



**Iohana Pinto de Pinto**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA  
PARA DETERMINAÇÃO DE BISFENOL A E FTALATOS EM  
AMOSTRAS DE CHORUME POR GC-MS.**

**Lavras - MG  
2017**

**IOHANA PINTO DE PINTO**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA  
DETERMINAÇÃO DE BISFENOL A E FTALATOS EM AMOSTRAS DE  
CHORUME POR GC-MS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Marcio Pozzobon Pedroso  
Orientador

Prof. Dr. Helvécio Costa Menezes  
Coorientador

**LAVRAS – MG  
2017**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Pinto, Iohana Pinto de.

Desenvolvimento e validação de metodologia para  
determinação de bisfenol A e ftalatos em amostras de chorume por  
GC-MS. / Iohana Pinto de Pinto. - 2017.

84 p. : il.

Orientador(a): Marcio Pozzobon Pedroso.

Coorientador(a): Helvécio Costa Menezes.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Chorume. 2. Microextração em fase líquida com fibra oca. 3.  
Cromatografia gasosa-espectrometria de massas. I. Pedroso, Marcio  
Pozzobon. II. Menezes, Helvécio Costa. III. Título.

**IOHANA PINTO DE PINTO**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA  
DETERMINAÇÃO DE BISFENOL A E FTALATOS EM AMOSTRAS DE  
CHORUME POR GC-MS.**

**DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF METHODOLOGY FOR  
DETERMINATION OF BISPHENOL A AND FATALATES IN LANDFILL  
LEACHATE SAMPLES BY GC-MS.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Lavras, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em  
Química de Minas Gerais, para a obtenção do  
título de Mestre.

APROVADA em 24 de abril de 2017.

Dra. Elisângela Jaqueline Magalhães (UFLA)

Dr. Stanislaw Bogusz Júnior (USP – São Carlos)

Prof. Dr. Marcio Pozzobon Pedroso  
Orientador

Prof. Dr. Helvécio Costa Menezes  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2017**

*Ao meu filho Thiago.  
Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Ione e Denilson, por me apoiarem incondicionalmente e por me ajudarem a tornar possível meu desenvolvimento acadêmico.

À Universidade Federal de Lavras, principalmente ao Departamento de Química, pela oportunidade de crescimento acadêmico.

Aos meus colegas de classe, pela amizade e parceria na troca de informações, como também pelo auxílio quando necessário.

Aos meus amigos, que mesmo longe torceram por mim e me “aturaram” nas horas de desespero. Em especial, à Ana Carolina, que é como se fosse uma irmã e me deu muita força e ajuda para a conclusão do meu mestrado.

Meus mais sinceros agradecimentos ao meu orientador, Prof. Dr. Marcio Pozzobon Pedroso, pela excelente orientação e pela dedicação para que este trabalho fosse realizado, incluindo toda paciência, assistência à distância, incentivo e amizade que dispensou a mim. Deixo aqui minha eterna gratidão pelo modo como me orientaste.

Agradeço, com o mesmo apreço e admiração, o Prof. Dr. Helvécio Menezes, por aceitar ser meu coorientador. Sou grata pela atenção, simpatia, auxílio no trabalho e pela orientação que me deste. A conclusão deste trabalho foi possível graças a tua colaboração, muito obrigada.

Agradeço ao Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, em especial à toda equipe do Laboratório de Química Analítica 171. Rosi e Gabriela, vocês me receberam com carinho e me auxiliaram nos momentos difíceis. À Profa. Dra. Zenilda de Lourdes Cardeal agradeço a receptividade e os conselhos, e ao Prof. Dr. Ricardo Mathias Orlando agradeço por toda contribuição para a realização deste trabalho.

Agradeço à Prefeitura Municipal de Divinópolis, à Secretaria Municipal do Planejamento Urbano e Meio Ambiente – SEPLAM, em especial Erico Bessa que prontamente disponibilizou auxílio.

À Bruna Araújo pela ajuda e prontidão na coleta das amostras de chorume.

Enfim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram com esta pesquisa e tornaram esse sonho possível.

*“ Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda humanidade. ” (Marie Curie)*

## RESUMO

O chorume é caracterizado pela alta concentração de matéria orgânica, amônia e compostos tóxicos. Esse efluente, encontrado em lixões e aterros controlados, é proveniente da decomposição do lixo urbano e, quando somado à água das chuvas, carrega os compostos orgânicos presentes nos lixos para o meio ambiente. Atualmente, no Brasil, encontra-se em vigor a lei nº 12.305/2010 que exigia a extinção dos lixões e aterros controlados até agosto de 2014. Dois anos após o prazo final do decreto, o país ainda utiliza de aterros controlados e lixões para destinação final dos resíduos sólidos urbanos, sendo ainda um problema socioambiental. A composição do chorume resulta da decomposição de muitos compostos químicos orgânicos e inorgânicos, o que torna o chorume uma matriz complexa de analisar. Neste trabalho desenvolveu-se e validou-se uma metodologia utilizando a microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME) e análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) para determinação do bisfenol A (BPA) e de ftalatos em chorume. Esses compostos foram escolhidos por estarem associados à produção de materiais plásticos e por serem desreguladores endócrinos (DEs), ou seja, desregulam o sistema hormonal de animais e humanos. Realizou-se a otimização do método através de um planejamento fracionário com as variáveis tempo de extração, agitação, pH, adição de sal e temperatura para seleção das variáveis significativas. Posteriormente, construiu-se um planejamento Doehlert para determinação das condições ótimas pela superfície de resposta do domínio experimental. Após a etapa de otimização realizou-se a validação do método com as principais figuras de mérito. A linearidade foi avaliada no intervalo de concentração de 0,25 a 30,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  obtendo-se coeficientes de determinação, para todos os analitos, acima de 0,998. Os limites de detecção variaram entre 0,15 a 0,76  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Para os estudos de precisão intra-ensaio e inter-ensaio obteve-se coeficientes de variação entre 1,9% a 10,9 %. Nos estudos de recuperação encontrou-se valores entre 77,7% a 113 %, o que indica o desempenho adequado da HF-LPME para extração dos analitos. O método proposto é simples, eficiente e utiliza quantidades mínimas de solventes orgânicos. Após a validação aplicou-se o método para determinação de BPA e ftalatos nas amostras de chorume do aterro controlado de Divinópolis, Minas Gerais, onde constatou-se a presença de dietil ftalato, BPA e bis-(2-etilhexil) ftalato. As amostras de chorume foram coletadas em três pontos diferentes do aterro controlado e foram encontradas concentrações de BPA de até 804  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O Brasil ainda não possui uma legislação referente ao descarte de BPA no meio ambiente, porém de acordo com o Relatório de Avaliação de Risco da União Européia concentrações acima de 11  $\mu\text{g L}^{-1}$  já apresentam toxicidade aguda nos corpos aquáticos. Os resultados desse trabalho trazem um alerta sobre os riscos da exposição de seres vivos na região do aterro controlado.

**Palavras-chave:** Bisfenol A. Ftalatos. Chorume. Cromatografia gasosa – espectrometria de massas. Microextração em fase líquida com fibra oca.

## ABSTRACT

The landfill leachate is characterized by high concentration of organic matter, ammonia and toxic compounds. This effluent, found in dumps and controlled landfills, comes from the decomposition of urban waste and when added to the rainwater carries the organic compounds present in the waste to the environment. Currently in Brazil, Law n<sup>o</sup>. 12.305 / 2010 is in force, which required the extinction of landfills and controlled landfills until August 2014. Two years after the final deadline of the decree, the country still uses controlled landfills and landfills for final disposal of urban solid waste, being still a socio-environmental problem. The composition of the landfill leachate results from the decomposition of many organic and inorganic chemical compounds, which makes the landfill leachate a complex matrix of analysis. In this work, a methodology was developed and validated using hollow fiber liquid phase microextraction (HF-LPME) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) for the determination of bisphenol A (BPA) and of phthalates in landfill leachate. These compounds have been chosen because they are associated with the production of plastic materials and because they are endocrine disrupters (EDs), that is, they deregulate the hormonal system of animals and humans. The optimization of the method was done through a fractional design with the variables extraction time, agitation, pH, addition of salt and temperature for the selection of significant variables. A Doehlert design was constructed to determine the optimum conditions by the response surface of the experimental domain. After the optimization stage, the method was validated with the main merit figures. The linearity was evaluated in the concentration range of 0.25 to 30.0  $\mu\text{g L}^{-1}$  obtaining coefficients of determination for all analytes above 0.998. Detection limits ranged from 0.15 to 0.76  $\mu\text{g L}^{-1}$ . For intra-assay and inter-assay precision studies coefficients of variation were obtained from 1.9% to 10.9%. In the recovery studies, values between 77.7% and 113% were found, which indicates the adequate performance of the HF-LPME for extraction of the analytes. The proposed method is simple, efficient and uses minimal amounts of organic solvents. After the validation the method was applied for the determination of BPA and phthalates in the landfill leachate samples from the controlled landfill of Divinópolis, Minas Gerais, where the presence of diethyl phthalate, BPA and bis- (2-ethylhexyl) phthalate was verified. The landfill leachate samples were collected at three different points of the controlled landfill and concentrations of BPA up to 804  $\mu\text{g L}^{-1}$  were found. Brazil does not yet have legislation regarding the disposal of BPA in the environment, but according to the European Union Risk Assessment Report concentrations above 11  $\mu\text{g L}^{-1}$  present acute toxicity in aquatic bodies. The results of this work bringing us an alert about the risks of exposure of living beings in the region of the controlled landfill.

**Keywords:** Bisphenol A. Phthalates. Landfill leachate. Gas chromatography - Mass spectrometry. Liquid phase microextraction with hollow fiber.

## LISTA DE ABREVIATURAS

BPA	Bisfenol A
BSTFA	N-O-Bis-(trimetilsilil) trifluoracetamida
DBP	Dibutil ftalato
DE	Disruptores Endócrinos
DEP	Dimetil ftalato
DEHP	Bis-(2-etilhexil) ftalato
DiBP	Diisobutil ftalato
DMP	Dimetil ftalato
DOP	Dioctil ftalato
EPA	Agência de Proteção Ambiental
FE	Fator de enriquecimento
GC	Cromatografia gasosa
HF-LPME	Microextração em fase líquida com fibra oca
HPA	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
LC	Cromatografia líquida
LD	Limite de detecção
LLE	Extração líquido-líquido
LPME	Microextração em fase líquida
LQ	Limite de quantificação
MS	Espectrometria de massas
RSU	Resíduos sólidos urbanos
SPE	Extração em fase sólida
SPME	Microextração em fase sólida
UV/Vis	Ultra violeta/Visível

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
2.1	Objetivo geral .....	16
2.2	Objetivos específicos.....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>17</b>
3.1	Resíduos sólidos urbanos .....	17
3.2	Chorume .....	18
3.2.1	Composição.....	19
3.3	Desreguladores Endócrinos .....	20
3.3.1	Bisfenol A .....	23
3.3.2	Ftalatos .....	25
3.4	Extração líquido-líquido.....	29
3.4.1	Microextração em fase líquida com fibra oca .....	31
3.5	Métodos analíticos para determinação de BPA e ftalatos .....	37
3.5.1	Derivatização.....	43
3.6	Planejamento de experimentos .....	44
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>46</b>
4.1	Materiais .....	46
4.2	Preparo de Soluções .....	47
4.3	Amostras.....	47
4.4	Sistema Cromatográfico .....	48
4.5	Otimização da Metodologia .....	49
4.5.1	Derivatização do BPA .....	49
4.5.2	Escolha do solvente de extração.....	50
4.5.3	Planejamento fatorial.....	50
4.5.4	Obtenção das condições ótimas.....	51
4.6	Extração dos Analitos.....	52
4.7	Parâmetros de Mérito .....	53
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>55</b>
5.1	Otimização da Metodologia de Extração .....	55
5.1.1	Escolha do solvente .....	55
5.1.2	Planejamento fatorial.....	56
5.1.3	Obtenção das condições ótimas.....	59
5.2	Parâmetros de Mérito .....	62

5.3	Análise das amostras de chorume.....	65
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>74</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a reutilização de águas residuais tem aumentado, levando ao desenvolvimento de novas tecnologias para determinação, tratamento e remoção de poluentes orgânicos novos e emergentes. A maior parte desses poluentes são originados em indústrias, que despejam seus efluentes continuamente em águas superficiais (ABDEL DAIEM et al., 2012).

Além dos efluentes industriais, outra fonte de contaminação de águas superficiais e subterrâneas é o chorume gerado em lixões e aterros controlados. O chorume é altamente poluente e requer um tratamento específico, visto que apresenta elevadas concentrações de substâncias tóxicas (GARG; MISHRA, 2010). Nos lixões não é realizada a coleta do chorume porque não há a impermeabilização do solo e nenhum tipo de planejamento ou impacto ambiental. Logo, o chorume penetra a terra e contamina o solo e, conseqüentemente, o lençol freático. Os aterros controlados são preferíveis ao lixão, pois minimizam os impactos ambientais por confinar os resíduos com uma camada de material inerte ao final de cada descarte, mas não possuem tratamento para o chorume percolado. Os aterros sanitários são a opção adequada e regularizada de descarte dos resíduos, possuindo coleta, drenagem e tratamento de chorume (TERA AMBIENTAL, 2014).

Basicamente o chorume é composto por matéria orgânica e inorgânica, sólidos dissolvidos e, em menores quantidades, metais pesados e poluentes orgânicos. Possui, também, alto nível de demanda química de oxigênio e de demanda bioquímica de oxigênio, o que o torna um efluente de difícil tratamento (RENOU et al., 2008). Estudos sobre o chorume apontam que compostos como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs), ésteres, fenóis, álcoois, ftalatos, aminas, amidas e ácidos carboxílicos podem ser tóxicos e cancerígenos (KOZLOWSKA-TYLINGO; NAMIEŚNIK; GÓRECKI, 2010).

