite a medida da absorção da luz pelos compostos presentes na amostra em um determinado comprimento de onda específico, de modo que a faixa espectral pode contemplar as regiões do visível até o ultravioleta. O princípio de detecção por

UV-VIS consiste em relacionar a concentração do analito com a respectiva medida da absorvância com base na Lei de Lambert-Beer. Existem algumas configurações mais comuns dos detectores UV-VIS que são o detector de comprimento de onda fixo, o detector de comprimento de onda variável e o detector de arranjo de diodos (DAD, do Inglês *Diode Array Detector*). O detector DAD possibilita determinar os espectros das substâncias presentes na amostra do eluente com o uso de diferentes comprimentos de onda durante a análise cromatográfica. A detecção por UV-VIS está condicionada para amostras que contenham o analito capaz de absorver o feixe de luz com comprimento de onda na região do UV-VIS, que no caso do ultravioleta contempla o intervalo de (100 – 400) nm e no caso do visível contempla a faixa de (400 – 780) nm. Na Figura abaixo está ilustrado os componentes do UV-VIS e do DAD [88].

Figura 28 Componentes do UV-VIS e DAD

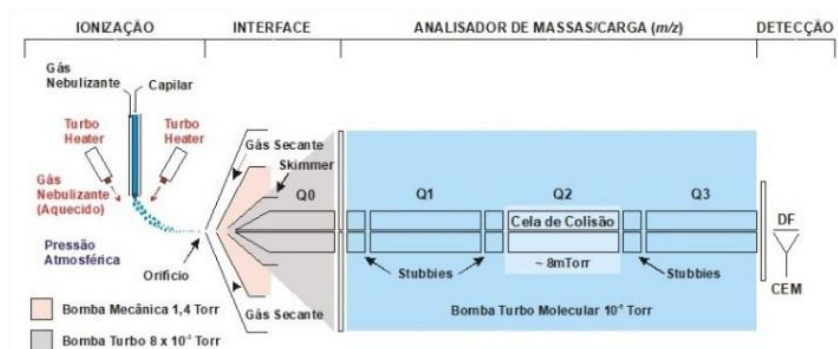


Fonte: [87]

Na ionização por *electrospray* os componentes envolvidos são um spray eletrostático da solução do analito, na qual é bombeada à um fluxo de alguns microlitros por minuto em um capilar metálico, sob um campo eletrostático conhecido. O processo de ionização por *electrospray* envolve três etapas: a produção da gota carregada na ponta do capilar, a dessolvatação da gota carregada seguida de repetidas desintegrações para a formação de gotas menores e a formação dos íons na fase gasosa. A intensidade do sinal de um analito no *electrospray* não depende exclusivamente da concentração deste analito em solução, uma vez que a presença de outros eletrólitos no sistema é determinante na intensidade do sinal de

um íon a ser detectado. A ionização por *electrospray* é uma técnica de ionização tipicamente utilizada para determinar os pesos moleculares de proteínas, péptidos e outras macromoléculas biológicas. A vantagem da utilização de espectrometria de massa de ionização por *electrospray* é sua capacidade de lidar com amostras de grandes massas moleculares, sendo ideal para ser acoplada com a cromatografia líquida, na qual são gerados íons à pressão atmosférica sem necessidade de vácuo. Uma desvantagem é que a limpeza da fonte de ionização não é simples, podendo se tornar excessivamente contaminada com resíduos de análises anteriores. Na Figura 29 está ilustrado os principais componentes da fonte de íons *electrospray* acoplado a um espectrômetro de massas (ESI-MS/MS) [109].

Figura 29 Ilustração esquemática da fonte de íons *electrospray* acoplado a um ESI-MS/MS.



Fonte: [109]

4. METODOLOGIAS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE CROMATOGRÁFICA

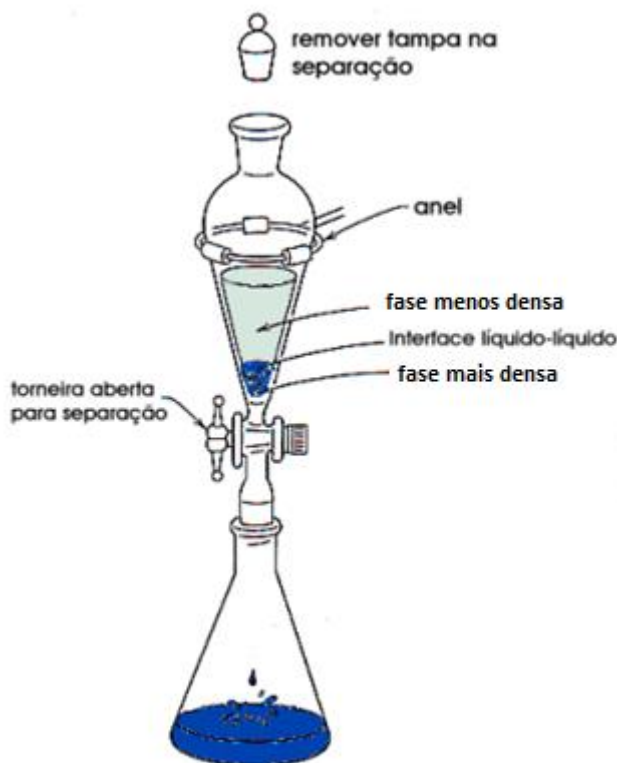
O preparo de amostras normalmente é a etapa que demanda maior atenção no processo de análise, sendo a que demanda mais tempo, sendo uma das principais fontes de erros. Dessa forma, o método escolhido para esta etapa deve ser o mais simples possível, rápido, seletivo, de baixo custo, e de uso mínimo de solventes no processo, seja para a detecção de substâncias em baixas concentrações (ng/L - µg/L), na identificação de substâncias presentes em diferentes matrizes complexas com possíveis interferentes, ou para os estudos de propriedades e quantificação de um analito [72].

4.1. EXTRAÇÃO EM FASE LÍQUIDA

Extração líquido-líquido (ELL), também conhecida como extração por solvente ou partição, é um método utilizado com o intuito de separar um ou mais componentes específicos de uma amostra por meio da partição entre duas fases líquidas. Este processo pode ser executado com o uso de um funil de separação, na qual dois ou mais solventes imiscíveis são adicionados. Com a agitação do funil de separação, o soluto passa a fase na qual está o solvente com maior afinidade [71].

A extração líquido-líquido é indicada quando existe uma grande diferença de solubilidade do soluto nos dois solventes, ou seja apresenta um grande coeficiente de partição [71]. Na Figura abaixo está ilustrado a montagem de ELL.

Figura 30 Ilustração da montagem do sistema de extração em fase líquida descontínua



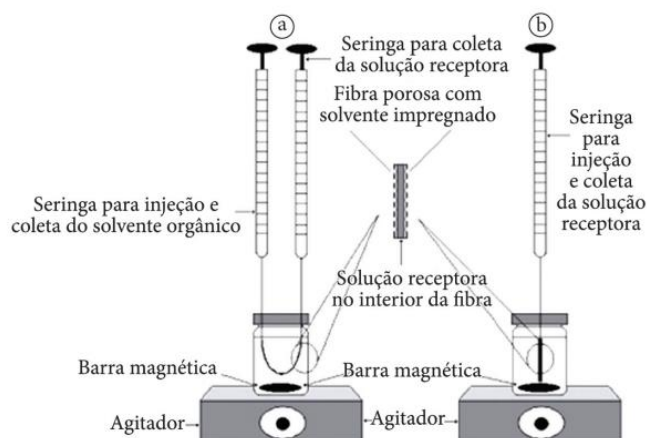
Fonte: [82]

De modo geral é comum a necessidade de uma grande quantidade de solvente nesta metodologia, nesse sentido devido a economia de solvente aplicada na microextração em fase líquida (LPME) essa apresenta certa vantagem em relação a extração em fase líquida.

4.2. MICROEXTRAÇÃO EM FASE LÍQUIDA

Os primeiros sistemas para microextração em fase líquida, do Inglês *Liquid-Phase Microextraction* (LPME) basearam-se na extração de analitos em amostras aquosas por meio de uma pequena gota de um solvente orgânico, em virtude dessa configuração, essa técnica ficou conhecida como microextração com gota única. Tipicamente, a pequena gota de solvente orgânico era suspensa a partir da ponta de uma seringa para GC e colocada na solução aquosa para a realização da extração. Dessa forma, os analitos eram extraídos da amostra aquosa pela gota em suspensão, baseada na difusão passiva, e as recuperações das extrações eram essencialmente determinadas pelo coeficiente de partição entre o solvente orgânico e a amostra líquida. Quando terminada a extração, a gota de solvente orgânico era recolhida para o interior da seringa e subsequentemente injetada no cromatógrafo a gás. Apesar dessa configuração ser muito simples e eficiente para reduzir o consumo de solventes orgânicos por amostra para apenas alguns μL , ela é utilizada apenas em um número limitado de laboratórios de pesquisa. Uma razão para isso pode ser a baixa estabilidade da gota suspensa, a qual pode ser facilmente perdida na amostra durante a extração. Um dos maiores desafios do método LPME envolve a retenção de uma gota de solvente em um recipiente de amostra, que está sendo agitado durante o período de exposição. Em alguns casos, o tamanho da gota pode reduzir o tempo de exposição, o que pode ser causada pela força de cisalhamento da agitação da amostra ou pela dispersão do solvente em uma amostra de água. Uma sugestão é o uso de fibras ocas para proteger gotas de solvente em LPME. No procedimento LPME com esta intervenção, com o uso de polipropileno poroso fibra oca, preenchida com um solvente orgânico, pode ser exposta diretamente à extração de vários DE de amostras de água. Na Figura abaixo está ilustrado a metodologia de microextração em fase sólida [64].

Figura 31 Duas configurações de microextração em fase líquida, uma configuração em forma de “U” e outra configuração na forma de haste.



Fonte: [64]

4.2.1 METODOLOGIA DE PREPARO DE AMOSTRAS DE HORMÔNIOS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE LÍQUIDA

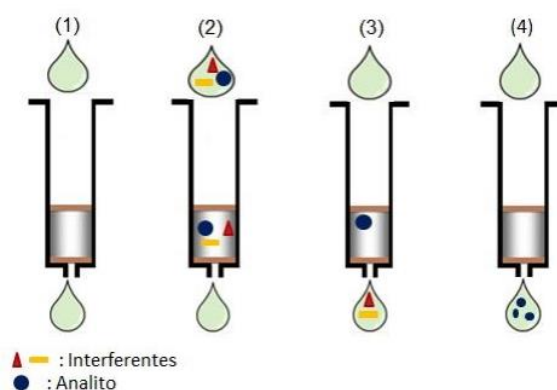
É possível realizar o preparo de amostras de urina com o intuito de analisar esteroides anabolizantes. Nesta metodologia de preparo podem ser adicionados 50 μL de padrão interno em 1 mL de urina previamente acidificada com 200 μL de ácido clorídrico 1 mol/L. A microextração em fase líquida pode ser realizada com a adição ao frasco com 4 mL de acetato etílico, seguida de centrifugação. Após a centrifugação a camada orgânica pode ser coletada e evaporada com oxigênio livre de nitrogênio na temperatura de 40 $^{\circ}\text{C}$. O resíduo resultante pode ser dissolvido em 100 μL de fase móvel [99].