Dentre os diversos compostos presentes no chorume, também encontram-se presente alguns compostos classificados como desreguladores endócrinos (DEs). Os DEs são uma categoria de substâncias poluentes ambientais que interferem nas funções do sistema endócrino. Essas substâncias têm sido encontradas no meio ambiente em concentrações da ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{ng L}^{-1}$ , e mesmo em baixas concentrações podem causar efeitos adversos à saúde humana e animal (HESS, 2010). Diversas classes de compostos químicos estão na lista de DEs, tais como praguicidas, dioxinas, alquifenóis, HPAs, ftalatos, bisfenol A, metais pesados, compostos farmacêuticos, entre outros. Alguns trabalhos já apontam a ocorrência de

HPAs, ftalatos e bisfenol A em águas residuais, sedimentos marinhos e solos (BJORKLUND et al., 2009; CLARA et al., 2010; SÁNCHEZ-AVILA et al., 2009). Dentre os DEs, o bisfenol A e os ftalatos merecem destaque pois são comumente utilizados na produção de plásticos, cosméticos e tintas. Como esses produtos acabam sendo descartados, é esperado encontrá-los no chorume de lixões e aterros controlados (BOONYAROJ et al., 2012).

O monitoramento desses compostos nas mais diferentes matrizes ambientais tem sido realizado em estudos no mundo inteiro, e a regulamentação desses compostos, no Brasil, ainda é falha (SODRÉ et al., 2010). Conforme estudos realizados, o bifenol A pode ser considerado tóxico à saúde animal em concentrações de  $12 \mu\text{g L}^{-1}$  ou menor (FLINT et al., 2012). Já os ftalatos, quando entram no organismo, são hidrolizados e biotransformados em metabólitos, o que gera um conflito de dados e dificulta o estudo para determinar uma concentração limite de toxicidade (UPSON et al., 2013).

Pela complexidade das matrizes ambientais, as técnicas de extração têm sido aperfeiçoadas para que esses poluentes possam ser determinados em menos etapas e com maior detectabilidade. Técnicas de extração são práticas de preparo de amostras que permitem extrair e pré-concentrar os analitos de uma amostra. As técnicas mais clássicas são a extração líquido-líquido (LLE), utilizada para matrizes líquidas, a extração em fase sólida (SPE), utilizada em matrizes líquidas e matrizes sólidas previamente extraídas com solvente, e a extração de Soxhlet, utilizada para extrair sólidos com solventes voláteis (RAMOS, 2012). Porém, essas técnicas apresentam desvantagens, como alto consumo de solventes e extenso tempo de extração (GHAMBARIAN; YAMINI; ESRAFILI, 2012). Procurando diminuir o consumo de solvente, e tornar as extrações automatizadas, foram surgindo as técnicas miniaturizadas.

As técnicas miniaturizadas dividem-se em microextrações em fase sólida (SPME) e microextrações em fase líquida (LPME), sendo esta o enfoque deste trabalho. A LPME baseia-se em dois modos de operação: o primeiro utiliza um pequeno volume de solvente orgânico imiscível em água, enquanto que o segundo utiliza uma fibra oca porosa onde são inseridos pequenos volumes de solvente orgânico (denominado de fase aceptora). Em ambas as técnicas os analitos são extraídos da amostra original e pré-concentrados em volumes do solvente, da ordem de 2 a  $50 \mu\text{L}$  (KOKOSA, 2013). As LPME são vistas positivamente por possuírem muitas vantagens, dentre elas: utilizar pouco solvente orgânico, volume pequeno de amostras, alta eficiência de enriquecimento e baixo custo (TAN et al., 2012). A microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME) destaca-se por reduzir a razão solvente

orgânico/fase aquosa e por impedir o contato da fase aceptora com a matriz aquosa (GHAMBARIAN; YAMINI; ESRAFILI, 2012), o que a torna atrativa para matrizes mais complexas, como o chorume, não sendo necessário nenhum tratamento prévio.

O presente trabalho propõe um método para extração de bisfenol A (BPA) e ftalatos em chorume utilizando a HF-LPME e determinação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). Foram realizados ensaios para otimização de alguns parâmetros que podem afetar a eficiência da técnica de extração utilizada, como o solvente extrator, o pH, adição de sal, temperatura, tempo de extração e agitação. O método otimizado foi validado e aplicado para determinação de BPA e ftalatos em chorume do aterro controlado da cidade de Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver e validar um método analítico para determinação de BPA e ftalatos em chorume.

### **2.2 Objetivos específicos**

- ✓ Utilizar a microextração em fase líquida suportada com fibra oca para extração de BPA e ftalatos em chorume, e determinar estes analitos por GC-MS.
- ✓ Otimizar e validar o método desenvolvido com auxílio de um planejamento fracionário e de uma superfície de resposta Doehlert;
- ✓ Aplicar o método validado para determinar os analitos em chorume coletado do Aterro Controlado de Divinópolis, Minas Gerais.

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Resíduos sólidos urbanos**

De acordo com a norma brasileira NBR-10004/2004 (ABNT, 2004) resíduos sólidos são quaisquer resíduos nos estados sólidos ou semi sólidos, que resultam de atividades de origem industrial, doméstica, comercial, agrícola, hospitalar, de varrição e de serviços. Incluem-se nesta definição os lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, bem como certos líquidos cuja composição tornem seu despejo inviável tanto em rede de esgotos ou em corpos d'água (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2004).

Os resíduos sólidos urbanos (RSU) possuem matéria orgânica e inorgânica que resultam das atividades humanas e dos centros urbanos. Sua composição varia de acordo com fatores sociais, econômicos, culturais, geográficos e climáticos da região de origem (TERA AMBIENTAL, 2014).

No Brasil, a produção de RSU em 2014 chegou a, aproximadamente, 78,6 milhões de toneladas. Desse valor, acredita-se que cerca de 7 milhões de toneladas deixaram de ser coletados, o que leva a uma destinação imprópria do material. Além do montante não coletado, cerca de 30 milhões de toneladas foram destinadas a aterros inadequados, que são os aterros controlados e lixões. Do ponto de vista ambiental entre aterro controlado e o lixão há uma pequena diferença ambiental. No aterro controlado prepara-se o solo e quando o lixo é disposto no local cobre-se com uma camada de argila e grama, podendo ou não ser coletado o chorume para tratamento. O grande problema ocorre quando o chorume não é coletado, pois nesse caso ele penetra o solo e alcança os lençóis freáticos, contaminando a água. Já o lixão é um local a céu aberto onde não é realizado nenhum tipo de preparo do solo e nem de tratamento para o lixo que ali é recebido, sendo um fator de peso para contaminação da biota (ABRELPE, 2014). Os RSU são uma grande fonte poluidora, portanto, é de suma importância uma destinação final e um tratamento adequado para que se preserve o meio ambiente e a saúde pública.

Em 2010 a lei 12.305/2010 foi aprovada, tornando obrigatório a extinção dos aterros controlados e lixões. Os estados tinham 2 anos para apresentar os projetos de aterros sanitários e, assim, fazer com que todo RSU fosse descartado corretamente e recebesse o tratamento adequado (BRASIL, 2010). Contudo, uma pesquisa da Associação Brasileira de

Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais (ALBRELPE), realizada entre 2011 a 2014, apontou que quase metade dos RSU ainda é destinada a aterros controlados e lixões (ABRELPE, 2014).

Por outro lado, o aterro sanitário tem sido aceito como um dos meios de destinação final mais adequado quando corretamente implantado e monitorado, pois assim minimiza-se os efeitos negativos ao meio ambiente e à saúde pública causados pela disposição inadequada desses materiais (TERA AMBIENTAL, 2014).

A norma brasileira NBR-8419/1996, define que aterro sanitário é uma técnica de disposição de RSU no solo, sem causar danos à saúde pública e à sua segurança, minimizando os impactos ambientais. Este método utiliza princípios de engenharia para confinar os resíduos sólidos à menor área possível e reduzi-los ao menor volume permissível, cobrindo-os com uma camada de terra ao final de cada despejo, ou em intervalos menores, se for necessário (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1996).

Apesar dos aterros sanitários serem considerados uma solução segura para a destinação dos resíduos sólidos, esta técnica gera rejeitos que causam impactos ambientais significativos, como o chorume (ou lixiviado) e o biogás que necessitam ser drenados, coletados e tratados de forma correta. Do contrário, em contato com o meio ambiente, esses rejeitos podem contaminar solo, águas subterrâneas e superficiais e ar (RENOU et al., 2008).

Um dos grandes desafios em relação ao tratamento dos RSU nos aterros sanitários, aterros controlados e lixões é o chorume. Muitas vezes a técnica de tratamento para o chorume adotada por um aterro não produz o mesmo efeito ao serem reaplicadas. Isso ocorre devido à dificuldade de saber sua composição e em função da presença de materiais de difícil degradação biológica e da resistência desses aos métodos convencionais (TERA AMBIENTAL, 2014). Sendo assim, muitos aterros controlados não fazem a coleta do chorume para levar as estações de tratamento, e o mesmo acaba contaminando o meio ambiente.

### **3.2 Chorume**

Conforme descrito na norma brasileira NBR-8419/1996, o chorume é o deslocamento ou arraste por meio líquido de certas substâncias contidas nos RSU (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 1996). Para alguns autores, o chorume de aterro sanitário pode ser definido como o líquido proveniente da umidade natural e água de

constituição presente na matéria orgânica dos resíduos, dos produtos da degradação biológica dos materiais orgânicos e da água de infiltração na camada de cobertura e interior das células de aterramento, somado a materiais dissolvidos ou suspensos extraídos da massa de resíduos. É um líquido escuro, de odor forte e característico, contendo alta carga orgânica e inorgânica (KJELDSEN et al., 2002).

A geração do chorume decorre da digestão da matéria orgânica sólida por ação de enzimas produzidas por microorganismos envolvidos na degradação biológica, em combinação com a água de infiltração e a umidade natural dos resíduos (EL-FADEL et al., 2002).

O chorume de aterros e lixões possui alto potencial poluidor de solo e águas subterrânea e superficial, podendo contaminar as áreas que se localizam em torno dos mesmos, e comprometer a biota da região. Como contém altos níveis de poluentes orgânicos persistentes sua toxicidade gera grande preocupação. Afinal, entrando no meio aquático a mobilidade desses poluentes fica maior (SILVA; DEZOTTI; SANT'ANNA, 2004).

Um relatório da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB/SP) indicou a presença de disruptores endócrinos nas águas de rios e do solo em torno das áreas onde existiam lixões. Os animais aquáticos encontrados em rios onde aconteciam despejos de efluentes, apresentaram concentrações acima do permitido para consumo humano de metais pesados e compostos orgânicos (GUIMARÃES, 2005). Por isso a geração de lixo pode ser considerada uma questão socioambiental pois está diretamente associada à saúde humana e a preservação ambiental, principalmente quando se refere aos recursos hídricos. Entretanto, para que o tratamento do chorume seja eficiente é necessário conhecer os compostos tóxicos presentes e saber sua faixa de concentração, assim é de suma importância a determinação de compostos orgânicos poluentes como os ftalatos e o BPA. Porque mesmo em concentrações baixas ( $\text{ng L}^{-1}$ ) esses poluentes são de alta toxicidade para a saúde humana e animal.

### **3.2.1 Composição**

O teor de matéria orgânica no chorume é, geralmente, medido pela demanda química de oxigênio, demanda bioquímica de oxigênio e carbono orgânico total. O nitrogênio amoniacal permanece no chorume com o tempo, e pode atrapalhar os processos de tratamento biológico (DENG; ENGLEHARDT, 2006).

As características do chorume variam muito conforme o local, o clima, o tempo de degradação e da natureza do resíduo ali presente. Os dois principais fatores que afetam a característica do chorume são a natureza dos resíduos e a idade do aterro (RENOU et al., 2008).

Em aterros e lixões é comum que resíduos sólidos de indústrias, domésticos e comerciais sejam recebidos. A decomposição desses resíduos resulta em um chorume com muitos compostos químicos orgânicos e inorgânicos, que são liberados durante a vida útil dos aterros e resultam na emissão de compostos orgânicos xenobióticos para o ambiente (solo e águas receptoras) (BAUN et al., 2004). Estudos com o chorume apontam a presença de compostos como: HPAs, alcanos, cetonas, ésteres, álcoois, ftalatos, compostos fenólicos (como o BPA) e nitrogenados, ácidos carboxílicos, aminas, amidas e aldeídos (RAMÍREZ-SOSA et al., 2013).

Por serem os principais depósitos finais para a eliminação de uma ampla gama de produtos que estão no final da sua vida útil, produtos como: têxteis e carpetes que podem estar contaminados; recipientes contendo resíduos de pesticidas, inseticidas e algum tipo de solvente; e produtos farmacêuticos não utilizados, os aterros estão sujeitos a possuir um número muito grande de compostos nocivos a biota presente ao seu redor (CLARKE et al., 2015).

### **3.3 Desreguladores Endócrinos**

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) define como um desregulador endócrino (DE) as substâncias que promovem alterações no sistema endócrino humano, interferindo na síntese, transporte, ligação e eliminação de hormônios naturais no organismo que são responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento. Ou seja, são substâncias químicas que interferem na função hormonal (BILA; DEZOTTI, 2007).

Os DEs podem ser classificados em duas categorias: (a) naturais, produtos químicos encontrados em alimentos de humanos e animais, como os fitoestrógenos (genisteína); e (b) sintéticos, produtos como plásticos, pesticidas, fungicidas, derivados de lubrificantes industriais, solventes e alguns agentes farmacêuticos.

Os disruptores endócrinos são conhecidos por trabalharem principalmente alterando o sistema hormonal e homeostático, ou seja, equilibrar as funções do corpo conforme a

necessidade do ser vivo. Estes sistemas são de importância primordial, uma vez que estão envolvidos na regulação de vários processos significativos como metabolismo, desenvolvimento sexual, produção e utilização de insulina, crescimento, resposta ao estresse, comportamento de gênero, reprodução e até mesmo no desenvolvimento fetal. Isso é observado tanto em humanos quanto em animais. Portanto, o sistema endócrino é um dos principais meios de interação do corpo com o meio ambiente, permitindo o desenvolvimento, adaptação e manutenção dos processos corporais e da saúde (KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015).

Os DEs podem danificar diretamente um órgão endócrino, alterar diretamente a função de um órgão endócrino, interagir com um receptor de hormônios e alterar o metabolismo de um hormônio (GARCÍA-MAYOR et al., 2012). Por possuírem um papel crítico nas funções biológicas e fisiológicas, qualquer deficiência no sistema endócrino pode levar a doenças e até mesmo à morte. Ainda há as disfunções hormonais que causam infertilidade, distúrbios de crescimento, distúrbios do sono, entre outras doenças crônicas e agudas (KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015).

Estudos sobre DEs começaram a ser investigados a partir da segunda metade dos anos 90, em razão dos níveis crescentes de utilização e de contaminação por esses poluentes (FILHO; LUVIZOTTO-SANTOS; VIEIRA, 2007). A via de exposição em animais e humanos a esses DEs são normalmente pelo ar, pela água e alimentos, pelo solo e sedimentação. Muitos dos DEs, como por exemplo ftalatos, são degradados no meio ambiente através de processos químicos, luz solar e por bactérias; outros DEs podem persistir no meio ambiente em diferentes intervalos de tempo, como é o caso do BPA (GORE, A.C. CREWS, D. DOAN, L.L. LA MERRILL, M. PATISAUL, H. ZOTA, 2014). Acredita-se que a principal fonte de exposição para a vida animal seja a água, pois alguns DEs são solúveis em água e podem estar presentes a níveis de partes por bilhão e partes por trilhão, e embora os DEs não permaneçam em água por longos períodos de tempo a eliminação regular destes poluentes na água faz com que a fauna aquática esteja em contato continuamente. Os tratamentos de água como floculação, sedimentação, filtração e cloração não são capazes de eliminar os DEs (KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015).

A exposição ao solo ocorre por via de contato dérmico. No solo os DEs se ligam aos sedimentos e aos microorganismos, a contaminação por esses poluentes ocorre através dos despejos industriais e descarte de resíduos sólidos; já que muitos produtos contêm DEs em sua composição, na Tabela 1 estão listados exemplos de DEs e onde estão presentes (KABIR;

RAHMAN; RAHMAN, 2015). Os efeitos dos DEs no meio ambiente não dependem somente de suas concentrações, mas também de fatores como lipofilicidade, persistência, bioacumulação, tempo de exposição, mecanismos de biotransformação e excreção, entre outros. Por serem bioacumulativos, mesmo que um animal seja exposto a um nível de contaminação baixo, esse nível aumentará no corpo do animal fazendo com que seu predador se contamine ainda mais (GARCÍA-MAYOR et al., 2012).

Tabela 1 - Exemplos de alguns desreguladores endócrinos e em quais produtos podem ser encontrados.

Categoria	Desreguladores endócrinos
Pesticidas	DDT, atrazina, glifosato, 2,4-D
Produtos infantis	Chumbo, cádmio, ftalatos
Embalagens de comida	Fenóis, bisfenol A, ftalatos
Materiais eletrônicos e de construção	Retardadores de chama bromados, PCB
Produtos de cuidados pessoais	Ftalatos, bisfenol A
Antibacterianos	Triclosan
Produtos têxteis	Perfluorquímicos

Legenda: DDT: Diclorodifeniltricloroetano; 2,4-D: ácido 2,4-diclorofenoxiacético; PCB: Bifenilas policloradas.

Fonte: Adaptada do guia Introdução aos Desreguladores Endócrinos (GORE, A.C. CREWS, D. DOAN, L.L. LA MERRILL, M. PATISAUL, H. ZOTA, 2014).

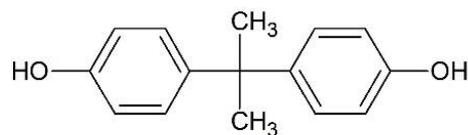
Ftalatos e bisfenol A (BPA, do inglês, *bisphenol A*), são substâncias químicas presentes em muitos plásticos e têm sido implicados como produtos químicos que perturbam o sistema endócrino. O BPA é um componente de matrizes de polímero que compõem plásticos de policarbonato e é empregado como um plastificante. Os ftalatos são adicionados ao cloreto de polivinilo (PVC), bem como a outros plásticos, para conferir o grau desejado de flexibilidade. Não são ligados quimicamente dentro de matrizes de PVC e, portanto, são susceptíveis à lixiviação no ambiente ao redor. As taxas de lixiviação não dependem apenas da formulação plástica, mas também das características do meio (WOOTEN; SMITH, 2013). O BPA e os ftalatos podem ser encontrados em objetos como produtos de higiene pessoal e doméstico, suprimentos médicos, brinquedos, garrafas de água, revestimentos internos de latas e embalagens de comida em geral. Devido ao alto nível de consumo desses materiais, a produção e, conseqüentemente, o uso desses compostos tem aumentado cada vez mais

(KHEDR, 2013). Portanto, um estudo detalhado da presença desses compostos em diferentes matrizes ambientais se faz necessário.

### 3.3.1 Bisfenol A

Bisfenol A é o nome dado para o 4,4'-dihidroxi-2,2-difenilpropano, um composto orgânico com dois anéis fenólicos em sua estrutura, como mostrado na Figura 1. Possui baixa pressão de vapor e baixa volatilidade, sendo sólido à temperatura ambiente (STAPLES et al., 1998). O coeficiente de octanol-água expresso em forma logarítmica é 3,32 o que justifica sua baixa solubilidade em água ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) e boa solubilidade em gordura (MICHAŁOWICZ, 2014).

Figura 1 - Estrutura química do bisfenol A.



Bisfenol A

Fonte: Do autor (2017)

Por estar presente em uma variedade de produtos, especialmente embalagens de alimentos e bebidas, e por apresentar danos à saúde, os estudos sobre sua migração para diversos ambientes vem aumentando significativamente desde 2008 (FLINT et al., 2012). Em um estudo foi demonstrado que o BPA se liga a receptores da tireóide e tem efeitos agonistas e antagonistas na função da tireóide. Ele também pode se ligar a sistemas fisiológicos, imunológico, e alguns órgãos como pâncreas (ROCHESTER, 2013). O BPA está relacionado a doenças como hipertensão, doenças cardiovasculares, obesidade, câncer de mama, ovário policísticos, e outros distúrbios como níveis de colesterol e neurodesenvolvimento (INOUE et al., 2000). Em outro estudo realizado por Limam *et al.*, (2013) foi relatado que o BPA não se decompõem em condições anaeróbicas nos aterros, o que significa que os aterros controlados e os lixões são uma fonte persistente de BPA (LIMAM et al., 2013).

A exposição ao BPA pelo meio ambiente acontece através do ar, da água e do solo. Estima-se que a quantidade de BPA emitida para a atmosfera, principalmente como resultado

das atividades industriais, é de 100 toneladas por ano (MICHAŁOWICZ, 2014). Estudos mostraram BPA presente na atmosfera em países como a Alemanha, Japão e Índia, sempre em locais próximos a indústrias de produção de materiais plásticos (BERKNER; STRECK; HERRMANN, 2004; FU; KAWAMURA, 2010; MATSUMOTO; ADACHI; SUZUKI, 2005). As concentrações mais elevadas, cerca de  $4,55 \text{ ng m}^{-3}$  de BPA foram encontradas em regiões urbanas da Índia, onde ocorre intensa combustão de produtos plásticos para uso doméstico (FU; KAWAMURA, 2010). Concentrações mais baixas, 5 até  $1920 \text{ pg m}^{-3}$  foram determinados em locais industriais da Alemanha e do Japão (BERKNER; STRECK; HERRMANN, 2004; MATSUMOTO; ADACHI; SUZUKI, 2005). Também é possível encontrar BPA em poeiras residenciais e de escritórios, sendo que sua concentração mais alta provem de poeiras residenciais ( $0,5$  até  $10,2 \text{ mg kg}^{-1}$ ), como foi determinado por Loganathan *et al.* (2011) (GEENS *et al.*, 2009; LOGANATHAN; KANNAN, 2011).

A poeira pode penetrar no organismo humano por passagens de ar, portanto, é uma fonte potencial de exposição a BPA. No entanto, considera-se que a exposição da população em geral ao BPA inalado com poeira é consideravelmente inferior à relacionada com o consumo alimentar (MICHAŁOWICZ, 2014). Sungur *et al.*, (2014) avaliaram um total de 36 alimentos enlatados, 24 alimentos armazenados em embalagens de papelão e 18 alimentos armazenados em vidros. Alimentos como feijão, milho, ervilha, sucos, leite, pepino, tomates e atum; vendidos em mercados da Turquia. Sungur e seus colaboradores observaram que quanto maior a quantidade de sal e de açúcar nesses alimentos, maiores eram os níveis de BPA. E quanto maior o tempo que esses alimentos ficavam estocados, maior também era a concentração de BPA. As concentrações de BPA em alimentos enlatados variaram de  $21,86$  a  $1858 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ , em alimentos embalados em papelão variaram de  $36,48$  a  $554,7 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$  e em alimentos armazenados em vidro as concentrações ficaram entre não detectáveis até  $399,2 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ . Os autores concluíram que apenas em algumas amostras de feijão o BPA se encontrava acima do limite de migração que a legislação permite, todas as outras amostras encontravam-se dentro do limite de migração que é de  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$  na União Européia (SUNGUR; KOROĞLU; ÖZKAN, 2014).

Nos corpos aquáticos entram os estudos realizados em rios, efluentes, esgotos e chorume. Em seu trabalho, Cladiere *et al.* (2013) avaliaram os efluentes urbanos de Paris, França, e constataram a contaminação de BPA em concentrações que variaram de  $10$  até  $1224 \text{ ng L}^{-1}$  (CLADIERE *et al.*, 2013). Kawagoshi *et al.* (2003) determinaram BPA em águas subterrâneas de Osaka, Japão, situadas ao redor de aterros em que os principais resíduos

sólidos descartados eram materiais plásticos. A análise das águas subterrâneas mostrou a presença de BPA em concentração média de  $740 \mu\text{g L}^{-1}$  (KAWAGOSHI et al., 2003). Li *et al.* (2006) analisaram chorume de um aterro da cidade de Guangzhou, China, no qual constataram a presença de BPA em concentração média de  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  (LI et al., 2006). Um estudo de Rocha *et al.* (2013) em rios de Portugal determinou BPA em concentrações médias de 28,7 até  $98,4 \text{ ng L}^{-1}$  (ROCHA et al., 2013). Stachel *et al.* (2003) analisaram a água e os sedimentos do rio Elba na Alemanha e constataram altas concentrações de BPA, 4 à  $92 \mu\text{g L}^{-1}$  na água e 10 à  $380 \mu\text{g kg}^{-1}$  nos sedimentos (STACHEL et al., 2003). Foram investigados 16 rios de grande importância da Tailândia, em um estudo conduzido por Lee *et al.* (2013). Lee apontou uma ocorrência generalizada de BPA nas águas e nos sedimentos desses rios, afetando todo ecossistema, devido ao efluentes das fábricas de produção de materiais relacionados ao BPA. As concentrações determinadas foram de 0,01 a  $44,65 \mu\text{g L}^{-1}$  nas águas enquanto nos sedimentos foram de 0,37 à  $491,54 \mu\text{g kg}^{-1}$  (LEE et al., 2013). De acordo com o Relatório de Avaliação de Risco da União Européia valores de BPA acima de  $11 \mu\text{g L}^{-1}$  em meios aquáticos reflete a uma toxicidade aguda para humanos e animais (ASCHBERGER et al., 2008).

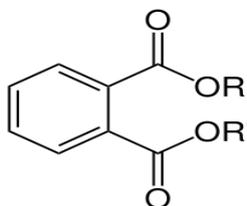
No Brasil a legislação relativa aos limites de composição e de migração específicas para componentes de embalagens em contato com alimentos, determina o limite de migração específica para o BPA em  $0,6 \text{ mg kg}^{-1}$ . Para a fabricação de mamadeiras e artigos similares destinados a alimentação de lactentes, não está autorizado o uso de BPA (ANVISA, 2012). Esse limite de migração específica para embalagens de alimentos é igual ao utilizado pela União Européia (SUNGUR; KOROĞLU; ÖZKAN, 2014). Países da União Européia e outros como Canadá, Japão e Estados Unidos estimam um valor de aproximadamente  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  para concentração que representa um perigo ecológico (PROTECTION AGENCY ENVIRONMENTAL, 2010), mas estudos ainda estão sendo realizados para que se obtenha uma legislação melhor e também se tenha um conhecimento aprimorado sobre os malefícios desse composto nos seres vivos.

### 3.3.2 Ftalatos

Os ésteres de ftalatos são compostos orgânicos derivados do ácido ftálico, que são aditivos utilizados na produção de materiais poliméricos que proporcionam maior

durabilidade e flexibilidade ao material, sendo usados desde 1930 (FROMME et al., 2002). Na Figura 2 está apresentada sua estrutura genérica.