4.3. EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

A extração em fase sólida (EFS) é uma metodologia que visa efetuar a pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas, permitindo que concentrações muito baixas sejam determinadas. A EFS caracteriza-se por ser uma operação de transferência de massa líquido-sólido, baseada na capacidade de um sólido em adsorver algumas substâncias na sua superfície. A EFS é uma técnica relativamente simples de extração e requer pequenas quantidades de solventes. Geralmente, são usados cartuchos ou discos de extração, comercialmente disponíveis, com uma variedade de adsorventes, tais como, resina de copolímero poliestireno (ENV), sílica, alumina B e os que contêm o grupo octadecilsilano (C18) quimicamente ligado

a sílica. A extração líquido-sólido usa uma fase sólida como sorvente para separar um determinado analito na superfície através da adsorção, enquanto em contato com amostras líquidas ou gasosas. O sorvente de fase sólida, contendo analito isolado, é então purificado com uma solução de lavagem para remover constituintes indesejados retidos com o analito alvo, que é eventualmente dessorvido da fase sólida através da eluição com o solvente orgânico específico. O sorvente de fase sólida é geralmente embalado em pequenos tubos ou cartuchos, como uma pequena coluna de cromatografia líquida. Com uma carcaça específica para sucção ou pressurização para passar as soluções da amostra. O Serviço Geológico dos EUA, do Inglês *U.S. Geological Survey* (USGS) e o Laboratório Nacional de Qualidade da Água, do Inglês *National Water Quality Laboratory* (NWQL) recomendam que o método SPE seja seguido por GC-MS para extrair disruptores endócrinos suspeitos em ambientes domésticos e águas industriais residuais. No entanto, HPLC também é comumente usado após EFS. Um dos parâmetros mais importantes na aplicação de um método EFS é a seleção de um sorvente sólido apropriado para o analito alvo, bem como o uso de solventes para lavagem e eluição. Os parâmetros de adsorção de sorventes sólidos selecionados também são fatores adicionais a serem considerados, como capacidade de adsorção e tempo de contato. Para evitar o “avanço de adsorção”, o número de sítios disponíveis no sorvente deve exceder o número de moléculas do analito a serem sorvidas. A taxa de fluxo de uma amostra através do sorvente sólido fase deve ser calibrada para permitir um tempo de contato mínimo entre o analito e o sorvente. As taxas de fluxo típicas para um cartucho EFS são de 3 a 10 mL/min, e as taxas de 10 a 100 mL/min são comuns para alguns tipos de disco. Além disso, a EFS requer menos solvente enquanto produz quantidades de resíduos tóxicos [45]. Na Figura abaixo é apresentado um esquema ilustrativo da metodologia de extração por fase sólida, qual a matriz é constituída de interferentes juntamente com o analito de interesse, de modo que são utilizados solventes com diferentes polaridades para que os interferentes sejam retirados para que seja possível efetuar o isolamento do analito [62].

Figura 32 Ilustração da metodologia de extração em fase sólida.

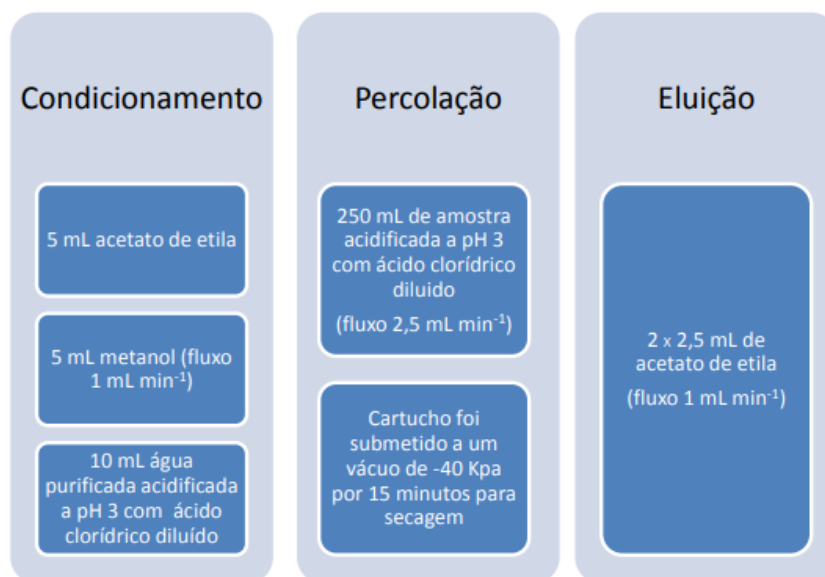


Fonte: [62]

Conforme pode ser observado na figura 16 uma solução contendo a mistura, neste caso de três substâncias, ao passar pelo cartucho retém o analito de interesse, as outras substâncias são eluídas com o solvente. Para retirar o analito de interesse utiliza-se um solvente de diferente polaridade no qual o analito é eluído.

4.3.1 METODOLOGIA DE PREPARO DE AMOSTRAS DE HORMÔNIOS POR EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

Para o método de SPE pode-se utilizar os cartuchos Oasis HLB da marca Waters que apresentam em sua fase sólida o equilíbrio de afinidade para compostos hidrofóbicos e lipofílicos. As extrações podem ser realizadas em um *manifold* da marca Supelco. Para a etapa de condicionamento pode-se utilizar 5 mL de acetato de etila seguido de 5 mL de metanol e seguido por 10 mL de água acidificada com pH = 3. Na etapa de percolação, pode-se utilizar 250 mL da amostra previamente ajustada para o pH = 3. A fase sólida pode ser seca a vácuo por 15 minutos, de modo que os analitos podem ser eluídos com duas frações de 2,5 mL de acetato de etila. Na Figura abaixo está ilustrado de modo simplificado as etapas que constituem o preparo da amostra por meio na metodologia de extração em fase sólida com o objetivo de análise de hormônios em GC-MS [92].

Figura 33 Etapas da extração em fase sólida

Fonte: [92]

Figura 34 Condições recomendadas para análise de hormônios por GC-MS

INJETOR	Temperatura do injetor	250 °C
	Volume de injeção	1 µL
	Modo de injeção	<i>Splitless</i>
GC	Coluna	Rtx-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm)
	Gás de arraste	Helio
	Fluxo do gás de arraste	1 mL min ⁻¹
	Rampa de aquecimento	150 °C (2 min) – 10 °C/min – 300 °C (3 min)
MS	Temperatura linha de transferência	300°C
	Analizador de massas	Quadrupolo
	Ionização por impacto eletrônico	35 eV
	Modo de registro dos íons	SCAN e SIM

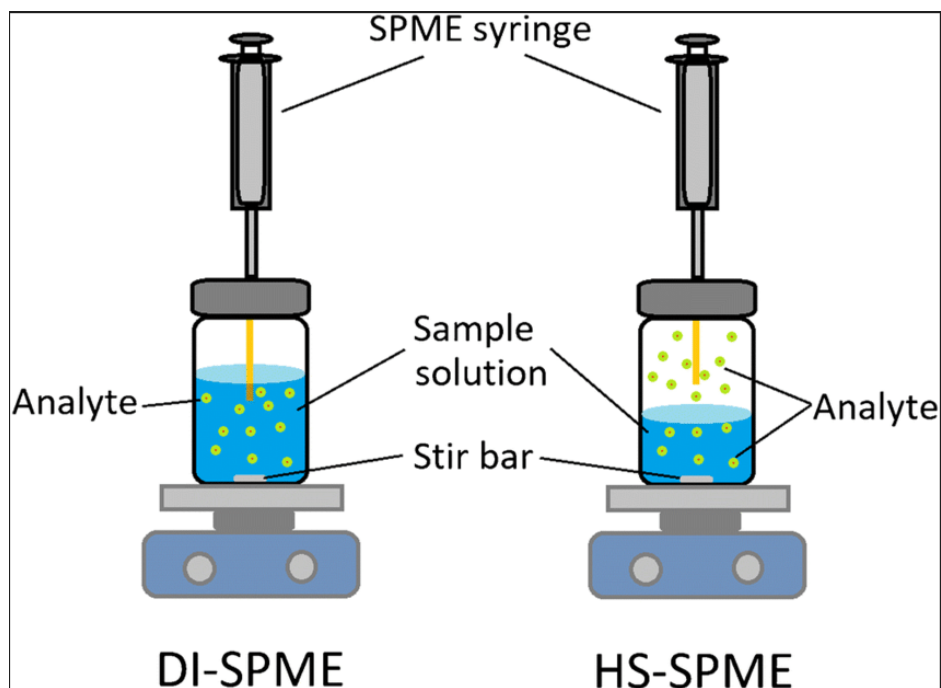
Fonte: [92]

4.4. MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

A microextração em fase sólida (SPME) foi introduzida em 1990 por Pawliszyn. Esta microtécnica de extração e de pré-concentração de analitos é realizada mediante adsorção dos analitos por uma camada polimérica que reveste uma fibra capilar de sílica a sua exposição na amostra contendo o analito de interesse. Após determinado tempo de extração, a fibra é então inserida no injetor do cromatógrafo gasoso (CG). Nesta fase, os analitos são dessorvidos da

fibra devido à alta temperatura do injetor e analisados por cromatografia gasosa. Vários tipos de fibras e seus suportes com revestimentos de camadas específicas para um analito adequado estão disponíveis comercialmente. A quantidade de um analito adsorvido na fibra revestida de sílica em equilíbrio está diretamente relacionado com a sua concentração na amostra. A sensibilidade de o método SPME pode ser assegurado, uma vez que no estado estacionário polimérico as fases usadas para SPME têm uma alta afinidade por moléculas orgânicas. A extração completa de analitos da amostra é discutível. Também é relatado que o volume da amostra pode ser muito maior do que o volume da fase sólida, de modo que a quantidade de analitos adsorvidos pela fase sólida não está relacionada ao volume da amostra. Esta característica pode ser especialmente vantajosa na amostragem de campo. Por exemplo, analitos presentes em águas naturais com baixas concentrações podem ser efetivamente amostrados para SPME, então transportados para o laboratório para análises subsequentes. A dinâmica da SPME é controlada por transporte de massa através da difusão dos analitos da fase aquosa para a fase estacionária da fibra revestida, e pode ser melhorada agitando a amostra aquosa. A metodologia de microextração em fase sólida por inserção direta é aplicada para analitos dissolvidos na amostra, enquanto que metodologia de microextração em fase sólida por *headspace* é aplicada na fase superior do vial contendo os voláteis em equilíbrio com os voláteis dissolvidos na amostra. Na Figura abaixo está apresentado um esquema sequencial ilustrativo da metodologia de microextração em fase sólida por inserção direta (Imagem à esquerda) e por *headspace* (Imagem à direita) [59][60][63].

Figura 35 Esquema sequencial da metodologia de microextração em fase sólida SPME de headspace (HS-SPME) à direita e microextração em fase sólida SPME direta à esquerda (DI-SPME).



Fonte: [83]

Ocasionalmente, um reagente de derivatização pode ser injetado no GC, especialmente para a análise de disruptores endócrinos (DE). Além dos fatores químicos em aplicações SPME, vários fatores operacionais também são cruciais em uma análise, como a velocidade de agitação da amostra, o tempo de extração e a temperatura necessária para alcançar o equilíbrio entre as fases aquosa e estacionária na fibra SPME. Se todos os parâmetros operacionais forem fixos, o processo de análise pode ser automatizado. Além disso, a fibra pode ser reutilizada e reciclada com os devidos cuidados [45].

4.4.1 METODOLOGIA DE PREPARO DE AMOSTRAS DE HORMÔNIOS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

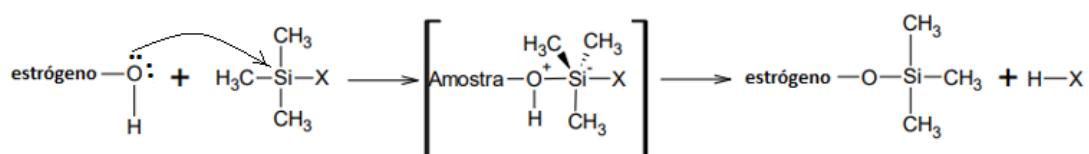
Nesta metodologia as fibras e *holders* podem ser da marca Supelco (Bellophone, EUA), sendo condicionados conforme recomendado no manual do usuário na temperatura de 250 °C durante 30 minutos. As extrações podem ser executadas de modo direto sob agitação magnética, tendo a fibra PDMS/DVB como fase extratora. Outras fases também podem ser empregadas como a PDMS, PDMS/carboxeno (PDMS/CAR) e poliacrilato (PA). A derivatização *in situ*

pode ser executada em conjunto com a extração por SPME, tendo como derivatizante o agente cloroformato de etila (ECF) e a mistura etanol e piridina como catalisador da reação. Após a etapa de extração, a etapa de dessorção térmica pode ser feita no injetor durante 15 minutos, garantindo que a fibra seja mantida por mais 10 minutos após o início da corrida. Após todas as análises a fibra pode ser limpa com 5 mL de etanol com o intuito de evitar danos por possíveis resíduos do derivatizante que possa estar presente. A otimização do preparo pode ser realizada com o uso de ferramentas de planejamento experimental e estudo múltiplas variáveis. Para a extração por SPME pode ser empregada a temperatura de 70 °C, com tempos de extração de 60 minutos, utilizando 11 mL de amostra. Com relação a derivatização *in situ* o pH pode ser mantido em 10 por meio do uso da solução tampão com concentração de 0,50 mol/L+0,30 mL de etanol:piridina na proporção de 3:2+0,16 mL de agente derivatizante ECF [98].

5. METODOLOGIA DE DERIVATIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE HORMÔNIOS

A derivatização é uma reação química que altera determinada estrutura de um analito com o intuito, neste caso, de melhorar o perfil cromatográfico. No caso de hormônios estrogênicos, a etapa de derivatização necessária para evitar de decomposição térmica, aumentar a volatilidade através da redução da interação intermolecular, auxiliando na separação cromatográfica e otimizando a sensibilidade. Grande parte das derivatizações de estrógenos consistem de reações de sililação, na qual um hidrogênio lábil de um ácido, um álcool, uma amina, uma amida, uma cetona enolizável ou aldeído é substituído por um grupamento trimetilsilila gerando um produto mais volátil e termicamente mais estável. Na Figura abaixo está apresentada a reação de substituição nucleofílica S_N2 [92].

Figura 36 Reação de substituição nucleofílica S_N2 de sililação aplicada para estrógenos

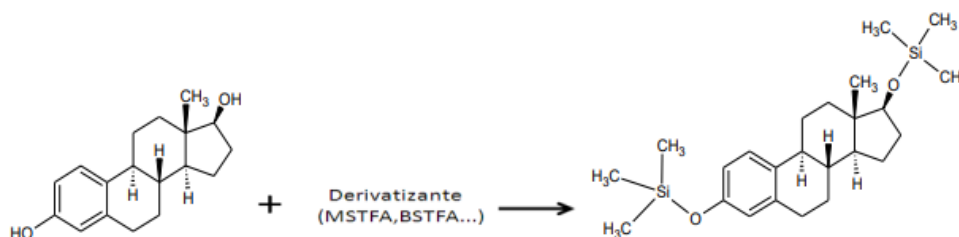


Fonte: [92]

Na reação de substituição nucleofílica o reagente (nucleofílico), que ataca o substrato, leva o par de elétrons para formar a nova ligação química. O grupo que é substituído leva

consigo o par de elétrons da ligação rompida. No mecanismo acima é evidenciado que o ataque do nucleófilo ao átomo de silício ocorre em uma posição de 180° em relação ao nucleófilo (Do Inglês *backside attack*). No estado de transição, o átomo central de silício passa do estado híbrido sp^3 para o sp^2 , adquirindo um orbital p perpendicular, de modo que um lóbulo do orbital p irá formar um *overlap* com o reagente nucleofílico e outro lóbulo irá formar um *overlap* com o nucleófilo. Uma vez que ambos os reagentes estão envolvidos na reação, a equação para a velocidade desta reação será de segunda ordem. Uma característica que ocorre neste tipo de reação é a inversão de configuração. No caso de carbonos quirais a inversão de configuração ocorre uma modificação na atividade óptica, alterando assim a rotação específica $[\alpha]$ da molécula [93]. A Figura abaixo apresenta a reação de derivatização para o 17β -estradiol utilizando como derivatizante MSTFA (N-metil-N-trimetilsilil trifluoroacetamida) ou BSTFA (N,O-bis(trimetilestilsilil)trifluoroacetamida) [92].

Figura 37 Derivatização do estradiol

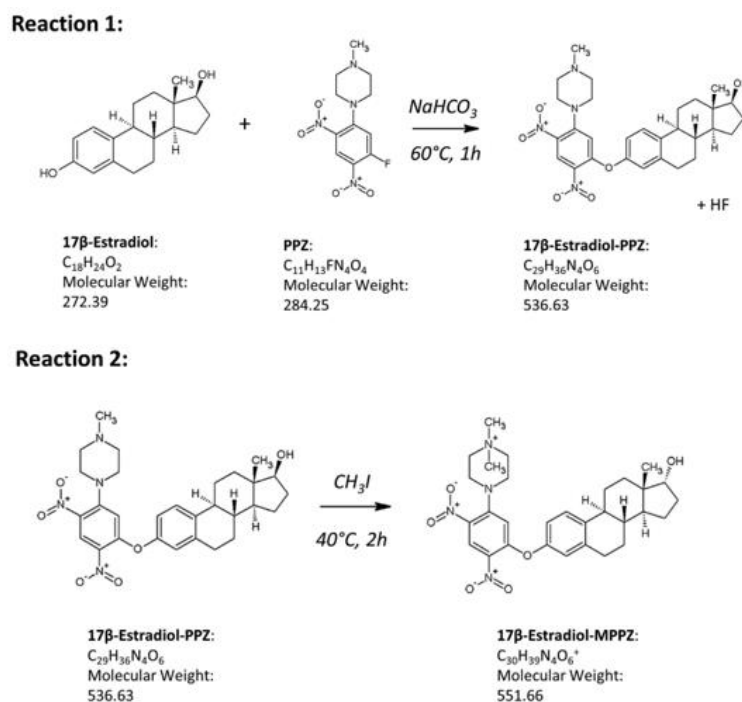


Fonte: [92]

Outras estratégias de derivatização podem ser empregadas para os estrógenos, como a ilustrada na figura abaixo para derivatização do estradiol. Na primeira etapa é incluído o grupo 1-(5-fluoro-2,4-dinitrophenyl)-4- methylpiperazine (PPZ) no 17β -estradiol alterando o grupo fenólico do estradiol para o grupo metilpiperazina. Na segunda etapa é inserido um grupo metílico com intuito de gerar um porção carregada positivamente na estrutura para que a estrutura possa sofrer influência de um campo magnético externo antes da ruptura dentro do espectrômetro de massas [92].

Em esteroides é comum que as carbonilas sejam menos susceptíveis a sofrerem reações de derivatização, no entanto a associação do derivatizante (MSTFA ou BSTFA) com um catalisador apropriado como o iodeto de amônio e um redutor como o mercaptoetanol permite que a reação de derivatização da carbonila seja executada com a formação de enóis. Os derivatizantes MSTFA e BSTFA são mais empregados para a derivatização dos estrógenos E1, E2 e E3 [92].

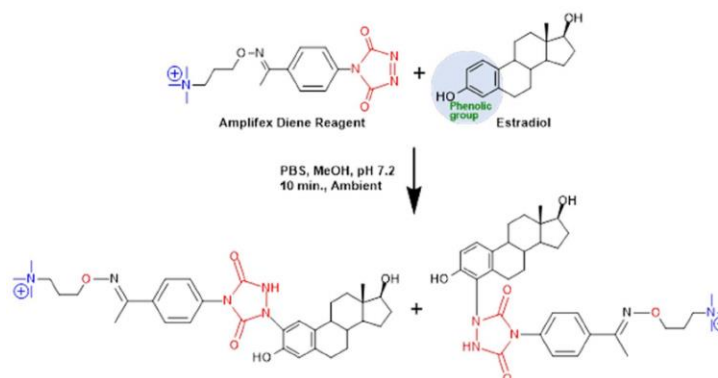
Figura 38 Reação de derivatização em duas etapas na estrutura do estradiol



Fonte: [94]

Na Figura abaixo está ilustrado o método *ESI-Positive LC-MS/MS*, na qual a reação de derivatização consiste na inclusão do reagente *Amplifex Diene* na estrutura do estradiol. O reagente *Amplifex Diene* reage com o grupo fenólico do estradiol, formando dois derivados potenciais com cargas positivas permanentes. A mesma reação pode ser aplicada para a estrona, que também contém o mesmo grupo fenólico do estradiol.

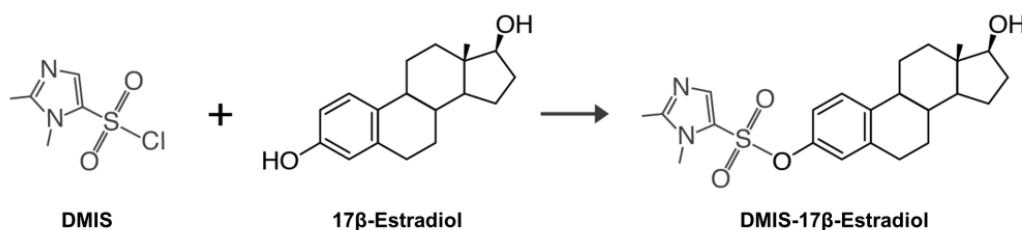
Figura 39 Uso do derivatizante *Amplifex Diene* para inserção no estradiol com o objetivo de análise no *ESI-Positive LC-MS/MS*



Fonte: [95]

Na reação abaixo está sendo utilizado o derivatizante 1,2-dimetilimidazol-5-sulfonil-cloreto (DMIS) para alteração do estradiol. Este tipo de derivatização pode ser aplicado para análise por LC-MS/MS.

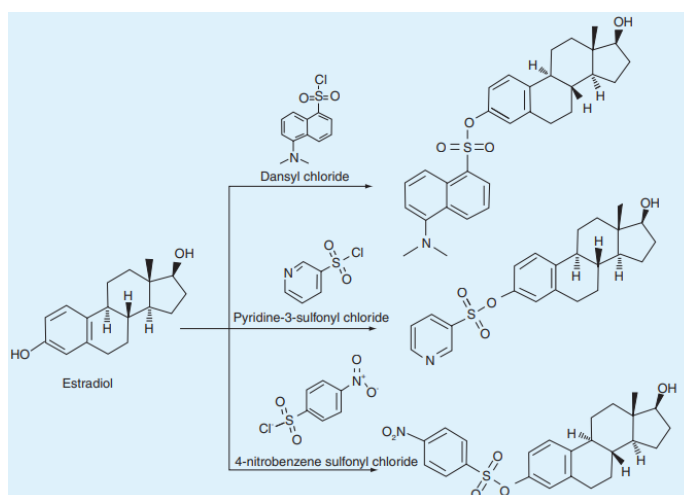
Figura 40 Derivatização do estradiol com o uso do derivatizante DMIS



Fonte: [96]

Na Figura abaixo estão ilustrados outros derivatizantes que podem ser aplicados para o estradiol.