Figura 2 - Estrutura química dos ftalatos.



Legenda: O R e R' representam cadeias carbônicas de tamanhos diferentes.  
Fonte: Do autor (2017)

Ftalatos são utilizados para lubrificar, podendo atuar como solventes e, de uma maneira geral, conferir características favoráveis aos produtos (SCHETTLER, 2006). Podem ser divididos em dois grupos: i) Ftalatos de elevado peso molecular como, por exemplo, bis-(2-etilhexil) ftalato, os quais são utilizados principalmente como plastificantes na fabricação de PVC; e ii) Ftalatos de baixo peso molecular como, por exemplo, dietil ftalato, utilizados como solventes na fabricação de produtos de higiene pessoal, alguns medicamentos, vernizes, entre outros (MEEKER; SATHYANARAYANA; SWAN, 2009). Na Tabela 2 foram selecionados os ftalatos, alvo desse estudo e, que são encontrados em produtos comerciais e suas características físico químicas.

Tabela 2 - Alguns ftalatos encontrados em produtos comercializados.

Ésteres de ftalatos	Abrev.	M.M.	Fórmula	Solubilidade em água (mg L <sup>-1</sup> )	Ponto de Ebulição (°C)
Dimetil ftalato	DMP	194,19	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	4000	283
Dietil ftalato	DEP	222,24	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	1000	302
Diisobutil ftalato	DiBP	278,34	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	11,20	327
Dibutil ftalato	DBP	278,34	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	200	340
Bis-(2-etilhexil) ftalato	DEHP	390,57	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	0,003	385

Legenda: M.M.: massa molecular  
Fonte: Do autor (2017)

Os ftalatos têm sido alvo de estudos por apresentarem efeitos de DEs no nosso organismo, e a maioria dos ftalatos estão incluídos no Catálogo Europeu de Compostos Desreguladores Endócrinos (PLANELLÓ et al., 2011). Mariana *et al.* (2016) apresentaram

em seu artigo de revisão alguns problemas de saúde que os ftalatos podem causar, entre eles está a endometriose, problemas cardiovasculares, desenvolvimento prematura de mamas e aterosclerose (MARIANA et al., 2016).

A contaminação para o meio ambiente ocorre através das perdas e excesso na hora da produção, ou então por lixiviação a partir dos produtos finais. Como resultado dessa migração os ftalatos podem ser encontrados em alimentos contaminados, produtos de higiene pessoal e até mesmo em poeira de casa, fazendo com que a exposição ocorra por via digestiva, dérmica e por inalação (MARIANA et al., 2016; ZHANG et al., 2014). A principal via de contaminação é a inalação, visto que os ftalatos estão presentes no ar e em poeiras residenciais e de escritórios, seguida por ingestão e por último contaminação dérmica (QURESHI et al., 2016). A meia vida dos ftalatos varia conforme a superfície de contato, sendo que na água a meia vida varia de 1 dia até semanas, e no solo pode ser da ordem de meses a anos, conforme a composição do solo e a temperatura (GAO; WEN, 2016).

A presença de ftalatos na atmosfera está diretamente relacionada a atividade antropogênica, sendo encontradas concentrações mais elevadas nas áreas urbanas do que nas áreas rurais (BUI et al., 2016). Wang *et al.* (2008) em seu estudo constataram a diferença de concentração dos ftalatos em estações frias e quentes, sendo que as concentrações mais elevadas foram determinadas no inverno (1,2 até 58,8 ng m<sup>-3</sup>) (WANG; WANG; FAN, 2008). Deshmukh *et al.* (2012) analisaram por um ano o ar de uma região urbana da cidade de Raipur, Índia, e também foi constatado que a concentração de ftalato é maior durante o inverno (6,7 até 79,5 ng m<sup>-3</sup>) (DESHMUKH et al., 2012). Em seu estudo Kong *et al.* (2013) relacionaram as elevadas concentrações dos ftalatos durante o inverno as características físico-químicas desses compostos, aos parâmetros meteorológicos e às emissões de poluentes. Kong também determinou que DEHP e o DBP são espécies predominantes, em concentração de 98,3 e 12,9 ng m<sup>-3</sup> respectivamente, na atmosfera de Tianjin, China (KONG et al., 2013).

A precipitação dos ftalatos presentes na atmosfera para as águas superficiais auxilia na ampla distribuição desses compostos em rios, lagos e sedimentos (GAO; WEN, 2016). Selvaraj *et al.* (2014) determinaram 6 ftalatos na água e em sedimentos do rio Kaveri, na Índia. A concentração total dos ftalatos presentes na água foi de 313 até 1640 ng L<sup>-1</sup>, e em sedimentos a média foi de 2 até 1438 ng g<sup>-1</sup>, sendo o DEHP o ftalato de maior predominância (SELVARAJ et al., 2014). No rio Somme, situado na França, também foram determinados, por Net *et al.* (2014), 6 ftalatos na água em concentrações médias de 6,93 à 23,34 µg L<sup>-1</sup>, sendo novamente o DEHP apontado com o ftalato predominante (NET et al., 2014). Os

ftalatos também podem ser encontrados no solo, conforme Gibson *et al.* (2005) e Kong *et al.* (2012), que analisaram solos de áreas rurais na Inglaterra e na China, respectivamente, e encontraram vários compostos orgânicos poluentes, dentre eles ftalatos. Os mais abundantes foram DBP e DEHP, nas concentrações média de 0,1 à 22,2  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (GIBSON *et al.*, 2005) e 0,05 à 10,4  $\mu\text{g g}^{-1}$  (KONG *et al.*, 2012).

Zhang e Wang (2009) determinaram ftalatos em amostras de chorume de 3 aterros, para os ftalatos de cadeias pequenas, DMP e DEP, as concentrações foram baixas em todas as amostras, enquanto que para o DEHP a concentração variou de 1,71 a 232,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ZHANG; WANG, 2009). Fang *et al.* (2009) também analisou a presença de ftalatos em amostras de chorume de dois aterros na China, para testar a eficiência de remoção de um biorreator. Foram encontrados, antes da remoção, os ftalatos DMP, DBP e DOP em concentrações próximas de 750  $\mu\text{g L}^{-1}$ , 2400  $\mu\text{g L}^{-1}$  e 202  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente (FANG; LONG; SHEN, 2009). Yao *et al.* (2008) utilizaram um método de microextração em fase líquida diferente, com auxílio de um tubo de borracha de policloropreno, para determinação de DMP, DEP e DBP e análise por HPLC com detector variável de onda, em amostras de chorume. Valores para LD foram de 1,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  para DMP, 1,4  $\mu\text{g L}^{-1}$  para DEP e 2,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  para DBP e concluíram que os valores se encontram abaixo do limite de descarte de poluentes em água, de acordo com a legislação chinesa que estipula um limite de 0,2  $\text{mg L}^{-1}$  para descarte de ftalatos em água (GB 8978-1996) (YAO *et al.*, 2008). Um estudo muito importante apontou que a idade dos aterros/lixões pode afetar na quantidade de ftalatos encontrados no chorume. Jonsson *et al.* (2003) determinaram ftalatos em amostras de chorume de 17 aterros espalhados pela Europa, e em seu trabalho pode concluir que ftalatos como DMP e DEP tendem a degradar de acordo com o tempo de exposição pois são mais suscetíveis a ação de microorganismos. Diferentemente, ftalatos com cadeias mais longas como o DEHP e por isso esse ftalato tem sido encontrado em maiores concentrações (JONSSON *et al.*, 2003). Liu *et al.* (2010) também determinaram ftalatos em chorume, para o procedimento de extração utilizaram a SPE e análise por GC com detector por ionização de chama. Ao total foram determinados 16 ftalatos, sendo que os ftalatos DEP e DEHP apareceram em concentrações não detectadas e de 3,98  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. A concentração encontrada foi abaixo da concentração que Liu *et al.* esperavam encontrar, o que levou a conclusão de que a quantidade de ftalatos presente no chorume é dependente da idade do aterro/lixão (LIU *et al.*, 2010).

No Brasil a legislação para os ftalatos ainda é falha, pois faltam estudos para verificar a presença desses compostos no meio ambiente e, assim, realizar resoluções com limites de

uso e descarte. Para descarte de efluentes ainda não há uma legislação, mas o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estipula limites para alguns ftalatos presente no solo e em águas subterrâneas. Os valores foram calculados com base em risco à saúde humana, sendo que no solo os limites são de 0,60 e 0,25 mg kg<sup>-1</sup> e na água são de 8, 14 µg L<sup>-1</sup> para DEHP e DMP respectivamente, e 0,7 mg kg<sup>-1</sup> para DBP (BRASIL, 2009). Com base em resoluções de outros países como Canadá, China e Estados Unidos, o Brasil limita o uso de DBP em 0,3 mg kg<sup>-1</sup> na produção de embalagens para alimentos, proibindo o uso em revestimentos que estejam em contato com alimentos gordurosos. A EPA fixou a concentração do DEHP em 6 µg L<sup>-1</sup> para água potável e proibiu a utilização de plastificantes tóxicos para brinquedos infantis (ANVISA, 2012). Para o DEP seu uso é permitido somente em produção de adesivos e componente de recobrimentos resinosos e poliméricos. Em alimentos com conteúdo de gordura superior a 5%, somente está permitido o uso em quantidades inferiores a 5% m/m em material plástico. O DEHP pode ser usado como plastificante em materiais e objetos reutilizáveis que estejam em contato com alimentos não gordurosos, como agente de apoio ao processo em concentrações de até 0,1% no produto final (ANVISA, 2008). O Brasil também limita o uso a 0,1% em massa de material plastificado em artigos infantis (crianças de 0 a 3 anos) para alguns ftalatos, dentre eles o DBP e o DEHP (INMETRO, 2007).

### 3.4 Extração líquido-líquido

Mesmo com os avanços tecnológicos e as descobertas de métodos rápidos e simples de análises, todo processo analítico pode ser desperdiçado se não houver um método de preparo de amostra adequado e eficiente. O preparo de amostra nada mais é do que um tratamento prévio que compatibilizará a amostra ao equipamento utilizado, no que se refere ao estado físico da amostra, a concentração do analito e a presença de possíveis interferentes (RAMOS, 2012).

Uma das técnicas mais versáteis, que fornece um enriquecimento do analito e eliminação de possível interferentes, é a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*). A LLE baseia-se na partição do soluto entre duas fases líquidas, na qual o soluto que está originalmente na matriz líquida é transferido para a fase extratora (solvente) (PSILLAKIS; KALOGERAKIS, 2003a). Inicialmente, as substâncias estão misturadas na fase aquosa e, após a adição de um solvente orgânico imiscível em água e agitação das fases,

haverá uma migração diferencial da substância para a fase orgânica, até que seja formado um sistema bifásico, e se estabeleça um equilíbrio.

A LLE apresenta desvantagens que faz com que se busquem técnicas alternativas. O grande consumo de solvente orgânico é o que mais se destaca, além da toxicidade desses solventes e a dificuldade para automação do processo (PSILLAKIS; KALOGERAKIS, 2002). Por isso, nos últimos anos as técnicas de LLE passaram por adaptações e se tornaram atrativas por minimizar os gastos de solvente, o tempo de extração e os riscos ambientais. As microextrações em fase líquida (LPME, do inglês *liquid phase microextraction*) tem combinado extração, pré-concentração e introdução da amostra em um só passo, e podem ser classificadas como: microextração em gota única (SDME, do inglês *single drop microextraction*), microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*) e microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME, do inglês *hollow fiber liquid phase microextraction*) (ASENSIO-RAMOS et al., 2011).

As técnicas miniaturizadas permitem a integração da extração e do enriquecimento dos analitos para um melhor, e mais baixo, limite de detecção ( $\text{ng L}^{-1}$ ) utilizando até 100  $\mu\text{L}$  de solvente. As vantagens ainda contam com: a redução do número de etapas, que resultam em procedimentos com menos erros; limita o impacto negativo sobre o meio ambiente; diminui o impacto na saúde do analista que realiza o trabalho; e diminui o custo da análise (SPIETELUN et al., 2014).

Na SDME o analito é extraído da fase aquosa através de uma gota única, suspensa na ponta de uma microseringa, em contato direto com a amostra líquida. Pode ser realizada em três modos diferentes: por imersão direta da gota na fase aquosa; por headspace, onde a gota fica suspensa acima da fase aquosa; e por microextração com fluxo contínuo, no qual a gota fica suspensa enquanto um fluxo contínuo da fase aquosa é exposto (XU; BASHEER; LEE, 2007). Já a DLLME envolve a extração de analitos de amostras aquosas em um pequeno volume de solvente orgânico disperso na amostra. Essa dispersão das gotas é conseguida utilizando uma terceira fase líquida imiscível tanto com a amostra quanto com o solvente orgânico. Após a extração, a amostra é agitada e depois é centrifugada para separar a fase extratora (MOREDA-PIÑEIRO; MOREDA-PIÑEIRO, 2015).

### 3.4.1 Microextração em fase líquida com fibra oca

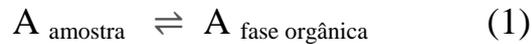
A HF-LPME baseia-se na extração do analito através de uma fibra oca porosa umedecida com solvente extrator. Antes da extração, a fibra é mergulhada no solvente orgânico para fixá-lo no interior da mesma, e após certo tempo imersa no solvente, o excesso de solvente é removido através de uma rápida secagem. O solvente deve ser imiscível em água para que não aconteça perda do mesmo para a amostra aquosa. Os analitos são extraídos a partir da amostra aquosa através dos poros da fibra oca, podendo haver agitação da amostra para acelerar o processo. Dependendo da aplicação, o volume da amostra varia de 0,1 a 20 mL, assim como o tamanho da fibra, que varia de 1,5 a 25 cm, e o volume do solvente inserido na fibra pode variar entre 5 a 50  $\mu\text{L}$  (DE OLIVEIRA et al., 2008; RASMUSSEN; PEDERSEN-BJERGAARD, 2004).