Figura 41 Outros derivatizantes que podem ser aplicados para o estradiol na análise LC-MS/MS



Fonte: [97]

6. APLICAÇÃO DA CROMATOGRAFIA NA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE DIRUPTORES ENDÓCRINOS

No caso do GC-MS as formas de ionização mais empregadas no acoplamento, são o impacto eletrônico (EI) e a ionização química (CI). Essas formas de ionização operam em baixas pressões. Para a análise por GC-MS de hormônios esteroidais é necessário uma etapa adicional no preparo da amostra que é a etapa de derivatização, embora existam alguns

hormônios que possam ser analisados sem esta etapa inicial. A derivatização engloba uma reação química que tem como objetivo alterar os grupos funcionais das moléculas de interesse com a finalidade de aumentar a estabilidade dos analitos frente ao modo de injeção utilizado em GC, evitando sua decomposição térmica, além de aumentar sua volatilidade [73]. Para a quantificação de rotina de contaminantes emergentes (CE) em amostras ambientais os sistemas LC-MS têm se tornado a abordagem mais aplicada, este tipo de montagem possibilita a obtenção de alta sensibilidade e seletividade. A sensibilidade de calibração pode ser definida como a capacidade do método em distinguir, com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas, esse parâmetro reflete o quanto de medida observada é aumentada após o acréscimo de uma unidade em concentração da espécie de interesse. Essa medida não é capaz de informar as diferenças de concentrações que podem ser detectadas, de modo que surge então uma nova figura de mérito denominada sensibilidade analítica. A sensibilidade analítica pode ser definida como a razão entre a inclinação da curva analítica e o desvio padrão do sinal analítico em uma determinada concentração. Esse parâmetro leva em consideração o ruído presente nos sinais de resposta. Em métodos sensíveis, uma pequena diferença na concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido. Esse critério expressa a capacidade do procedimento analítico gerar variação no valor da propriedade monitorada ou medida, causada por pequeno incremento na concentração ou quantidade do analito. Seletividade pode ser definida como o grau em que um método pode quantificar uma substância com precisão na presença de interferências nas condições indicadas do ensaio para a amostra matriz em estudo. Devido a presença de diversas interferências nas condições de ensaio, é impraticável considerar os potenciais interferências. Nesse sentido, é aconselhável estudar apenas mais influentes [102]. Com o uso desses detectores é possível obter limites de detecção na faixa de ng/L. No entanto, a capacidade de identificação de compostos sem padrões de referência é uma limitação destes instrumentos. O uso da espectrometria de massas de alta resolução, do Inglês *High-resolution mass spectrometry* (HRMS) apresenta relevância na identificação desses compostos sem padrões de referência por permitir o registro de cromatogramas no modo janela espectral completa (*full-scan*) e com alta precisão em massa, tornando possível a procura seletiva baseada na massa exata. Sem o uso de padrões de referência, a HRMS permite dois tipos principais de abordagens para identificação de compostos e seus produtos de transformação: *suspect screening*, neste modelo pode-se prever a fórmula molecular e estrutura, ou *non-target screening*, no caso deste último modelo há a dependência de softwares de processamento de dados para a elucidação da estrutura. É comum que estrógenos sejam analisados em LC com ionização negativa e em fase móvel neutra ou

básica, com adição de hidróxido de amônio (NH_4OH), acetato de amônio ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{NH}_4$) ou formiato de amônio (HCO_2NH_4) diretamente ao sistema ou em mistura isocrática, na qual apenas um solvente ou uma mistura de composição constante é aplicada. No caso dos estrógenos é comum que a ionização seja negativa pois o íon detectado é a base conjugada que apresenta carga negativa. Nos estrógenos é comum a presença do anel fenólico na qual apresenta caráter ácido que na presença de hidróxidos reage formando água e sua respectiva base conjugada que apresenta carga negativa. Progestágenos requerem ionização positiva e fase móvel neutra ou modificada com ácido fórmico. No caso dos progestágenos é comum o comportamento de base de Lewis, devido a presença em sua estrutura de grupos receptores de prótons. Essa base conjugada na presença de ácidos reage formando água e seu respectivo ácido conjugado com carga positiva, o que justifica a necessidade do uso de ionização positiva. A ionização da molécula pela fonte ESI ocorre através da adição de um pequeno cátion ou ânion à molécula do analito. No modo de ionização positiva, a carga positiva pode ser transferida para um analito por adição de um próton ou agregação com um íon sódio ou uma molécula carregada positivamente presente no solvente por exemplo, amônio. Os solventes mais utilizados são água, acetonitrila e metanol, com mistura dependente do tipo de coluna utilizada. Os modos de ionização mais utilizados são ionização *eletronspray* (ESI) e ionização química a pressão atmosférica (APCI), ambos operando em modo positivo ou negativo. Conforme ilustrado na tabela abaixo LC-MS e GC-MS e suas variações são metodologias úteis para identificação de fármacos, hormônios e pesticidas no esgoto e em algumas classes de águas [73].

TABELA 2 Correlação das classes de substâncias com os métodos recomendáveis.

Classe	Técnicas Analíticas				
	Esgoto Bruto	Esgoto tratado	Água Superficial	Água subterrânea	Água de abastecimento
Fármacos	LC-MS/MS GC-MS	GC-MS	LC-MS/MS HPLC-UV GC-MS	-	LC-MS/MS
Hormônios	LC-MS/MS GC-MS/MS GC-MS	LC-MS/MS GC-MS/MS	LC-MS/MS HPLC-UV HPLC-FDL	-	GC-MS LC-MS/MS HPLC-FDL
Pesticidas	-	-	LC-MS/MS HPLC-UV HPLC-FDL HRGC-ECD GC-MS/MS GC-MS GC-MS GC-NPD	HPLC-UV HPLC-FDL GC-MS/MS GC-MS GC-MS NPD	LC-MS/MS HPLC-UV HRGC-ECD GC-ECD

Fonte: [1]

Com base no trabalho de revisão publicado por Cassiana C. Montagner e colaboradores [1] na qual foi avaliado o esgoto bruto, o esgoto tratado e algumas classes de águas através de técnicas analíticas como GC-MS, LC-MS e suas variações, foram compartilhados alguns resultados a respeito da concentração mínima e máxima de fármacos, hormônios e pesticidas em ng/L nestes ambientes em diversos estados brasileiros, principalmente nos estados localizados nas regiões sudeste e sul. No esgoto bruto foram obtidos os seguintes resultados: fármacos (13,9 - 3800) ng/L, hormônios (0,56 - 3180) ng/L. No esgoto tratado foram obtidos os seguintes resultados: fármacos (680 - 3800) ng/L, hormônios (0,09 - 2080) ng/L. Na água superficial foram obtidos os seguintes resultados: fármacos (0,50 - 30421) ng/L, hormônios (0,31 - 11130) ng/L, pesticidas (0,5 - 23000) ng/L. Na água subterrânea foi obtido para pesticidas um intervalo de concentração de (10 - 68790) ng/L. Na água de abastecimento público foram obtidos os seguintes resultados: hormônios (1,0 - 340) ng/L, pesticidas (0,2 - 2600) ng/L. Nas matrizes de esgoto bruto e tratado foram pesquisados 34 substâncias, dentre as quais continham hormônios, fármacos e pesticidas. Nas amostras de água de abastecimento público foram investigados 124 contaminantes de diferentes classes incluindo hormônios, fármacos, 26 compostos de uso industrial e pesticidas. Neste grupo de compostos, aproximadamente 45% foram quantificados em pelo menos uma amostra em concentrações acima dos limites de quantificação dos métodos analíticos empregados. Alguns compostos de uso industrial como é caso do xenoestrógeno bisfenol A foram determinados em amostras de esgoto, águas superficiais e de abastecimento público no Brasil em concentrações entre 0,04 e 78250 ng/L [1].

Figura 42 Resumo das condições de análise de amostras de hormônios utilizando LC-MS

Analitos	Matriz	Pré-concentração	Coluna	Modo de ionização	Fase móvel	Detector	LD (ng L ⁻¹)
E1, E2, E3, EE2, GES, DRS, PRO e outros	AS, EF e AF de ETE	SPE (HLB + NH ₂)	Fenil-Hexil (2,1 x 100 mm, 2,5 µm)	ESI (-)	H ₂ O 0,1 mM NH ₄ F e MeOH/ACN 1:3	QqQ (MRM)	0,01 - 3
E1, E2, E3, EE2 e conjugados	AS, EF e AF de ETE	SPE Online (C18)	C18 (2,1 x 50 mm, 1,7 µm)	ESI (-)	H ₂ O e MeOH	QqQ (SRM)	0,030 - 0,063
E1, E2, PRO e outros	Soro, plasma e urina (humano)	Precipitação de proteína	C18 (2 x 100 mm, 3 µm)	FF-APPI (+)	MeOH/H ₂ O 90:10 0,05% Ácido Fórmico + Tolueno (dopante APPI)	QqQ (MRM)	0,2 - 1,0
E1, E2, E3, EE2	EF e AF de ETE	HF-LPME	C18 (2 x 50 mm, 3 µm)	ESI (-)	H ₂ O e MeOH (0,2% NH ₄ OH)	QqQ (MRM)	0,251 - 0,440
E1, E2, E3, EE2	AT	SPE (C18)	C18 (2,1 x 50 mm, 1,9 µm)	ESI (-)	H ₂ O/ACN 60:40 (3% NH ₄ OH 0,2 M)	QqQ (SRM)	0,008 - 0,241
E1, E2	Soro e plasma (humano)	SPE (MCX) e Derivatização (FMP-TS)	C18 (2,1 x 50 mm, 1,7 µm)	ESI (+)	H ₂ O e MeOH (0,1% ácido fórmico)	QqQ (MRM)	0,001
E1, E2, E3, EE2 e outros	EF e AF de ETE	SPE (PEP)	C18 (4,6 x 100 mm, 2,6 µm)	ESI (-)	ACN, MeOH e 0,1% NH ₄ OH	QqQ (SRM)	0,16 - 2,14
E2	Soro (humano)	LLE	C18 (0,5 x 50 mm, 3 µm)	ESI (-)	H ₂ O e MeOH (0,05% NH ₄ OH)	QqQ (MRM)	3

Fonte: [73]

7. LEGISLAÇÃO

7.1 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

7.1.1 CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA)

Segundo a Resolução Conama nº 357, de 17 de março de 2005 (CONAMA, 2005), Capítulo III, Seção I (Das disposições Gerais), Artigo 8º, inciso 4º depreende-se que:

“§ 4º As possíveis interações entre as substâncias e a presença de contaminantes não listados nesta Resolução, passíveis de causar danos aos seres vivos, deverão ser investigadas utilizando-se ensaios ecotoxicológicos, toxicológicos, ou outros métodos cientificamente reconhecidos.”

Esta Resolução não menciona o termo “disruptores endócrinos”, no entanto esclarece que caso haja substâncias não listadas no documento e que apresentam periculosidade considerável e ameaça aos seres vivos, então deverão ser investigadas utilizando-se de ensaios compatíveis ou o uso de metodologias reconhecidas pela comunidade acadêmica. Alguns

trabalhos acadêmicos apresentam resultados de determinações da concentração de estrógenos no esgoto doméstico que variam nas unidades $\mu\text{g/L}$ a ng/L , o que demonstra que a legislação brasileira deveria delimitar um limite de quantificação que contemplem essas ordens de unidade e as ordens de grandeza de contaminação dessas substâncias.

No momento atual (2023), não há uma legislação brasileira que cite os termos "contaminantes emergentes" e disruptores endócrinos". Assim, não há definição e especificação de substâncias que se enquadram nessa categoria, com seus respectivos valores máximos aceitáveis para orientar ações corretivas [60].

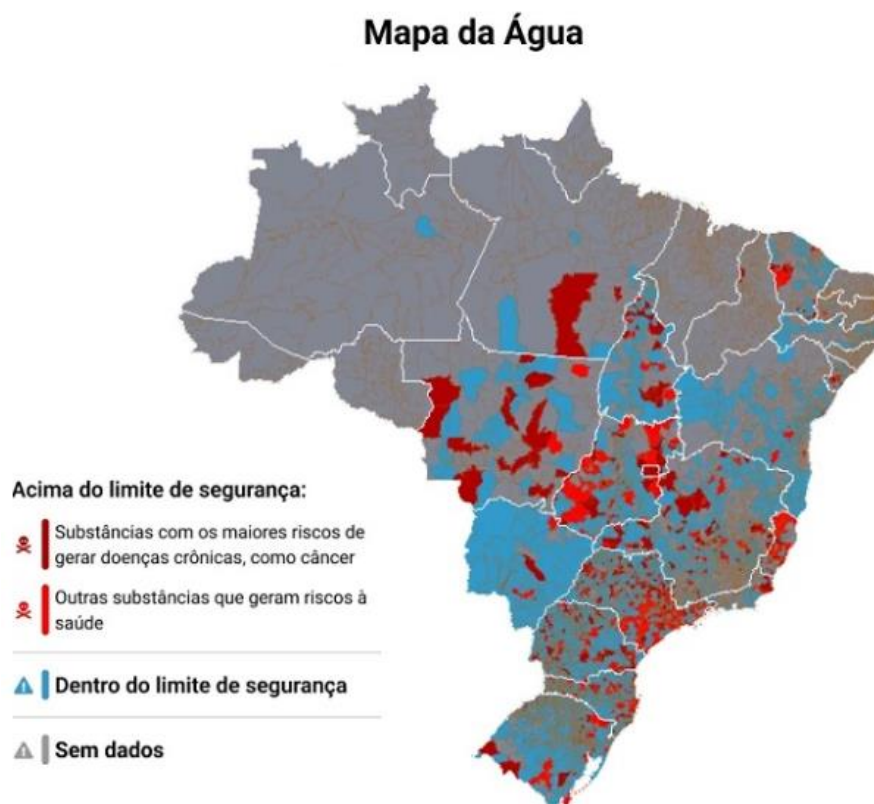
7.1.2 AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA)

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é a agência reguladora responsável por normatizar e monitorar o sistema de vigilância sanitária em âmbito nacional, controlando todos os produtos e serviços sujeitos a controle sanitário. A agência é estruturada sob a forma de autarquia em regime especial e vinculada ao Ministério da Saúde.

A Agência é estruturada pela Lei 9.782, de 26 de janeiro de 1999. A opção pela criação de uma agência reguladora nesse setor se deve a dificuldade de atuação técnica livre de influências políticas, uma vez que as determinações relativas à vigilância sanitária refletem imediatamente em setores de grande força econômica [61].

Considerando a relação intrínseca entre equilíbrio ambiental, qualidade de água e controle sanitário, a ANVISA possui papel fundamental na fiscalização da garantia da qualidade desses setores em todo o país, uma vez que os produtos e serviços que oferecem risco ao equilíbrio dessa relação são, em grande parte, controlados por ela responsáveis por desequilíbrios ambientais da atualidade, devem ser submetidos a análise e aprovação pela ANVISA. Pesquisas recentes têm demonstrado a presença constante de substâncias químicas e radioativas em diversas fontes hídricas, mesmo em águas subterrâneas, sendo que muitas vezes a concentração supera o limite residual permitido, demonstrando o risco do consumo da água dessas regiões. Esses dados podem ser obtidos através de consulta ao Sistema de Informação de Vigilância de Qualidade da Água para Consumo Humano (SISAGUA) e ficam claros quando expostos de maneira gráfica, conforme ilustrado na figura abaixo [61].

Figura 43 Mapa de 2018 a 2019 do Sistema de Informação de Vigilância de Qualidade da Água para Consumo Humano (SISAGUA).



Fonte: [81]

A ligação da ANVISA ao Ministério da Saúde reforça a importância da atuação dessa entidade como uma asseguradora da qualidade de vida do cidadão brasileiro, deixando claro que sua atuação é essencial para a garantia da saúde de toda a população, além disso, considerando também que a definição dos padrões de potabilidade da água é atribuição do Ministério da Saúde. A atuação da ANVISA é indispensável, uma vez que por meio de suas atividades é possível avaliar quais substâncias podem ser autorizadas para serem utilizadas no país e, portanto, em contato com o meio ambiente e com as fontes hídricas. Devido a conjuntura da legislação atual delimitada pela ANVISA o meio ambiente está sendo contaminado por substâncias que ainda não foram abrangidas pela legislação. Ao atuar de maneira mais restritiva a ANVISA dificulta a contaminação ambiental, facilitando a atuação dos demais agentes, porém restrições excessivas podem dificultar o desenvolvimento econômico do país, conflitando com interesses múltiplos, dessa forma a atuação deve ser na medida do necessário para garantir a preservação e segurança ambientais, mas ao mesmo tempo permitir o desenvolvimento econômico. Dessa forma, fica claro que a ANVISA integra o sistema de agentes responsáveis

por garantir a qualidade da água, pois suas ações influem diretamente na qualidade ambiental em todo o país, logo, apesar de pouco lembrada, ela é essencial na prevenção facilitando a atuação dos demais agentes [61].

7.2 LEGISLAÇÕES NO EXTERIOR

O Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente, do Inglês *United Nations Environment Programme* (UNEP) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) avaliam como essencial e imprescindível o conhecimento da origem e destino dos contaminantes emergentes no ambiente, de modo que esse objetivo configura-se como um desafio substancial, uma vez que este grupo compreende-se mais de mil substâncias registradas [61].

Com base em publicações é de conhecimento mútuo o nível de periculosidade que estes compostos podem gerar no ambiente e nos seres humanos. Nesse sentido, diversos países implementaram metodologias para a priorização de contaminantes ambientais. Nos Estados Unidos a Agência de Proteção Ambiental (EPA) disponibilizou em 2015 a *Contaminant Candidate List-4* (CCL-4), a quarta atualização de uma lista de contaminantes candidatos a futura regulamentação nos termos da lei para águas tratadas (*Safe Drinking Water Act*, SDWA). Neste documento estão incluídos os cem grupos químicos, estrogênicos, fármacos, produtos de higiene pessoal, produtos de uso industrial e pesticidas. Outro programa registrado por essa organização é denominado *Endocrine Disruptor Screening Program* (EDSP), na qual objetiva-se efetuar uma classificação de compostos com relação à perturbação endócrina. Neste programa alguns procedimentos são divididos em etapas. A primeira etapa é constituída de um estudo substâncias objetivando identificar quais delas tem potencial para interagir com o sistema endócrino, e os compostos-alvo do estudo são selecionados com base em rotas de exposição. Os compostos que estão nesta etapa e que apresentam resposta de interferência endócrina podem ser encaminhados para os testes de efeito no sistema endócrino, visando buscar relação com a dose-resposta do efeito. Os resultados obtidos da segunda etapa são utilizados para a avaliação de risco do composto [61].

Na Europa, as ações legislativas para levantar os compostos prioritários iniciou-se no final dos anos 90. Foi estabelecido uma metodologia para priorização de substâncias que agem ou são suspeitas de agirem como interferentes endócrinos, de modo que os principais critérios para a classificação da substância em diferentes grupos foram o volume de produção, a revisão de listas de prioritários já existentes, o grau de persistência no ambiente, evidências científicas sobre os efeitos adversos e o grau de exposição da biota e de seres humanos aos contaminantes.

Após mais de uma década de pesquisa, os resultados científicos de relevância regulatória para a União Europeia foram apresentados no documento “*State of the art assessment of endocrine disruptors*”. A priorização foi estabelecida comparando os valores conhecidos como PNEC (do Inglês, *Predicted No-Effect Concentration*) que indica a máxima concentração que um contaminante pode estar na água e que não se espera que ocorram efeitos crônicos na biota, com os respectivos MEC (do Inglês, *Measured Exposure Concentration*) que são as concentrações máximas do contaminante medidas na água. Na terceira etapa, foi proposto realizar avaliações de efeitos e biodisponibilidade dos contaminantes emergentes nos locais mais críticos [61].

8. CONCLUSÃO

Alguns dados evidenciam que a atividade antrópica está contaminando o ambiente com substâncias difíceis de serem percebidas devido as suas baixas concentrações através de métodos usuais, mas que métodos mais sensíveis são capazes de detectá-las. Os resultados de alguns artigos evidenciam que essas substâncias são capazes de provocar efeitos maléficos para o meio ambiente e para os seres humanos como é o caso para alguns hormônios seja pela sua estabilidade química ou pelo seu contínuo lançamento através das estações de esgoto. A possibilidade de que a exposição a esses contaminantes esteja causando alterações no sistema reprodutor do ser humano, é um sinal de alerta para a geração atual. Baseado nas classes químicas apresentadas é possível perceber que existem uma quantidade considerável de desreguladores endócrinos de natureza orgânica, neste caso a cromatografia líquida (LC-MS) e gasosa acopladas ao espectrômetro de massa (CG-MS) podem ser úteis para identificação desses contaminantes.

No Brasil ainda não há uma legislação que especifica sobre o que é um disruptor endócrino e qual deve ser seu limite de tolerância no ambiente. Através das informações retiradas de alguns trabalhos acadêmicos é possível observar que este tipo de preocupação da contaminação do ambiente com esses compostos está mais presente nas legislações internacionais como é o caso da legislação da Califórnia EPA (United States Environmental Protection Agency).

Foi observado que a concentração média de fármacos e hormônios em águas superficiais pode ser consideravelmente superior a concentração média no esgoto bruto, o que permite inferir que grande parte destes contaminantes são persistentes e que estão sendo acumulados no

ambiente ao longo do tempo. Este resultado apresenta utilidade como sinal de alerta, uma vez que a maioria destes compostos não possui padrões de emissão e, portanto, não há um valor máximo designado especificamente ao lançamento deste tipo de contaminante no efluente. O preparo de amostra por extração SPE e SPME consistem em metodologias com grande serventia para a investigação de contaminantes emergentes em amostras aquosas, devido a eficiência dos princípios das respectivas metodologias e devido a economia de solvente quando comparadas com a metodologia ELL, além de conferir seletividade à extração de classes de compostos de interesse devido à grande variedade de fases extratoras disponíveis no mercado.

9. REFERÊNCIAS

- [1] CASSIANA C. MONTAGNER; CRITIANE VIDAL; RAPHAEL D. ACAYABA; **CONTAMINANTES EMERGENTES EM MATRIZES AQUÁTICAS DO BRASIL: CENÁRIO ATUAL E ASPECTOS ANALÍTICOS, ECOTOXICOLÓGICOS E REGULATÓRIOS.** Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170091>. Acesso: 25/02/2021.
- [2] CERQUEIRA, JULIANE. Trabalho de conclusão de curso: **Avaliação ecotoxicológica dos anti-histamínicos cetirizina e loratadina para zooplânctônicos.** UFS, São Cristóvão - SE 2017. Disponível em: https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/12720/2/Juliane_Cerqueira_Freitas.pdf. Acesso: 25/02/2021.
- [3] DA SILVA, J. S.; FABRIZ, F. S.; FIGUEIREDO, W. J.; **Determinação de contaminantes emergentes em mananciais de água bruta e na água para consumo humano do Distrito Federal;** Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/13822/1/2013_JoyceSilvaSantana.pdf. Acesso: 25/02/2021.
- [4] STEPHEN, H. S. **Endocrine Disruptors and Human Health: Is There a Problem? An Update.** Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/abs/10.1289/ehp.00108487>. Acesso: 23/10/2022
- [5] TORDIN, C.; **Contaminantes emergentes podem ser uma ameaça na água para consumo humano.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/32796742/contaminantes-emergentes-podem-ser-uma-ameaca-na-agua-para-consumo-humano>