A fibra mais comum é a de polipropileno e tem uma porosidade de 70%, os poros medem 0,2  $\mu\text{m}$ , a espessura da parede de 200  $\mu\text{m}$  e um diâmetro interno de 600  $\mu\text{m}$ . Com esse diâmetro interno, agulhas estreitas de microseringas usualmente empregadas em cromatografia líquida e gasosa podem ser inseridas dentro do lúmen da fibra oca para injeção e remoção da fase receptora. A espessura de 200  $\mu\text{m}$  tem sido padrão entre as fibras comerciais para HF-LPME, pois os capilares mais finos apresentam baixa estabilidade mecânica e os mais espessos levam a maior tempo de extração (ZHAO; LEE, 2002).

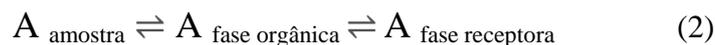
O polipropileno é um bom material para esta finalidade, pois é resistente aos solventes orgânicos usados, possui boa flexibilidade e resistência mecânica, permite forte imobilização dos solventes em sua parede e não há o conhecimento de problemas relacionados entre o polímero e os analitos já estudados. Sua estrutura permite o uso de uma microseringa tanto para introduzir o solvente extrator quanto para retirar o solvente com o analito extraído e injetá-los no instrumento de análise (GHAMBARIAN; YAMINI; ESRAFILI, 2012).

A extração pode ocorrer em dois modos: duas ou três fases. No modo de duas fases, o analito é extraído da amostra (fase doadora) por um solvente orgânico, imiscível em água, movendo-se pelos poros da fibra oca até chegar ao seu interior que contém o mesmo solvente orgânico. Vale ressaltar que o solvente orgânico utilizado na extração tem que ser compatível com cromatografia gasosa (GC do inglês, *gas chromatography*) ou cromatografia líquida (HPLC do inglês, *high performance liquid chromatography*). Os analitos são extraídos por difusão passiva da amostra aquosa diretamente para a solução orgânica receptora, processo que depende do coeficiente de partição entre a solução orgânica receptora e a solução doadora

(amostra),  $K_{r/d}$ . Na Equação 1 está apresentada a equação de equilíbrio do analito (A) entre a amostra ( $A_{amostra}$ ) e a fase extratora orgânica receptora ( $A_{fase\ orgânica}$ ) para o sistema de HF-LPME duas fases. (MERIB; CARASEK, 2013).

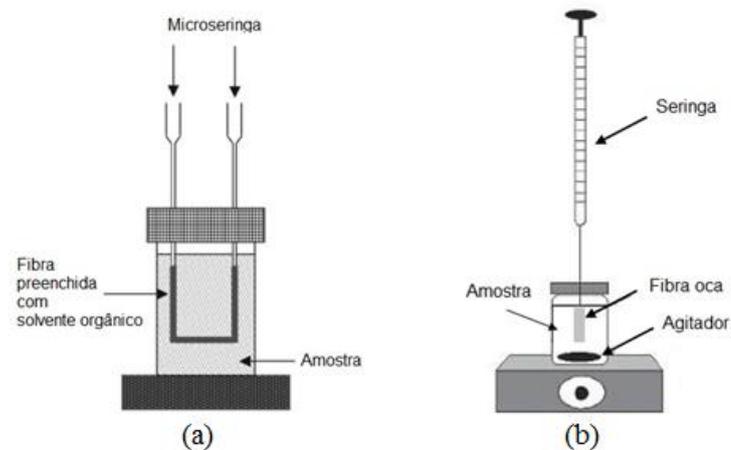


No modo três fases o analito é extraído da amostra (fase doadora) por um solvente orgânico imobilizado nos poros da fibra oca (fase orgânica), indo para o interior da mesma onde está presente uma fase aquosa (fase aceptora). O solvente orgânico, neste caso, serve como uma barreira entre as fases aceptora e doadora, evitando a mistura dessas duas fases. Nesse modo é mais comum utilizar como análise instrumental a HPLC ou eletroforese capilar (CE), já que a fase aceptora é aquosa (PEDERSEN-BJERGAARD; RASMUSSEN, 2008). Nesse sistema trifásico, os analitos são extraídos por difusão passiva da amostra aquosa através do solvente orgânico imobilizado nos poros da membrana oca e, posteriormente, pela fase receptora aquosa presente no interior dessa membrana. O processo geral da extração é afetado por ambos os coeficientes de partição, entre a fase orgânica e a solução doadora ( $K_{org/d}$ ) e entre a fase receptora e a fase orgânica ( $K_{r/org}$ ) (MERIB; CARASEK, 2013). Na Equação 2 está apresentada a equação de equilíbrio do analito (A) entre a amostra ( $A_{amostra}$ ), a fase extratora orgânica ( $A_{fase\ orgânica}$ ) e a fase aquosa receptora ( $A_{fase\ receptora}$ ) para um sistema três fases.



A HF-LPME também apresenta dois modos de configuração, como mostrado na Figura 3. Na primeira configuração podemos usar a fibra oca na forma U, configuração que utiliza duas agulhas (ou seringas) comuns para conectar as duas extremidades da fibra oca, no qual o comprimento da fibra oca pode ser de 4 a 25 cm. Na segunda configuração, conhecida como forma de “haste”, tem-se somente uma das extremidades da fibra oca conectada a uma seringa, ou a uma ponta de microseringa, como é observado na Figura 3. A extremidade que fica submersa na amostra deve ser selada. Em ambas as configurações é importante deixar a fibra oca imersa por alguns segundos no solvente orgânico para se obter total preenchimento dos poros (LEE et al., 2008).

Figura 3 - Configurações possíveis para a HF-LPME.



Legenda: (a) configuração em forma de U; (b) configuração em forma de "haste".

Fonte: Adaptado de Psillakis e Kalogerakis (2003).

Para o desenvolvimento do método alguns parâmetros são estudados, a fim de melhorar a eficiência da extração. No trabalho de Psillakis e Kalogerakis (2003b) a escolha do solvente extrator foi estudada, pois o solvente tem que ser imiscível em água, prover alta solubilidade dos analitos, ser compatível com o instrumento de análise, e finalmente deve ter uma polaridade que corresponda à da fibra oca de polipropileno para que o solvente seja capaz de permanecer imobilizado nos poros, aumentando a transferência de analitos (PSILLAKIS; KALOGERAKIS, 2003a). Outro fator a ser observado é o tempo de extração: Kawaguchi *et al.* estudaram a importância do tempo de extração mostrando que quando o volume da amostra for minimizado, ou quando o tamanho da fibra for aumentado, o tempo de extração pode ser reduzido porque há um aumento da área de superfície da fibra, o que pode aumentar a transferência do analito presente na amostra para o solvente extrator (KAWAGUCHI *et al.*, 2008). Na HF-LPME o solvente orgânico está confinado no interior da fibra oca, então é tolerável uma alta velocidade de agitação superior àquela empregada para SDME. Tao *et al.* mostraram que altas velocidades de agitação aumentam o fator de enriquecimento da extração. A agitação da amostra serve para acelerar a velocidade de transferência de massa do analito entre a amostra e o solvente que está no interior da fibra. Contudo, um cuidado com a velocidade de agitação deve ser observado porque pode ocasionar em bolhas na superfície da fibra, o que levaria a uma baixa reprodutibilidade (TAO *et al.*, 2009).

A escolha de usar ou não a adição de sal é criteriosa, pois em alguns casos, particularmente em analitos polares, ela aumenta a eficiência da extração com seu efeito

“*salting out*”. O efeito “*salting out*” faz com que moléculas de água da fase aquosa (amostra) passem a hidratar os íons dos sais adicionados, ocorrendo a redução da solvatação dos analitos dissolvidos na fase aquosa por mecanismos de competição. Por outro lado, essa mesma interação das moléculas pode ocorrer entre o analito e os sais adicionados, reduzindo a difusão do analito para a fase orgânica (DE OLIVEIRA et al., 2008). Peng *et al.* (PENG et al., 2007) em seu trabalho estudaram o efeito da adição de sal em extração utilizando HF-LPME e em seus testes a adição de cloreto de sódio levou a diminuição da eficiência de sua extração, pois a fase aquosa ficou mais viscosa, o que diminuiu a mobilidade dos analitos para a fase orgânica. Outro fator que deve ser bem observado é o pH, pois na HF-LPME no modo de três fases a mudança do pH na fase receptora previne que os analitos não voltem para a fase orgânica, imobilizada nos poros da membrana. Sendo assim, o pH da solução receptora deve ser ajustado a valores que garantam a ionização dos analitos. Dessa forma soluções receptoras básicas devem ser usadas para analitos ácidos e soluções receptoras ácidas devem ser usadas para analitos básicos (PEDERSEN-BJERGAARD; RASMUSSEN, 2008). Lai *et al.* mostraram que, no geral, em qualquer sistema de microextração com solventes utilizando o modo duas fases, o pH da amostra deve ser modificado para prevenir a ionização de qualquer analito ácido ou básico (LAI et al., 2006). A temperatura de extração para HF-LPME não é geralmente avaliada, pois com o aumento de temperatura da amostra há formação de bolhas na superfície da fibra e evaporação do solvente orgânico, que pode ocasionar solubilidade do solvente na fase aquosa. Com esses inconvenientes a quantidade de analito extraído diminui, e conseqüentemente a detectabilidade do método também (SHARIFI; ABBASI; NOSRATI, 2016). A HF-LPME é normalmente utilizada a temperatura ambiente, outro motivo que a torna atrativa.

A HF-LPME tem se mostrado uma técnica com boa recuperação, alto fator de enriquecimento e boa limpeza da amostra em tempos de extração que variam de 15 a 45 min. A técnica pode ser usada nas mais diversas matrizes, por exemplo Li *et al.*, (2011) utilizaram a fibra oca para extração de 5 compostos fenilarsênicos em amostras ambientais como águas superficiais e solo. A HF-LPME foi combinada com a eletroforese capilar e detecção por UV/Vis. Li e seus colaboradores obtiveram limites de detecção entre 0,68 e 0,69  $\mu\text{g L}^{-1}$ , recuperação em água de até 107,8% e um fator de enriquecimento de até 1780, o que indicou uma boa eficiência da técnica (LI; HU, 2011). Saleh *et al.*, (2011) utilizaram a HF-LPME para pré-concentrar e obter extratos mais limpos na determinação de fármacos não esteroides anti-inflamatórios em lodo de esgoto. A HF-LPME foi aplicada no modo três fases, ou seja, um

solvente impregnou os poros, enquanto 25  $\mu\text{L}$  de fase aceptora foram introduzidos no interior da fibra oca; com posterior análise por cromatografia líquida com ionização por eletrospray e detecção com espectrômetro de massas. Saleh e seus colaboradores obtiveram fatores de enriquecimentos acima de 947 e recuperação a partir de 38,9% em amostras brutas de logo de esgoto, mostrando assim a versatilidade da técnica (SALEH et al., 2011). A técnica de HF-LPME também tem sido utilizada com os mais diversos instrumentos analíticos, López *et al.*, (2012) usaram a HF-LPME de três fases para extração de mercúrio em água potável. O método de três fases foi escolhido, pois para a extração de um metal é preciso antes formar seu complexo metálico na solução doadora e esse complexo metálico deve possuir afinidade com o solvente orgânico imobilizado nos poros para, assim, passar para a fase aceptora; nesse caso o complexante PAN (azo derivado da piridina) foi aplicado para complexar com o mercúrio na amostra. O instrumento analítico utilizado foi o espectrômetro de absorção atômica. O limite de detecção obtido foi de 0,06  $\mu\text{g L}^{-1}$  e o fator de enriquecimento foi de 270, o que foi considerado satisfatório e com boa sensibilidade (LÓPEZ-GARCÍA; RIVAS; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, 2012). San Román *et al.*, (2012) aplicaram a HF-LPME para determinação simultânea de 9 pesticidas piretróides em amostras de água por cromatografia gasosa acoplado ao espectrômetro de massas. San Román e seus colaboradores usaram 1 cm de fibra oca, com 3,3  $\mu\text{L}$  de octanol em 10 mL de amostra; obtendo assim uma recuperação entre 17,5% até 122,7% e um fator de enriquecimento entre 35 até 255. Concluindo que a técnica é satisfatória para qualquer amostra de água, sendo de rio, de chuva ou subterrânea, servindo como método para análises de monitoração dos pesticidas (SAN ROMÁN et al., 2012). Zhou *et al.*, (2013) utilizaram a HF-LPME de duas fases com HPLC/UV para quantificação de equinacido (um composto extraído de ervas equináceas e usado como tônico para o sistema imunológico humano e animal) em plasma de ratos portadores da doença de Parkinson. Zhou e seus colaboradores diluíram a amostra de plasma em água ultrapura em um fator de 4 vezes, e obtiveram um limite de detecção de 2,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O método foi desenvolvido para a comparação entre ratos saudáveis e ratos com a doença de Parkinson. Zhou e seus colaboradores puderam observar com a quantificação do equinacido que o mesmo pode ser útil no tratamento da doença e que o método desenvolvido foi simples, sensível e econômico (ZHOU et al., 2013). A Tabela 3 destaca outros trabalhos desenvolvidos que utilizaram a HF-LPME nos últimos anos.

Tabela 3 - Técnicas analíticas utilizadas com HF-LPME em diversificadas matrizes e seus fatores de enriquecimento.