- [6] ALESSANDRA HONJO IDEL , FERNANDA DITTMAR CARDOSO , MAURÍCIUS MARQUES DOS SANTOS , RAFAEL DUARTE KRAMER, JÚLIO CÉSAR RODRIGUES DE AZEVEDO , ALINNE MIZUKAWA. **Utilização da Cafeína como Indicador de Contaminação por Esgotos Domésticos na Bacia do Alto Iguaçu.** Disponível em: http://abrh.s3.amazonaws.com/Sumarios/98/06d7d8ece304eb1b00a0750cb8016c67_d44342a5bbb584fc89c350c82ed05607.pdf. Acesso: 10/10/2022.
- [7] MARIA, E. F. C.; MARA, P. S. HOHL3, A. TÂNIA, A.S.S.B.; **Effects of endocrine disruptors in the development of the female reproductive tract.** Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0004-2730000003031>. Acesso: 15/03/2023.
- [8] LINO DEL PUP , ALBERTO MANTOVANI , CARLA CAVALIERE , GAETANO FACCHINI , AMALIA LUCE , PASQUALE SPERLONGANO , MICHELE CARAGLIA and MASSIMILIANO BERRETTA; **Carcinogenetic mechanisms of endocrine disruptors in female cancers (Review).** Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.2016.4886>. Acesso: 15/03/2023.
- [9] C. Castro-Correia; M. Fontoura; **A influência da exposição ambiental a disruptores endócrinos no crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes.** Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1646343914000674>. Acesso: 15/03/2023.
- [10] Anita A. Thambirajah a , Michael G. Wade b , Jonathan Verreault c , Nicolas Buisine d , Veronica ^ A. Alves e , Valerie S. Langlois e , Caren C. Helbing a. **Disruption by stealth - Interference of endocrine disrupting chemicals on hormonal crosstalk with thyroid axis function in humans and other animals.** Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935121012019>. Acesso: 15/03/2023.
- [11] Andrea C. Gore, PhD David Crews, PhD Loretta L. Doan, PhD Michele La Merrill, PhD, MPH Heather Patisaul, PhD Ami Zota, ScD, MS. **INTRODUÇÃO AOS DISRUPTORES ENDÓCRINOS (DEs) UM GUIA PARA GOVERNOS E ORGANIZAÇÕES DE INTERESSE PÚBLICO.** Disponível em: https://www.endocrino.org.br/media/uploads/PDFs/ipen-intro-edc-v1_9h-pt-print.pdf. Acesso: 26/10/2022
- [12] Christopher J. Martyniuk a,* , Rub´en Martínez b , Laia Navarro-Martín b , Jorke H. Kamstra c , Adam Schwendt d,e , St´ephane Reynaud f , Lorraine Chalifour; **Emerging concepts and opportunities for endocrine disruptor screening of the non-EATS modalities.** Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111904>. Acesso: 15/03/2023
- [13] Biswa Nath Bhadra, Hye Jin Lee, Sung Hwa Jhung *; **Adsorptive removal of herbicides with similar structures from water over nitrogen-enriched carbon, derived from**

- melamine@metal-azolate framework-6.** Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111991>. Acesso: 15/03/2023.
- [14] Sze Yee Wee, Ahmad Zaharin Aris*; **Endocrine disrupting compounds in drinking water supply system and human health risk implication.** Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2017.05.004>. Acesso: 15/03/2023.
- [15] ROBERTO, JOÃO P.D. F. G. ; **Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional.** Disponível em: Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional. Acesso: 26/10/2022.
- [16] Wissem Mnif 1,2, Aziza Ibn Hadj Hassine 1 , Aicha Bouaziz 1 , Aghleb Bartegi 3 , Olivier Thomas 4 and Benoit Roig; **Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review.** Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-4601/8/6/2265>. Acesso: 15/03/2023.
- [17] Rosa Laurretta 1 , Andrea Sansone 2 , Massimiliano Sansone 2 , Francesco Romanelli 2 and Marialuisa Appetecchia 1; **Endocrine Disrupting Chemicals: Effects on Endocrine Glands.** Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2019.00178/full>. Acesso: 15/03/2023.
- [18] Tuan Fauzan Tuan Omar; bAzrilawani Ahmad; a,cAhmad Zaharin Aris*; d 5 Fatimah 6 Md. Yusoff; **Endocrine Disrupting Compounds (EDCs) in environmental and biota matrices: Review 2 of analytical strategies for pharmaceuticals, estrogenic hormones and alkylphenol 3 compounds.** Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993616300917>. Acesso: 15/03/2023.
- [19] Christopher J. Martyniuk a,* , Rub´en Martínez b , Laia Navarro-Martín b , Jorke H. Kamstra c , Adam Schwendt d,e , St´ephane Reynaud f , Lorraine Chalifour; **Emerging concepts and opportunities for endocrine disruptor screening of the non-EATS modalities.** Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935121011993>. Acesso: 15/03/2023.
- [20] Julie Boberg*, Camilla Taxvig, Sofie Christiansen, Ulla Hass; **Possible endocrine disrupting effects of parabens and their metabolites.** Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S089062381000078X>. Acesso: 15/03/2023.
- [21] DANIEL THAU TEITELBAUM, MD; **The Toxicology of 112-Dibromo-3-chloropropane (DBCP);** To cite this article: Daniel Thau Teitelbaum (1999) The Toxicology of 1,2-Dibromo-3- chloropropane (DBCP): A Brief Review, International Journal of

Occupational and Environmental Health, 5:2, 122-126, DOI: 10.1179/oeh.1999.5.2.122. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1179/oeh.1999.5.2.122>. Acesso: 15/03/2023.

[22] Nadia Abdelouahab, Marie-France Langlois, Laetiscia Lavoie, François Corbin, Jean-Charles Pasquier, and Larissa Takser*; Maternal and Cord-Blood Thyroid Hormone Levels and Exposure to Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls During Early Pregnancy. Disponível em: <https://academic.oup.com/aje/article/178/5/701/89165>. Acesso: 15/03/2023.

[23] Jorma Toppari a,b,*, Anders Juul c; **Trends in puberty timing in humans and environmental modifiers.** Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720710001589>. Acesso: 15/03/2023

[24] CRISTINA CASALS-CASAS; BEATRICE DESVERGNE. **Endocrine Disruptors: From Endocrine to Metabolic Disruption.** Center for Integrative Genomics, Faculty of Biology and Medicine, University of Lausanne, Lausanne, 1015 Switzerland. Disponível em: <https://asset-pdf.scinapse.io/prod/2133461377/2133461377.pdf>. Acesso: 26/10/2022.

[25] R. W. REIS FILHO, 1 R. LUVIZOTTO-SANTOS2 & E. M. VIEIRA3*; Poluentes Emergentes como Desreguladores Endócrinos. Disponível em: [https://ecotoxbrasil.org.br/upload/6a047732d936ee408a72cccaf550367e-revista%20completa%20jbse v2n3 1007\(final\).pdf#page=87](https://ecotoxbrasil.org.br/upload/6a047732d936ee408a72cccaf550367e-revista%20completa%20jbse v2n3 1007(final).pdf#page=87). Acesso: 15/03/2023.

[26] Daichi Nakamura a, Yukie Yanagibaa, Zhiwen Duana, Yuki Itoa,1, Ai Okamura a, Nobuyuki Asaeda b, Yoshiaki Tagawa b, ChunMei Li c,d, Kazuyoshi Tayac,d, Shu-Yun Zhanga,2, Hisao Naitoa, Doni Hikmat Ramdhana, Michihiro Kamijimaa,1, Tamie Nakajimaa; **Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol.** Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378427410000561>. Acesso: 16/03/2023.

[27] FLAVIA, A. L. G.; FAVORETO, R.; SANTIAGO, M.S.; **CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS.** Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/p7swYrSbMLjhhYVFLH6Mpdw/?lang=pt>. Acesso: 16/03/2023.

[28] ALMEIDA, D. M.; **COMPOSTOS PER- E POLIFLUOROALQUILADOS EM AMBIENTES TROPICAIS: DEGRADAÇÃO, DISPERSÃO E BIOMAGNIFICAÇÃO.** Disponível em: https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/32936/1/Daniele%20Miranda%20%28Tese_Vers%C3%A3o%20Final%29.pdf. Acesso: 16/03/2023.

- [29] Dina GALHANAS, Ricardo SALGADO, Lisete EPIFÂNIO, Ana M.T.MATA, João P. NORONHA, Ana M. BARREIROS; **Estudos de biodegradação de retardadores de chama em águas residuais: reactores à escala laboratorial monitorizados por HPLC**. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Ana-Barreiros-2/publication/320107389_Estudos_de_biodegradacao_de_retardadores_de_chama_em_aguas_residuais_reactores_a_escala_laboratorial_monitorizados_por_HPLC/links/5ba14666299bf13e603bb715/Estudos-de-biodegradacao-de-retardadores-de-chama-em-aguas-residuais-reactores-a-escala-laboratorial-monitorizados-por-HPLC.pdf. Acesso: 16/03/2023.
- [30] VEIGA, F.S.; LISBOA, R.; LEMOS, R.; PALMA, D.O.; **Alquilfenóis e alquilfenóis etoxilados: uma visão do ambiental**. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Bruno-Batista-4/publication/251811837lquilfenois_e_alquilfenois_etoxilados_uma_visao_ambiental/links/0deec52a1e6a3d13f1000000/Alquilfenois-e-alquilfenois-etoxilados-uma-visao-ambiental.pdf. Acesso: 16/03/2023.
- [31] Johanna R. Rochester; **Bisphenol A and human health: A review of the literature**. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0890623813003456>. Acesso: 16/03/2023.
- [32] Matthias Wittasseka , Gerhard Andreas Wiesmüller , Holger Martin Kocha , Rolf Eckardt , Lorenz Dobler , Johannes Müller , Jürgen Angerer , Christoph Schlüter; **Internal phthalate exposure over the last two decades – A retrospective human biomonitoring study**. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17400024/>. Acesso: 16/03/2023.
- [33] Lucy Howard*; Andrew Birnie; Robert Sarkany; **Comment on Benzophenone Accumulates over Time from the Degradation of Octocrylene in Commercial Sunscreen Products; Department of Dermatology**. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.1c00265>. Acesso: 16/03/2023.
- [34] Robert Bigsby,¹ Robert E. Chapin,² George P. Daston,³ Barbara J. Davis,² Jack Gorski,⁴ L. Earl Gray,⁵ Kembra L. Howdeshell,⁶ R. Thomas Zoeller,⁷ and Frederick S. vom Saal⁶. Evaluating the Effects of Endocrine Disruptors on Endocrine Function during Development. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/abs/10.1289/ehp.99107s4613>. Acesso em: 02/11/2022.
- [35] A. CZARNYWOJTEK^{1,2}, K. JAZI , A. OCHMAŃSKA², M. ZGORZALEWICZ-STACHOWIAK³, B. CZARNOCKA⁴, N. SAWICKA-GUTAJ², P. ZIÓŁKOWSKA², I.

KRELA-KAŻMIERCZAK⁵, P. GUT², E. FLOREK⁶, M. RUCHAŁA². Disponível em: <https://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/4930-4940.pdf>. Acesso: 16/03/2023.

[36] ALMEIDA, F. B. G. ; CÉSAR, J. R. A. ; **CONTAMINANTES EMERGENTES EM UM PAÍS EMERGENTE: Estudo de caso no Rio Barigui**; UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL; DISSERTAÇÃO; CURITIBA 2017.

Disponível em: http://riut.utfpr.edu.br/jsp/bitstream/1/2862/1/CTPPGCTA_M_Goulart%2c%20Almeida%20Brehm_2017.pdf. Acesso: 30/05/2022.

[37] WAGNER, R. R. F.; COUTINHO, J. A., MARIA, E. V. ; **Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos**. Scielo, Brasil; Química Nova ; Julho de 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/5f96G9md3dmtv3mj7nnQQ3d/?lang=pt>. Acesso: 30/05/2022.

[38] C. Porta a , G. Janera , L.C. Lorusso b , M. Ortiz-Zarragoitia c , M.P. Cajaraville c , M.C. Fossid ,L. Canesi e,*.**Endocrine disruptors in marine organisms: Approaches and perspectives**. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1532045606000792>. Acesso em: 02/11/2022.

[39] Matthew R. Milnes, Dielrich S. Bermudez, Teresa A. Bryan, Thea M. Edwards, Mark P. Gunderson, Iskande L.V. Larkin, Brandon C. Moore, Louis J. Guillette Jr. ; **Contaminant-induced feminization and demasculinization of nonmammalian vertebrate males in aquatic environments**. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15913597/>. Acesso: 31/05/2022.

[40] Oscar M. Rodriguez-Narvaez ^a, Juan Manuel Peralta-Hernandez ^a, Ashantha Goonetilleke ^b, Erick R. Bandala; **Treatment technologies for emerging contaminants in water: A review**.

Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1385894717306502?fr=RR-2&ref=pdf_download&rr=71245e856a27a5d9. Acesso em: 25/05/2022.