Técnica Analítica	Analito	Matriz	Fator de enriquecimento	Referência
HPLC-UV	BBP, DBP e DEHP	Chá	94 – 103	(WANG et al., 2016)
HPLC-UV	DEs	Sedimentos	376	(CHEN et al., 2013)
HPLC-UV	DEs	Água superficial	5240	(ZOU et al., 2014)
HPLC-UV	Ftalatos	Água, sucos e leite	59 – 71	(SUN et al., 2013)
HPLC-UV	DMP, DEP e DAP	Água mineral	153 – 335	(YAMINI; ESRAFILI; GHAMBARIAN, 2016)
HPLC-DAD	BBP, DBP e DEHP	Águas residuais	74	(MTIBE et al., 2012)
HPLC-DAD	Sulfonamidas	Águas residuais	175 - 1000	(RAMOS PAYÁN et al., 2011a)
HPLC-DAD	Fluoroquinolonas	Água residual e de rio	50 - 900	(RAMOS PAYÁN et al., 2011b)
HPLC-DAD	BPA	Água	241	(TAN et al., 2012)
GC-MS	Atrazina	Água mineral natural	870	(LETSEKA; GEORGE, 2016)
GC-MS	Piretroides	Água de nascente, subterrânea e água de chuva	35 – 255	(SAN ROMÁN et al., 2012)
LC-MS	Fármacos	Esgoto	2761 – 3254	(SAGRISTÀ et al., 2010)

Legenda: DAD = detector de matriz de diodos (DAD do inglês, *diode array detector*); LC = cromatografia líquida (LC do inglês, *liquid chromatography*); e MS = espectrômetro de massas (MS do inglês, *mass spectrometer*).

Fonte: Do autor (2017)

O fator de enriquecimento (FE) é uma das formas analíticas mais empregadas para analisar a eficiência do sistema de pré-concentração, ou seja, o grau de concentração do analito durante a extração (DE OLIVEIRA et al., 2008). A HF-LPME se torna atrativa, pois apresenta altos valores de fator de enriquecimento devido à pequena quantidade utilizada de solvente orgânico, assim como as microextrações em fase líquida no geral.

Na literatura podem ser encontrados alguns trabalhos utilizando a HF-LPME para extração de BPA em diferentes tipos de amostras. Kawaguchi *et al.*, (2008) utilizaram a HF-LPME para extração de BPA em urina e análise por GC-MS. Apesar da HF-LPME proporcionar uma extração sem tratamento prévio da amostra, para amostras biológicas se faz necessário uma etapa para desconjugação enzimática. O LD obtido foi de  $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ , o que é possível devido a um elevado fator de enriquecimento e os valores de recuperação variaram de 98% a 101%, o que é satisfatório já que se trata de uma amostra biológica com alto grau de complexidade (KAWAGUCHI *et al.*, 2008). Tan *et al.*, (2012) utilizaram a HF-LPME para determinação de BPA em águas superficiais com posterior análise por HPLC-UV e obteve valores de recuperação entre 93% a 102%, e LD de  $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$  (TAN *et al.*, 2012). Comparando esses dois trabalhos pode ser concluído que a HF-LPME apresenta boas recuperações tanto em matrizes ambientais quanto em matrizes biológicas, considerando a complexidade delas. Na literatura foram encontrados poucos trabalhos relacionando ftalatos e HF-LPME. Psillakis e Kalogerakis (2003) utilizaram a HF-LPME pela primeira vez para determinar simultaneamente 6 ftalatos em água mineral com análise por GC-MS, no qual foi obtido LD entre  $0,005$  a  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  e precisão de 4% a 19%. Psillakis comparou a HF-LPME com a SPME, e foi concluído que a HF-LPME apresentou resultados tão bom quanto a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*), porém a HF-LPME tem a vantagem do descarte da fibra após cada extração o que elimina possíveis efeitos de memória que a SPME pode apresentar (PSILLAKIS; KALOGERAKIS, 2003b). Entretanto, não foram encontrados trabalhos empregando a HF-LPME para determinação de ftalatos ou BPA em chorume ou outras matrizes ambientais de elevada complexidade.

### 3.5 Métodos analíticos para determinação de BPA e ftalatos

Os métodos cromatográficos, como GC e HPLC, são os métodos mais comuns utilizados nas determinações de DEs em amostras ambientais (águas superficiais e subterrâneas, efluentes, águas residuais), pois quando acoplados a detectores de alta sensibilidade proporcionam boa separação, seletividade e detecção (LOCATELLI *et al.*, 2016).

A cromatografia é uma técnica físico-química de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações entre a fase móvel e a fase estacionária, que por sua vez são imiscíveis. É uma

técnica extremamente versátil e de grande aplicação. A cromatografia gasosa está presente na maioria dos trabalhos encontrados sobre DEs, juntamente com o espectrômetro de massas. Nesta técnica de separação os componentes de uma amostra são vaporizados e separados em consequência de sua partição entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida contida dentro da coluna. A eluição é feita por um fluxo de fase móvel gasosa inerte que não interage com as moléculas do analito, sendo sua única função transportar o analito através da coluna (SKOOG, 2005). No entanto, quando se deseja identificar e quantificar compostos apenas a separação dos analitos e a comparação com seus tempos de retenção não é suficiente, tornando necessário o emprego de um detector que forneça informações estruturais sobre o analito. O detector mais usado com esses métodos de separação é o espectrômetro de massas (MS), que fornece informações quantitativas (limites de detecção mais baixos) e qualitativas melhores do que outros detectores (KOZLOWSKA-TYLINGO; NAMIEŚNIK; GÓRECKI, 2010).

No espectrômetro de massas, as moléculas da amostra entram em uma fonte de ionização para a consequente ionização das mesmas. As fontes de ionização para a espectrometria de massas são energéticas o suficiente para quebrar as ligações químicas das moléculas, mas não suficientemente energéticas para decompor as moléculas da amostra em seus átomos constituintes. As fontes de ionização produzem fragmentos, os quais também podem ser ionizados. As moléculas não carregadas e os fragmentos são normalmente extraídos da fonte de íons através de uma bomba de vácuo, empregada para produzir um ambiente de baixa pressão. Então, os íons passam por um analisador que seleciona os íons de acordo com seus valores de massa/carga ( $m/z$ ). Assim, os íons separados são detectados e um gráfico contendo a intensidade do sinal gerado pelo íon versus  $m/z$  é produzido pelo sistema de dados (SKOOG, 2005). O modo de varredura do espectrômetro de massas é um requisito instrumental importante para que a análise seja realizada. O mais conveniente é a varredura em uma faixa de massas completa, denominado modo *SCAN*: nesse modo o espectrômetro realiza uma varredura sobre uma faixa de massas cobrindo todos os íons moleculares e fragmentos produzidos para uma amostra complexa de múltiplos componentes. Outro modo de varredura muito utilizado é o monitoramento seletivo de íons (SIM do inglês, *selected ions monitoring*), no qual o analisador de massas pode ser programado para amostrar um ou mais valores de  $m/z$  no decorrer da separação cromatográfica. No monitoramento de apenas um valor de  $m/z$ , a sensibilidade é aumentada em três ordens de magnitude, dependendo da faixa de massas. Assim o aparelho não gasta tempo no registro de razões  $m/z$  que não

correspondem aos compostos de interesse. Essa técnica é útil para análise quantitativa de compostos alvos onde o pico base do anlito é normalmente escolhido para o monitoramento de m/z. A análise no modo *SIM* sintetiza a seletividade e sensibilidade do GC-MS (BECKER, 2012; KANDA; GLENDINNING, 2011).

Alguns trabalhos com determinação de BPA e ftalatos por técnicas cromatográficas estão listados na Tabela 4.

Tabela 4 - Técnicas cromatográficas para determinação de BPA e ftalatos em diversas matrizes.

Técnica Analítica	Preparo de Amostra	Analitos	Matriz	LOD	Referência
GC-MS	-	DBP e DEHP	Perfume	54 e 45 $\mu\text{g L}^{-1}$	(LOPEZ-NOGUEROLES et al., 2013)
GC-MS	Extração ultra-sônica	DEHP	Brinquedos	13,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	(TÜMAY ÖZER; GÜER, 2012)
GC-MS	Dissolução de pedaços de 0,5 cm das amostras	DMP, DEP, DiBP, DBP e DEHP	Dispositivos médicos	25 – 75 $\mu\text{g g}^{-1}$	(GIMENO et al., 2014)
GC-MS	DLLME	DBP, BBP e DEHP	Garrafas de água	0,005 – 0,22 $\mu\text{g L}^{-1}$	(MOUSA; BASHEER; RAHMAN AL-ARFAJ, 2013)
GC-MS	DLLME	BPA	Água residual	0,002 $\mu\text{g L}^{-1}$	(CUNHA; PENA; FERNANDES, 2015)
GC-MS	LLE	DMP, DEP, DiBP, DBP e DEHP	Pinturas de rua	0,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(ORECCHIO; INDELICATO; BARRECA, 2014)
GC-MS	LLE	DMP, DEP, DBP e DEHP	Sedimentos	0,16 $\text{mg kg}^{-1}$	(WANG et al., 2014)
GC-MS	LLE	DBP, BBP, DEHP e DNOP	Brinquedos	0,100 – 0,370 $\text{mg L}^{-1}$	(AL-NATSHEH et al., 2015)

Tabela 4 - Técnicas cromatográficas para determinação de BPA e ftalatos em diversas matrizes (continuação).

GC-MS	SPE	DMP, DEP e DEHP	Água e sedimentos	0,47 - 1,22 $\mu\text{g L}^{-1}$ 79,4 – 108 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(SELVARAJ et al., 2014)
GC-MS	SPE	BPA	Alimentos	0,03 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(DECEUNINCK et al., 2014)
GC-MS	SPE	BPA	Água	0,003 $\mu\text{g L}^{-1}$	(AZZOUZ; BALLESTEROS, 2014)
GC-MS	SPE	BPA	Água superficial	0,001 $\mu\text{g L}^{-1}$	(GONG et al., 2009)
GC-MS	SPE	BPA	Água	7,80 $\text{ng L}^{-1}$	(ROCHA et al., 2013)
HPLC-MS	SPE	BPA	Água	0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$	(LOPES et al., 2016)
HPLC-MS	-	DMP, DEP, BBP e DBP	Lentes de contato	0,03 - 2,62 $\mu\text{g L}^{-1}$	(PÉREZ-FEÁS; BARCIELA-ALONSO; BERMEJO-BARRERA, 2011)
HPLC-MS	SPE	BPA	Água	0,50 $\text{ng L}^{-1}$	(YOU et al., 2015)
HPLC-MS	ASE	BPA	Carne	0,30 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(SHAO et al., 2007)
HPLC-MS	ELISA	BPA	Urina	0,30 $\mu\text{g L}^{-1}$	(ZHAO et al., 2012)
HPLC-MS	Radioimuno-ensaio	BPA	Sangue	0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	(HARTHE et al., 2012)
HPLC-MS/MS	-	BPA	Poeira	0,0005 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(LOGANATHAN; KANNAN, 2011)

Tabela 4 - Técnicas cromatográficas para determinação de BPA e ftalatos em diversas matrizes (continuação).

LC-MS/MS	LLE	DMP, DEP, DBP, DEHP e BPA	Brinquedos	0,03 – 2269 $\mu\text{g L}^{-1}$	(WOOTEN; SMITH, 2013)
LC-MS/MS	LLE	DEHP	Cabelo	0,20 $\mu\text{g kg}^{-1}$	(CHANG; LIN; CHANG, 2013)
LC-MS/MS	SPE	BPA	Água residual e superficial	0,40 $\text{ng L}^{-1}$	(SODRÉ; LOCATELLI; JARDIM, 2010)
LC-MS/MS	Microondas	BPA	Sedimento	2,09 $\text{ng L}^{-1}$	(LEE et al., 2013)
UPLC-MS/MS	SPE	BPA	Água	18,0 $\text{ng L}^{-1}$	(CLADIERE et al., 2013)

Legenda: ASE = extração acelerada por solvente (ASE do inglês, *accelerated solvent extraction*); ELISA = ensaio de imunoabsorção ligado a enzima (ELISA do inglês, *enzyme linked immunosorbent assay*); UPLC = cromatografia líquida de ultra resolução (UPLC do inglês, *ultra performance liquid chromatography*); SPE = extração em fase sólida (SPE do inglês, *solid phase extraction*).

Fonte: Do autor (2017)

Os ftalatos podem ser quantificados utilizando ambas as técnicas cromatográficas, GC e HPLC acopladas a um detector. O detector mais utilizado para os ftalatos é o MS, pois é uma ferramenta eficiente na identificação e quantificação de cada ftalato alvo com limite de detecção (LD) a nível de  $\text{ng L}^{-1}$  (NET *et al.*, 2015).

As técnicas cromatográficas são as mais utilizadas nas análises dos compostos alquilfenólicos, como o BPA. A maioria dos alquilfenóis com cadeias pequenas podem ser diretamente determinadas por GC, porém a presença de grupos hidroxila nos alquilfenóis requer a modificação deste grupo funcional polar para melhorar seu comportamento cromatográfico. A derivatização é usada nesses casos e, também, nos casos em que as cadeias dos compostos alquilfenólicos são extensas. A fim de evitar os problemas associados com análise por GC, a HPLC também é introduzida para determinação e quantificação dos compostos alquilfenólicos com detector MS. No entanto, a HPLC não fornece resolução suficiente para amostras ambientais complexas quando utiliza detectores como UV-Vis ou DAD (ZHU; ZUO, 2013).

A vantagem da GC-MS em relação a HPLC-MS está na biblioteca de espectros de massas útil para identificação de picos desconhecidos, pois em termos de precisão e repetibilidade tanto GC-MS quanto HPLC-MS apresentam resultados satisfatórios (LOCATELLI *et al.*, 2016).

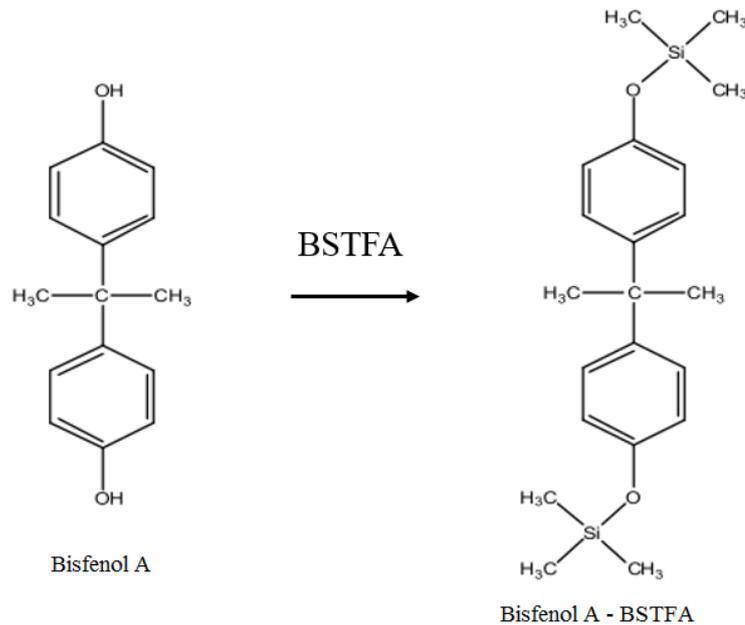
### 3.5.1 Derivatização

A derivatização é realizada para melhorar a estabilidade dos analitos, bem como a precisão da análise por GC, e é tipicamente usada para compostos termolábeis, polares e com baixa volatilidade. Assim, a derivatização é comumente adotada em muitas metodologias analíticas para melhorar a forma e a resolução dos picos cromatográficos. Porém, este passo adicional de preparo da amostra pode levar a perdas de analitos. A derivatização é raramente utilizada para análises com HPLC (KOZLOWSKA-TYLINGO; NAMIEŚNIK; GÓRECKI, 2010). Para análises de BPA os derivatizantes mais utilizados são o anidrido trifluoroacético (do inglês *trifluoroacetic anhydride*, TFAA) e o N-O-Bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida (do inglês, *N-O-Bis-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide*, BSTFA) (ZHU; ZUO, 2013).

A derivatização do BPA para análises em cromatografia gasosa se faz necessária para aumentar a volatilidade do analito. Dentre os derivatizantes, o BSTFA é o mais utilizado com o BPA porque reage rapidamente com os grupos hidroxila, conforme apresentado na Figura 4,

formando derivatizados mais voláteis e resultando em picos mais definidos (AZZOUZ; BALLESTEROS, 2014; LI et al., 2006).

Figura 4 - Reação de derivatização do BPA utilizando BSTFA como agente derivatizador.



Fonte: Adaptado de Montagner (2008).

### 3.6 Planejamento de experimentos

A otimização univariada requer um maior número de experimentos, o que demanda tempo e insumos laboratoriais, e não avalia a influência entre as variáveis estudadas. Os métodos de análise multivariada são uma alternativa que possibilita a economia e a efetividade de uma otimização simultânea de mais de uma variável (BEZERRA et al., 2008).

Em um experimento diversos fatores ou variáveis podem influenciar a resposta desejada, porém não se sabe quais dos fatores são os mais significativos. Para isso uma etapa de triagem é realizada com o objetivo de determinar as variáveis experimentais que têm influência significativa sobre a resposta de interesse. Nessa etapa escolhe-se qual planejamento utilizar para estimar a influência das diferentes variáveis no resultado, sendo normalmente usados os planejamentos fatoriais completos ou fracionários (DEBRUS et al., 2011).

No planejamento fatorial completo são investigados as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação na resposta. Por exemplo, se a combinação de  $n$  fatores é investigada em dois níveis, um planejamento fatorial consistirá de  $2^n$  experimentos. Porém, esse tipo de planejamento gera um número muito grande de ensaios. Desta maneira, tornou-se possível a obtenção de informações dos efeitos mais importantes e retirar, na maioria das vezes, as mesmas conclusões através do planejamento fatorial fracionário. Há diferentes tipos de planejamentos fatoriais fracionários, como, frações  $1/2$ ,  $1/4$ ,  $1/8$ ,  $1/16$ ... $1/2^b$  de um planejamento  $2^{n-b}$ , em que  $n$  é o número de variáveis e  $b$  é o tamanho da fração (TEÓFILO, 2006).

Após selecionar as variáveis mais relevantes através do planejamento fatorial, pode-se recorrer a Metodologia de Superfícies de Resposta (MSR) para atingir uma região de domínio ótimo das variáveis selecionadas. As metodologias de superfície de respostas comumente utilizadas são Composto Central, Box-Behnken e Doehlert (BEZERRA et al., 2008). O planejamento composto central é uma MSR utilizada para verificar a curvatura na superfície de resposta e todas as variáveis são estudadas com o mesmo número de níveis. O planejamento Box-Behnken exige um mínimo de variáveis, apresenta rotatividade e necessita de menos experimentos que o planejamento composto central. O planejamento Doehlert pode trabalhar a partir de duas variáveis, e os níveis estudados podem diferir para cada uma das variáveis estudadas. Este planejamento requer um número menor de experimentos em relação aos outros planejamentos (FERREIRA et al., 2004).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

- Frascos de vidro transparente com tampa de rosca de capacidade de 1,5 e 20,0 mL da Supelco (Bellefonte, EUA);
- Micropipetas de volume variado modelo Finnpiette da ThermoScientific (West Palm Beach, Alemanha);
- Agulhas hipodérmicas descartáveis adquiridas da BD PrecisionGlide (Temse, Bélgica);
- Septo de borracha em PTFE de 20 mm de diâmetro adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis – MO, EUA);
- Membrana capilar de polipropileno, Accurel PP Q3/2 (600 µm de diâmetro interno, 0,2 µm de tamanho dos poros e 200 µm de espessura da parede) (Wuppertal, Alemanha);
- Imãs externos para agitação (20 mm x 20 mm x 10 mm) da Suoergauss (São Paulo, Brasil).
- Padrões de dimetilftalato, dietilftalato, diisopropilftalato, dibutilftalato, bis-2-etilhexilftalato e bisfenol A foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis – MO, EUA), todos com pureza  $\geq 99.9\%$ ;
- N O-Bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA) da Sigma-Aldrich de pureza  $\geq 99.0\%$  (St. Louis – MO, EUA);
- Metanol de grau P.A ou superior da Sigma-Aldrich (St. Louis – MO, EUA);
- Acetonitrila de grau P.A ou superior da Sigma-Aldrich (St. Louis – MO, EUA);
- Sulfato de sódio anidro,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , de grau P.A da Synth (Diadema - São Paulo, Brasil);
- Purificador de água Elga Purelab Classic (Lane End, Reino Unido);
- Balança analítica modelo AUW220D da Shimadzu (Quioto, Japão);
- Banho de ultrassom USC2800 da Unique, com frequência de 40kHz e potência de 120 W (Indaiatuba – São Paulo, Brasil);
- Placa de agitação *home made* com quatro agitadores individuais montado no Departamento de Química da UFMG (Belo Horizonte, Brasil).

## 4.2 Preparo de Soluções

As soluções estoques dos ftalatos foram preparadas em metanol na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>. A solução estoque de BPA foi preparada em acetonitrila na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup>. Uma solução mix contendo todos os ftalatos foi preparada na concentração de 100 µg L<sup>-1</sup> em metanol. As soluções para trabalho foram preparadas a partir de diluições da solução mix e da solução estoque do BPA. Todas as soluções foram armazenadas em frascos de vidro a -6 °C.

As soluções padrão para as curvas analíticas foram preparados por adição de quantidades adequadas de solução de trabalho em água nos níveis de concentração: 0,25; 0,50; 2,00; 5,00; 10,0; 20,0 e 30,0 µg L<sup>-1</sup>.

## 4.3 Amostras

Amostras de chorume do aterro controlado da cidade de Divinópolis, Minas Gerais, foram coletadas em 2015 da célula antiga do aterro, e outras amostras de chorume foram coletadas em abril de 2017. As amostras de chorume coletadas em abril de 2017 foram de três pontos diferentes do aterro controlado, como mostra a Figura 5. Foram coletados chorume da célula de armazenagem antiga, da lagoa de despejo do chorume, e da célula de armazenagem atual de chorume. Após a coleta as amostras foram armazenadas em geladeira, a 3±1 °C, em frascos de vidro âmbar até a realização das extrações.

Figura 5 - Imagens do aterro controlado da cidade de Divinópolis, Minas Gerais, e imagens dos pontos de coleta das amostras de chorume.



Legenda: (a) Entrada do aterro controlado; (b) Imagem via satélite da localização do aterro controlado, com coordenadas geográficas 20° 08' 44" S e 44° 53' 31" O; (c) Caixa coletora da célula nova do aterro, com coordenadas geográficas 20° 9' 29" S e 44° 52' 7" O; (d) Lagoa de chorume, com coordenadas geográficas 20° 9' 41" S e 44° 49' 33" O; e (e) Caixa coletora da célula antiga do aterro, com coordenadas geográficas 20° 9' 48" S e 44° 49' 38" O.

Fonte: Fotos (a) e (b) – Google Earth; Fotos (c), (d) e (e) – Do autor (2017)

#### 4.4 Sistema Cromatográfico

Foi utilizado um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas GCMS QP2010 Plus (Shimadzu, Japão). O estabelecimento das condições cromatográficas para identificação do BPA e dos ftalatos ocorreu através da modificação dos métodos descritos por Souza (2011) e Moreira (2014).

A análise cromatográfica foi realizada com injeção no modo *splitless* por 2 min, utilizando uma coluna HP-5MS (5% fenil – 95% dimetilsiloxano) de dimensões 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. A temperatura do injetor foi 250 °C e o fluxo do gás hélio (99,999%) foi de 1,5 mL min<sup>-1</sup>. A programação de aquecimento do forno do cromatógrafo iniciou em 120 °C e manteve-se por 3 min, com aumento para 190 °C a uma taxa de 20 °C min<sup>-1</sup>, mantida por 4 min, aumento para 250 °C a uma taxa de 3 °C min<sup>-1</sup>, mantida por 1 min, e aumento para 270 °C a uma taxa de 25 °C min<sup>-1</sup>. O corte do solvente foi fixado em 6 min. O tempo total de corrida foi de 32,30 min.

O espectrômetro de massas foi operado no modo monitoramento de íons selecionados (SIM), com ionização por elétrons (EI) e energia de 70 eV, e as razões massa/carga (m/z) monitoradas estão na Tabela 5. A temperatura da fonte de íons foi de 250 °C e a temperatura de interface de 220 °C.

Tabela 5 - Íons Monitorados no modo SIM na análise dos desreguladores endócrinos.

Compostos	Íons	Tempo de Retenção (min)
BPA-BSTFA <sup>a</sup>	357, 372*, 207	18,6
DMP	77, 163*, 194	6,45
DEP	150, 149*, 177	7,40
DiBP	149, 150*, 43	9,23
DBP	150, 149*, 41	12,4
DEHP	57, 149*, 167	26,8

Legenda: BPA-BSTFA refere-se ao BPA derivatizado com o grupo trimetilsilil do BSTFA.  
Fonte: Do autor (2017)

## 4.5 Otimização da Metodologia

Foram otimizados os seguintes parâmetros: solvente extrator, tempo de extração, velocidade de agitação, adição de sal, pH e temperatura.

### 4.5.1 Derivatização do BPA

Geralmente a etapa de derivatização requer tempo, aquecimento ou resfriamento, ou, então, banho em ultrassom e até mesmo tempo no micro-ondas (KAWAGUCHI et al., 2008). A fim de minimizar o tempo de derivatização, optou-se por realizar a derivatização do BPA na porta do injetor do GC, de acordo com Basheer *et al.* (2004).

A derivatização consistiu em introduzir 1 µL de BSTFA na porta do injetor do GC, logo após ter injetado 1,0 µL do extrato (solvente com os analitos extraídos), e deixar por 2 min antes de liberar para a coluna, o que assegura uma derivatização mais eficiente.

#### 4.5.2 Escolha do solvente de extração

O método de HF-LPME foi escolhido para a extração e pré concentração do BPA e dos ftalatos. Introduziu-se o solvente orgânico em uma fibra oca que, posteriormente, foi imersa em um frasco onde estava a amostra. Dois solventes orgânicos foram avaliados para a extração dos compostos: o octanol e o octanoato de etila. Para a realização da extração, uma fibra oca de 10,0 cm foi embebida em octanoato de etila por 10 s e o excesso foi removido através da imersão da fibra em um frasco contendo água, em banho ultrassônico por 5 s. A fibra foi preenchida com 35,0  $\mu\text{L}$  de octanoato de etila e logo após foi introduzida no frasco contendo 16,0 mL de uma solução aquosa fortificada com os analitos em uma concentração igual a 35,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A solução aquosa foi agitada com o auxílio de uma barra magnética de teflon por 30 min em temperatura ambiente. O mesmo procedimento foi repetido empregando o octanol. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

#### 4.5.3 Planejamento fatorial

Para reduzir o número de ensaios e selecionar as variáveis significativas optou-se por realizar um estudo multivariado com as principais variáveis de influência da etapa de extração. Esse estudo foi conduzido através do planejamento fracionário com ponto central. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa Statística 8.0 (Tulsa, OK, USA).