[41] SOLDERA, B.; **O que são os Contaminantes Emergentes?** Publicado em 20 de agosto. Disponível em: <https://www.aguasustentavel.org.br/blog/77-o-que-sao-os-contaminantes-emergentes-#:~:text=Dentre%20eles%20pode%20se%20destacar,rem%C3%A9dios%2C%20pesticidas%20e%20drogas%20il%C3%ADcitas>. Acesso: 12/04/2021.

[42] JOSÉ, SANTAMARTA. A ameaça dos disruptores endócrinos.

Disponível em: <https://acpo.org.br/arquivos/pagina-biblioteca/agenda-marrom/interferentes-hormonais/6-santamarta-interferentes-hormonais.pdf>. Acesso em : 01/11/2022.

[43] Linda S. Birnbaum and Suzanne E. Fenton; Cancer and Developmental Exposure to Endocrine Disruptors; 1Experimental Toxicology and 2Reproductive Toxicology Divisions, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina, USA. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/3435245>. Acesso: 16/03/2023.

[44] COSTA, D. L.; COSTA, J. D. O.; STIER, P. H. **FORMAS DE DETECÇÃO DA CROMATOGRAFIA LÍQUIDA**. Disponível em:

<https://repositorio.uninter.com/bitstream/handle/1/941/DAYANE%20LINDS EY%20COSTA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso: 13/06/2022.

[45] Hyun-Shik Changa, Kwang-Ho Chooa*, Byungwhan Lee b, Sang-June Choi a. The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water. Department of Environmental Engineering, Kyungpook National University, 1370 Sankyok-Dong, Buk-Gu, Daegu702-701, Republic of Korea. Department of Chemical System Engineering, Keimyung University, 2800 Dalgubeoldaero, Dalseo-Gu, Daegu 704-701, Republic of Korea. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389409010620>. Acesso em: 09/11/2022.

[46] BERNSTEIN; A.; **CONTAMIANES EMERGENTES NA ÁGUA**; Professora associada da Fundação Cecierj, mestre em Bioquímica, doutora em Biotecnologia (UFRJ). Acesso: 10/04/2023. Disponível em: <https://educacaopublica.cecierj.edu.br/artigos/22/34/contaminantes-emergentes-na-agua>.

[47] Maria Elena Crespo-López² Marcus Augusto-Oliveira³ Priscila Yuki Takeda⁴ Leticia Santos-Sacramento⁵ Amanda Lopes-Araújo⁶ Gabriela de Paula Arrifano⁷; **MERCÚRIO NA AMAZÔNIA UMA BREVE CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA**. Acesso: 10/04/2023. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/353379485>.

[48] CARVALHEIRA; R. G.; **CONTAMINAÇÃO POR MERCÚRIO E METAS DE DESPOLUIÇÃO DA BAÍA DE GUANABARA, RIO DE JANEIRO-RJ: PROGNÓSTICO DE RISCO ECOLÓGICO POTENCIAL E DA BIOACUMULAÇÃO EM PEIXES**. Acesso em: 10/04/2023. Disponível em: https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/3029/Carvalho%202012_final2.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- [49] ILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. *Química Nova*, v. 26(4), p. 523-530, 2003. Acesso em: 10/04/2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/CL8FpLGxfhZqM66TMgPp9Xw/?format=pdf&lang=pt>
- [50] SONDRÉ, F.F.; Interferentes Endócrinos como Contaminantes Emergentes: Uma questão de saúde pública; Grupo de Automação, Quimiometria e Química Ambiental (AQQUA), Instituto de Química, Universidade de Brasília, Caixa Postal 4478, CEP 90970-100, Brasília, DF. Acesso em: 10/04/2023. Disponível em: <https://www.aqua.unb.br/images/Artigos/Tematicos/emergentes.pdf>.
- [51] CAMELO, A.S.B.; Exposição in utero a desreguladores endócrinos: níveis de dano genético em crianças. Dissertação de Candidatura ao grau de Mestre em Toxicologia e Contaminação Ambientais submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto. Acesso em: 10/04/2023. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/109623/2/235985.pdf>
- [52] ABREU, C.R.C.; EXPOSIÇÃO A DESREGULADORES ENDÓCRINOS E SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA. Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de PósGraduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. Acesso em: 10/04/2023. Disponível em: https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/24892/1/2017_ClezioRodriguesdeCarvalhoAbreu.pdf
- [53] Vladimir Turusov, Valery Rakitsky,² and Lorenzo Tomatis³; Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): Ubiquity, Persistence, and Risks; Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): Ubiquity, Persistence, and Risks Author(s): Vladimir Turusov, Valery Rakitsky and Lorenzo Tomatis Source: *Environmental Health Perspectives*, Vol. 110, No. 2 (Feb., 2002), pp. 125-128. Acesso em: 10/04/2023. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/abs/10.1289/ehp.02110125>.
- [54] Caroline M. Markey, Beverly S. Rubin, Ana M. Soto, Carlos Sonnenschein; Endocrine disruptors: from Wingspread to environmental developmental biology; Department of Anatomy and Cellular Biology, Tufts University School of Medicine, 136 Harrison Avenue, Boston, MA 02111-1800, USA. Acesso em: 10/04/2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960076002002728>
- [55] Andrea C. Gore, PhD, Universidade de Texas em Austin David Crews, PhD, Universidade de Texas em Austin Loretta L. Doan, PhD, Endocrine Society Michele La Merrill, PhD, MPH, Universidade de Califórnia em Davis Heather Patisaul, PhD, Universidade Pública, Carolina

do Norte Ami Zota, ScD, MS, Universidade George Washington; INICIATIVA CONJUNTA DA ENDOCRINE SOCIETY IPEN, PARA A CONSCIENTIZAÇÃO GLOBAL SOBRE OS DISRUPTORES ENDÓCRINOS (DEs). Acesso em: 10/04/2023. Disponível em: https://www.endocrino.org.br/media/uploads/PDFs/ipen-intro-edc-v1_9h-pt-print.pdf

[56] SOUZA, A. T. F.; ANÁLISE HISTÓRICO-EPISTEMOLÓGICA PARA UM SABER SOBRE CIÊNCIAS; UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE CENTRO DE EDUCAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO; Dissertação apresentada ao Programa de PósGraduação em Educação da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito para obtenção do Título de Mestra em Educação. Orientador: Prof. Dr. André Ferrer Pinto Martins; NATAL - RN 2021. Acesso: 12/04/2023. Disponível em: https://repositorio.ufrn.br/bitstream/123456789/44812/1/RachelCarsonprimavera_Souza_2021.pdf.

[57] MAIA, A.B.L.; REGIME DE RESPONSABILIDADE PELOS DANOS CAUSADOS PELOS CONTAMINANTES EMERGENTES COMO RISCO DO DESENVOLVIMENTO; Centro Universitário de Brasília – UniCEUB Instituto CEUB de Pesquisa e Desenvolvimento - ICPD Programa de Mestrado em Direito e Políticas Públicas. Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Direito e Políticas Públicas do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB, na área de concentração, Políticas Públicas, Relações Privadas e Desenvolvimento, como requisito para obtenção do título de Mestre em Direito. Orientador: Prof. Dr. Héctor Valverde Santanna. Acesso: 12/04/2023. Disponível em: <https://repositorio.uniceub.br/jspui/bitstream/prefix/15085/1/61700059.pdf>.

[58] BILA, D. M.; DEZOTTI, M.; **Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências**. Coordenação dos Programas de Pós-graduação de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CP 68501, 21945-970 Rio de Janeiro, Brasil. Acesso em 28/04/2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300027>.

[59] RIBEIRO, C. J. A.; REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE REMOÇÃO DE DISRUPTORES ENDÓCRINOS DE ÁGUA PARA ABASTECIMENTO DOMÉSTICO. Acesso: 28/04/2023. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/BUOS-ASVM8Q/1/revis_o_bibliogr_fica_desa_2012.pdf.

[60] GUILLEN, R. D. M. ; ÁGUA TÓXICA: CONTAMINANTES EMERGENTES E A UNIVERSALIZAÇÃO DO ACESSO À ÁGUA DE QUALIDADE. Acesso: 28/04/2023. Disponível em:

https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/238503/guillen_rdmme_fran.pdf?sequence=3

[61] BRANDT, E.M.F.; AQUINO, S.F.; BASTOS, R.K.X.; Revisão do Anexo XX da Portaria de Consolidação no 5 de 28 de setembro de 2017 do Ministério da Saúde (antiga Portaria MS Nº 2914/2011) Padrão de Potabilidade e Planos de Amostragem Substâncias Químicas – Fármacos e Desreguladores Endócrinos Subsídios para Discussão e Orientações para Revisão. Acesso: 02/05/2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/acao-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/2020/arquivos/DOCSNTESEFRMACOSEDISRUPTORESENDCRINOS1.pdf>

[62] SOUZA, L. S. ; EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA UTILIZANDO POLÍMERO DE IMPRESSÃO MOLECULAR PARA A DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA. Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Instituto de Química – IQ, da Universidade de Brasília – UnB, como requisito parcial ao programa de graduação em Química Tecnológica, para obtenção do título de Bacharel em Química Tecnológica, Brasília, dezembro de 2018. Acesso: 02/05/2023. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/23862/1/2018_LuanaSilvaSousa_tcc.pdf

[63] CASTRO, I.M.; ANJOS, M. R. ; QUINTEIRO, L.M.C.; Aplicação da Microextração em Fase Sólida na Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos. Embrapa Agroindústria de Alimentos Av. das Americas, 29501 - Guaratiba. Rio de Janeiro, RJ - Brasil - CEP 23020-470. Acesso: 02/05/2023. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/74953/1/pub-206.pdf>

[64] Josias Merib, Eduardo Carasek* Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Cep 88040-900, Florianópolis, SC, Brazil. Scientia Chromatographica 2013; 5(4):249-262 Instituto Internacional de Cromatografia. Acesso: 02/05/2023. Disponível em: <https://www.iicweb.org/scientiachromatographica.com/files/v5n4a01.pdf>.

[65] GUILHERME, C.D.; DIAS, C.N.; FERREIRA JR, D. A.; RAIMUNDO, G.A.S.; BEATI; A.A.G.; MAGDALENA, R.A.V.C.; CARVÃO ATIVO DE MATERIAIS ALTERNATIVOS COMO ADSORVENTE DE POLUENTES AMBIENTAIS, Bragança Paulista 2019. Acesso: 02/05/2023. Disponível em: <https://www.conic-semesp.org.br/anais/files/2019/1000004275.pdf>

[66] DCTECH, Laboratory Technologies. Entendendo o sistema de um Cromatógrafo Gasoso (CG). Acesso: 02/05/2023. Disponível em: <https://www.dctech.com.br/entendendo-um-sistema-de-cromatografia-gasosa-cg/>

- [67] LANÇAS, F.M.; **A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “compatíveis”?**. Universidade de São Paulo Instituto de Química de São Carlos 13560-970 – São Carlos (SP) Brasil. Acesso: 02/05/2023. Disponível em : https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/7134917/mod_resource/content/0/A%20Cromatografia%20L%C3%ADquida%20Moderna%20-%20v1n2a4.pdf.
- [68] PONTELLI, R. C. N.; **Desreguladores endócrinos e síndrome do olho seco**; Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP da Universidade de São Paulo para obtenção do título de doutor em Ciências. Acesso: 11/05/2023. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17150/tde-18082020-220524/publico/REGINACELIANUCCIPONTELLIco.pdf>
- [69] BRITO, GIOVANNA. **Fisiologia do sistema reprodutor feminino**. Tratado de Fisiologia Médica, Guyton & Hall, 12ª edição. Acesso: 24/05/2023. Disponível em: <https://resumosmedicina.com.br/tudosobrefisiologiadossistemareprodutorfeminino/>.
- [70] PIAZZA, M. J.; URBANETZ, A. A.; CARVALHO, N. S.; **Malformações genitais e erros genéticos**. Acesso: 26/05/2023. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/0100-7254/2011/v39n1/a2383.pdf>.
- [71] FREIRE, E. F.; MIRANDA, J. L.; MAIA, P. P.; VIEIRA, E. P.; BORGES, K. B.; SIQUEIRA, M. E. P. B.; Diazepam e nordiazepam em plasma: métodos de extração líquido-líquido e em fase sólida no pré-tratamento de amostras para análise cromatográfica em fase líquida. Acesso: 26/05/2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/qF479CmqMZ7QJY9N4xmy4tw/?lang=pt>.
- [72] SCHÖDER, C. H. K.; **Análise instrumental aplicada à farmácia**. 2017 Editora e Distribuidora Educacional S.A. Avenida Paris, 675 – Parque Residencial João Piza CEP: 86041-100 — Londrina — PR. Acesso: 29/05/2023. Disponível em: http://cm-cls-content.s3.amazonaws.com/201702/INTERATIVAS_2_0/ANALISE_INSTRUMENTAL_APLICADA_A_FARMACIA/U1/LIVRO_UNICO.pdf
- [73] ALVES, J. E.; **GC-MS × LC-MS/MS PARA A DETERMINAÇÃO DE HORMÔNIOS ESTEROIDAIIS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS AQUOSAS**. Monografia apresentada junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico” do curso de Química Industrial, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial. Acesso: 29/05/2023. Disponível em:

<https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/181148/001074530.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

[74] MENESES, T. M.; **Exposição ao dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), seus isômeros e metabólitos em diferentes fases da vida e o risco de câncer de mama: uma revisão sistemática de estudos observacionais.** Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/57482/tatiana_mota_xavier_meneses_ensp_dout_2022.pdf.pdf?sequence=2&isAllowed=y. Acesso: 19/06/2023.

[75] Portal disfunção sexual; **Desreguladores endócrinos e impacto na saúde sexual.** Disponível em: <https://portaldisfuncaosexual.com/desreguladores-endocri-nos-e-impacto-na-saude-sexual/>. Acesso: 19/06/2023.

[76] CÂMARA, B. **Introdução aos hormônios esteroides.** Disponível em: <https://www.biomedicinapadrazo.com.br/2021/03/introducao-aos-hormonios-esteroides.html>. Acesso: 19/06/2023.

[77] DOS SANTOS, C. V. P.; **A Química dos Hormônios Sexuais**, O Mundo da Química. Disponível em: https://www.omundodaquimica.com.br/curiosidade/hormonios_sexuais. Acesso: 19/06/2023.

[78] PATUSSI, C.; BÜNDCHEN, M.; **Avaliação in situ da genotoxicidade de triazinas utilizando o bioensaio Trad-SHM de Tradescantia clone 4430.** Disponível em: <https://www.scielosp.org/article/csc/2013.v18n4/1173-1178/>. Acesso: 20/06/2023.

[79] MEZA, J. E. G.; RAMÍREZ, R. V. A.; **Eficacia y seguridad del dietilelbestrol, en el tratamiento del cáncer de próstata resistente a la castración.** Disponível em: file:///D:/Users/User/Downloads/Eficacia_y_seguridad_del_dietilelbestrol_en_el_t.pdf. Acesso: 20/06/2023.

[80] LUCENA, W. S.; **O FÁRMACO 17 ALFA-ETINILESTRADIOL: SEUS POSSÍVEIS EFEITOS À SAÚDE HUMANA E ANIMAL POR EXPOSIÇÕES AMBIENTAIS.** Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/7785/10.pdf;jsessionid=4AE42CE2941C3BF3A78260C629010E1D?sequence=2>. Acesso: 20/06/2023.

[81] **Indicadores Institucionais do Programa Nacional de Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano 2019.** Disponível em: https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/indicadores_programa_nacional_qualidade_agua_2019.pdf. Acesso: 20/06/2023.

- [82] FERRAZ, R.; EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO. Disponível em: <https://scientificusblogpt.wordpress.com/2015/04/08/extracao-liquido-liquido/>. Acesso: 20/06/2023.
- [83] Hassan Sereshti; Osman Duman; Sibel Tunç; Nina Nouri; Parisa Khorram ; Nanosorbent-based solid phase microextraction techniques for the monitoring of emerging organic contaminants in water and wastewater samples. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00604-020-04527-w>. Acesso: 20/06/2023.
- [84] LIMA, F.; **BPA: o que é e para que serve o Bisfenol A**. Disponível em: <https://plastbrinq.com.br/bpa/>. Acesso: 20/06/2023.
- [85] FONSECA, B. T.; **Esteroides**. Disponível em: <https://www.infoescola.com/quimica/esteroides/>. Acesso: 20/06/2023.
- [86] PEDROSO, M. P.; Detecção em cromatografia gasosa rápida e cromatografia gasosa bidimensional abrangente. Disponível em: <https://www.iicweb.org/scientiachromatographica.com/files/v3n2a9.pdf>. Acesso: 20/06/2023.
- [87] SIQUEIRA, G.; Princípios de cromatografia líquida (HPLC). Disponível em: <https://www.linkedin.com/pulse/princ%C3%ADpios-de-cromatografia-l%C3%ADquido-hplc-gilson-siqueira/?originalSubdomain=pt>. Acesso: 20/06/2023.
- [88] SIQUEIRA, G.; Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Disponível em: <https://a3analitica.com.br/bloga3pharma/2019/01/08/principios-de-cromatografia-a-liquido-hplc/>. Acesso: 20/06/2023.
- [89] Fluorescence Detection; Analytical and Measuring Instruments, SHIMADZU. Disponível em: https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/basic/fluorescence_detection.html. Acesso: 20/06/2023.
- [90] MARTINS, G.; Onde e como usar os detectores de índice de refração (RID). Disponível em: <https://www.linkedin.com/pulse/onde-e-como-usar-os-detectores-de-%C3%ADndice-refra%C3%A7%C3%A3o-rid-gabriel-martins/?originalSubdomain=pt>. Acesso: 20/06/2023.
- [91] COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S.; Fundamentos de cromatografia. Disponível: p.273. Acesso: 20/06/2023.
- [92] DALLEGRAVE, A.; Determinação de Hormônios estrógenos e progestágenos em amostras ambientais por GC-MS. Disponível em: https://oasisbr.ibict.br/vufind/Record/URGS_073069b68933ebd981279b5e310c1b25. Acesso: 20/06/2023.
- [93] PELISSON, M. M. M.; Mecanismo de Reações Orgânicas, segunda edição, editora Sistema de ensino Poliedro. Disponível: p.28. Acesso: 20/06/2023.

- [94] Nina Denver, Shazia Khan , Ioannis Stasinopoulos, Colin Church , Natalie ZM. Homer , Margaret R. MacLean, Ruth Andrew. Derivatization enhances analysis of estrogens and their bioactive metabolites in human plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30712596/>. Acesso: 20/06/2023.
- [95] STELLA, A.; **A Sensitive and Specific ESI-Positive LC–MS/MS Method for the Quantitation of Estrogens in Human Serum in Under Three Minutes**. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/347706579_A_Sensitive_and_Specific_ESI-Positive_LC-MSMS_Method_for_the_Quantitation_of_Estrogens_in_Human_Serum_in_Under_Three_Minutes. Acesso: 20/06/2023.
- [96] Cecilia Jalabert, Maria A. Shock, Chunqi Ma, Taylor J. Bootsma, Megan Q. Liu and Kiran K. Soma. Disponível em: <https://www.eneuro.org/content/9/4/ENEURO.0037-22.2022>. Acesso: 20/06/2023.
- [97] Pan Deng, Yan Zhan, Xiaoyan Chen, Dafang Zhong; Derivatization methods for quantitative bioanalysis by LC–MS/MS. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22191594/>. Acesso: 20/06/2023.
- [98] GOMES, P.C.F.D.L.; Desenvolvimento e aplicação de técnicas miniaturizadas de preparo de amostra na determinação de fármacos no ambiente. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75135/tde-10102012-145948/publico/PauloClairmontFeitosa_deLimaGomesR.pdf. Acesso: 20/06/2023.
- [99] Oscar J. Pozo a,b,*, Peter Van Eenoo a, Wim Van Thuyne a, Koen Deventer a, Frans T. Delbeke; Direct quantification of steroid glucuronides in human urine by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18258241/>. Acesso: 20/06/2023.
- [100] NASCIMENTO, R. F.; **Cromatografia gasosa Aspectos teóricos e práticos**. Disponível em: https://www.researchgate.net/figure/Figura-514-Esquema-simplificado-de-um-espectrometro-de-massa_fig53_330689029. Acesso: 20/06/2023.
- [101] ROJAS, R.; SANTOS, M.J.R.D.; HPLC. Disponível em: <http://www.biopol.ufpr.br/equipamentos/hplc/>. Acesso: 20/06/2023.
- [102] González, A. Gustavo, and M. Ángeles Herrador. "A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 26.3 (2007): 227-238. Disponível em: <http://zay.com.br/especificidade-e-seletividade/>. Acesso: 20/06/2023.

- [102] SANTOS, D.M.D.; **COMPOSTOS ORGANOESTÂNICOS NO MATERIAL PARTICULADO EM SUSPENSÃO E SEDIMENTOS SUPERFICIAIS NO EIXO LESTE-OESTE DO COMPLEXO ESTUARINO DE PARANAGUÁ.** Disponível em: https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/17494/Disserta%C3%A7%C3%A3o_Dayana.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso: 28/06/2023.
- [103] MOREIRA, A.D.S.; **SUBSTITUIÇÃO DE NONILFENOL EM FORMULAÇÃO DE DEFENSIVO AGRÍCOLA.** Disponível em: <https://sistemas.eel.usp.br/bibliotecas/monografias/2018/MEQ18003.pdf>. Acesso: 28/06/2023.
- [104] PENTEADO, J.C.P.; VAZ, J.M.; O legado das bifenilas policloradas (PCBs). Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/65sZDWHF68s9RQKtYskvVBB/#>. Acesso: 28/06/2023.
- [105] TORRES, J.P.M.; Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Disponível em: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Hidrocarbonetos-Policiclicos-Aromaticos-HPAs-Nesta-figura-estao-os-16-HPAs_fig1_28224205. Acesso: 28/06/2023.
- [106] PIERONI; M.C.; LEONEL, J.; FILLMANN, G; Retardantes de chama bromados: uma revisão. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/BRBsTQNLfVVBVjCMprqhqr/?lang=pt#>. Acesso: 28/06/2023.
- [107] ASSUNÇÃO, J.V.D.; PESQUERO, C.R.; Dioxinas e furanos: origens e riscos. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rsp/a/FXYCDpBbW7PPfZ7DGz9V77K/#>. Acesso: 28/06/2023.
- [108] Singanaboina Rajaram, Udugu Ramulu, Dasari Ramesh, Dudem Srikanth, Papri Bhattacharya, Peddikotla Prabhakar, Shasi V. Kalivendi, Katragadda Suresh Babu, Yenamandra Venkateswarlu, Suryakiran Navath. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960894X13011797>. Acesso: 28/06/2023.
- [109] BUSTILLOS, O.V.; **Entenda sobre a técnica de ionização por Electrospray na espectrometria de massas.** Disponível em: <https://revistaanalytica.com.br/entenda-sobre-a-tecnica-de-ionizacao-por-electrospray-na-espectrometria-de-massas/>. Acesso: 28/06/2023.



Emitido em 03/07/2023

COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO RELATÓRIO TÉCNICO FINAL Nº 32/2023 - DEQUI (11.55.09)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 03/07/2023 15:49)

ILDEFONSO BINATTI

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO

DEQUI (11.55.09)

Matrícula: ###103#0

Visualize o documento original em <https://sig.cefetmg.br/documentos/> informando seu número: **32**, ano: **2023**, tipo: **COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO RELATÓRIO TÉCNICO FINAL**, data de emissão: **03/07/2023** e o código de verificação: **f43127022a**