Foi feito um planejamento fatorial fracionário  $2^{(5-2)}$  (resolução III) com 3 pontos centrais. As variáveis tempo de extração, temperatura, agitação, adição de sal (efeito salting-out) e pH foram avaliadas para a extração dos analitos. As condições para cada ensaio estão mostradas na Tabela 6. Em todos os ensaios foi utilizada uma solução aquosa dos analitos na concentração de 35,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Tabela 6 - Condições experimentais do planejamento fatorial fracionário  $2^{(5-2)}$  para otimização da extração.

<b>Experimento</b>	<b>Tempo de extração (min)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Agitação (rpm)</b>	<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%m/v)</b>	<b>pH</b>
E1	15	25	0	20	10
E2	50	25	0	0	4
E3	15	80	0	0	10
E4	50	80	0	20	4
E5	15	25	1500	20	4
E6	50	25	1500	0	10
E7	15	80	1500	0	4
E8	50	80	1500	20	10
E9	30	50	750	10	7
E10	30	50	750	10	7
E11	30	50	750	10	7

Fonte: Do autor (2017)

#### 4.5.4 Obtenção das condições ótimas

Para determinar as melhores condições de extração dos analitos no chorume, um planejamento Doehlert foi proposto utilizando as variáveis significativas selecionadas no planejamento fatorial (tempo de extração e velocidade de agitação). Nessa etapa foram realizados 9 experimentos sendo 3 pontos centrais para obter uma estimativa do erro experimental, de acordo com a Tabela 7.

Tabela 7 - Matriz de experimentos aplicadas na superfície de resposta Doehlert.

Experimento	Variáveis e níveis	
	Tempo de extração (min)	Agitação (rpm)
1	40(-0,5)*	750(-0,87)
2	60(0,5)	750(-087)
3	70(1)	1500(0)
4	60(0,5)	2250(0,87)
5	40(-0,5)	2250(0,87)
6	30(-1)	1500(0)
7	50(0)	1500(0)
8	50(0)	1500(0)
9	50(0)	1500(0)

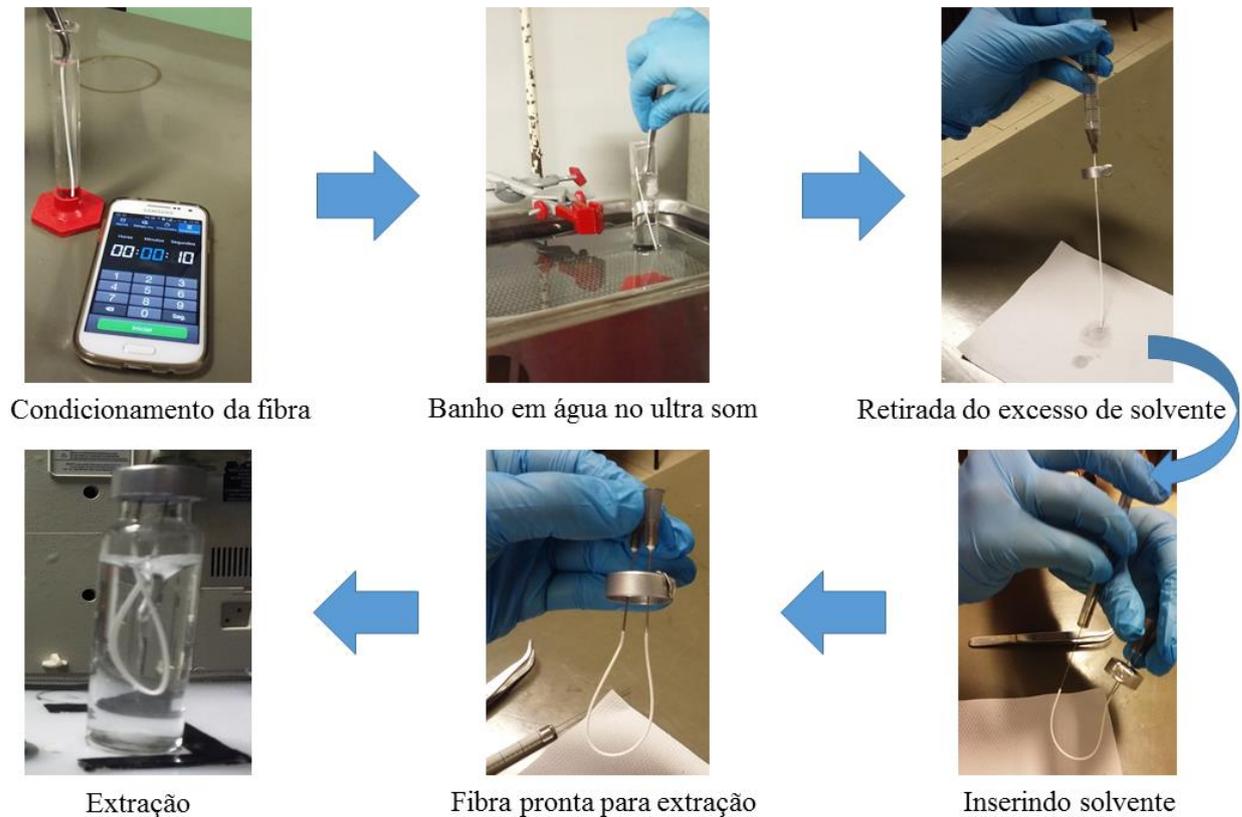
Legenda: \*entre parênteses são os números codificados.

Fonte: Do autor (2017)

#### 4.6 Extração dos Analitos

Após a obtenção das condições ótimas para o método realizou-se a extração dos analitos. O procedimento de extração consistiu na introdução de 35,0  $\mu\text{L}$  de octanoato de etila no interior da fibra oca de 10 cm, previamente embebida em octanoato de etila por 10 s. Após retirar o excesso de solvente a fibra oca contendo o octanoato de etila foi colocada dentro de um frasco de vidro, no qual já continha 16 mL da amostra e uma barra magnética para agitação. O período de extração foi de 55 min em temperatura de 25°C. Posteriormente, a fibra foi retirada do frasco de extração e, com auxílio de uma microseringa, o octanoato de etila contendo os analitos (extrato) foi transferido para um frasco de 1 mL. Com o auxílio de uma microseringa retirou-se 1,0  $\mu\text{L}$  do extrato para injeção no GC-MS. Logo após a injeção do extrato com a mesma micro seringa introduziu-se 1,0  $\mu\text{L}$  de derivatizante BSTFA na porta do injetor do GC-MS. Para que ocorresse completa derivatização do BPA, o extrato e o BSTFA foram deixados por 2 min na porta do injetor. Um esquema passo a passo do método está apresentado na Figura 6.

Figura 6 - Passo a passo da HF-LPME para o teste do solvente extrator, realizado em água fortificada com os analitos em uma concentração de  $35,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Fonte: Do autor (2017)

#### 4.7 Parâmetros de Mérito

Os seguintes parâmetros foram avaliados durante a validação do método: limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade, precisão e recuperação. A validação seguiu as orientações do guia da Eurachem (MAGNUSSON, 2014).

As curvas analíticas foram feitas em triplicatas em água deionizada fortificada com concentrações finais de 0,25; 0,50, 2,00; 5,00; 10,0; 20,0 e 30,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de BPA e ftalatos (DEP, DiBP, DBP e DEHP) e para o DMP as concentrações finais foram de 2,00; 5,00; 10,0; 20,0 e 30,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , sendo submetidos ao processo de extração otimizado. A regressão linear, assim como os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) foram obtidos para as áreas dos picos em função das concentrações.

Os LD e LQ foram calculados a partir do desvio padrão de 10 análises do branco, fortificado com  $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$  de todos os analitos. Para o estudo de precisão e recuperação, utilizou-se 5 replicatas de amostras em solução aquosa, fortificadas nas concentrações de

5,00; 10,0 e 30,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . As análises das 5 replicatas para o estudo da precisão intraensaio foram realizadas no mesmo dia. O estudo da precisão inter-ensaio foi realizado em 2 dias consecutivos, sendo realizada a análise de 10 replicatas. A precisão intra e inter-ensaio foi determinada calculando o coeficiente de variação (% CV). A recuperação foi avaliada através da expressão que se segue:

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{X' - X}{C} \times 100$$

onde  $X'$  é o valor médio da amostra enriquecida,  $X$  é o valor médio da amostra sem enriquecimento, e  $C$  é a concentração adicionada. O cálculo de recuperação segue de acordo com o manual de validação da Eurachem.

Para o cálculo do fator de enriquecimento (FE) a expressão utilizada foi:

$$\text{Fator de Enriquecimento} = \frac{V' R}{100 V''}$$

onde  $V'$  é o volume da fase doadora (solução aquosa),  $R$  é o valor da recuperação e  $V''$  é o volume da fase orgânica (solvente). A equação do FE foi utilizada de acordo com Oliveira *et al.*, (2008) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2008) .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Otimização da Metodologia de Extração

Na literatura, o método mais comumente utilizado na extração de compostos orgânicos poluentes em matrizes ambientais é a extração em fase sólida (SPE). Buscando o desenvolvimento de um método simples, de fácil execução e de menor custo, foram feitos testes preliminares para a execução do método de microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME).

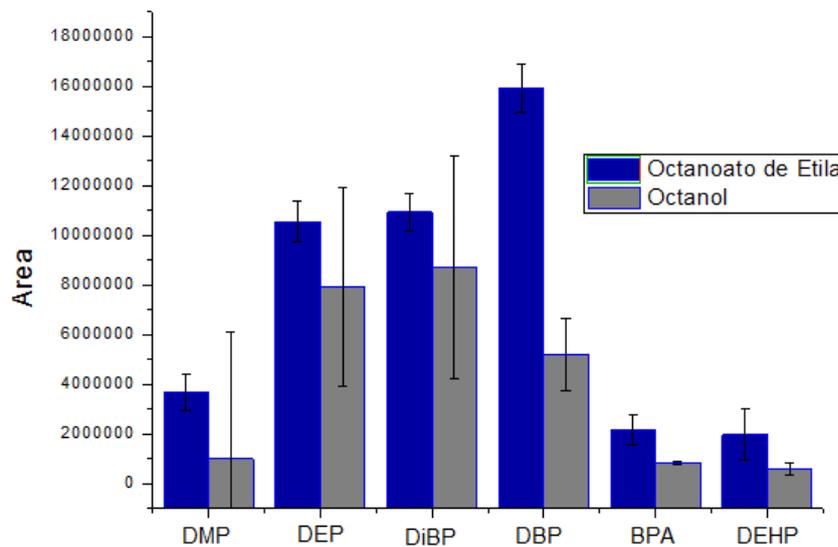
#### 5.1.1 Escolha do solvente

Uma etapa fundamental na otimização de métodos com HF-LPME é a escolha do solvente orgânico. Nessa etapa é preciso saber que algumas propriedades são necessárias para um solvente orgânico ser empregado no método, dentre elas estão: a baixa solubilidade em água, prevenindo a dissolução da fase orgânica na aquosa; a baixa volatilidade, evitando a perda de fase orgânica durante a extração; a compatibilidade com a fibra utilizada, neste trabalho uma fibra de polipropileno foi usada para a extração; a fácil impregnação nos poros da mesma; e a solubilidade adequada do analito de interesse.

Na maioria dos trabalhos em que a HF-LPME foi empregada os dois solventes mais utilizados como a fase aceptora foram octanol e o tolueno devido à ampla faixa de compostos solúveis nesses solventes como: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, pesticidas organoclorados, fenóis, ftalatos, fármacos, fungicidas, entre outros (RASMUSSEN; PEDERSEN-BJERGAARD, 2004). A escolha para o teste de solvente deste trabalho baseou-se na literatura, no caso do octanol, e em testes já realizados no laboratório, para os mesmos analitos, com o octanoato de etila.

A análise para comparação entre as fases aceptoras foi feita em triplicata e os resultados estão apresentados na Figura 7. Apesar do octanol ter apresentado bom desempenho na extração dos analitos, o octanoato de etila quando utilizado no recobrimento e preenchimento da fibra oca obteve uma maior eficiência de extração para todos os compostos, e também, proporcionou picos com áreas maiores. Portanto, o octanoato de etila foi escolhido como fase aceptora para este trabalho.

Figura 7 - Comparação dos solventes utilizados para extração do BPA e ftalatos em água fortificada com  $35 \mu\text{g L}^{-1}$  (n=3).



Fonte: Do autor (2017)

### 5.1.2 Planejamento fatorial

Foi realizado o planejamento fatorial fracionário  $2^{(5-2)}$  com ponto central para o estudo mais completo das variáveis que poderiam influenciar na extração dos analitos. O volume da solução aquosa utilizada foi fixada em 16 mL e contaminada com padrão de todos os analitos obtendo uma concentração de  $35 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Após uma avaliação das variáveis que ainda poderiam afetar o rendimento da extração, foram selecionadas as seguintes variáveis para a realização da otimização multivariada: tempo de extração, temperatura, velocidade de agitação, adição de sal e pH. A influência das variáveis selecionadas foi avaliada através de um planejamento  $2^{(5-2)}$ . Três repetições foram realizadas no ponto central para obtenção da incerteza experimental. Desse modo foram realizados 11 experimentos. A Tabela 8 apresenta a matriz de delineamento experimental com a resposta analítica para cada experimento. A média geométrica foi calculada para se obter uma uniformização dos dados obtidos, como é uma determinação simultânea de 6 analitos esse cálculo se torna necessário para que assim se obtenha só um gráfico de desajustabilidade, ou seja uma só resposta de otimização para extração de todos os analitos eficientemente. Sendo assim, a média geométrica facilitou a análise dos resultados do planejamento experimental.

Tabela 8 - Delineamento experimental e respectivas respostas obtidas através do planejamento fracionário.

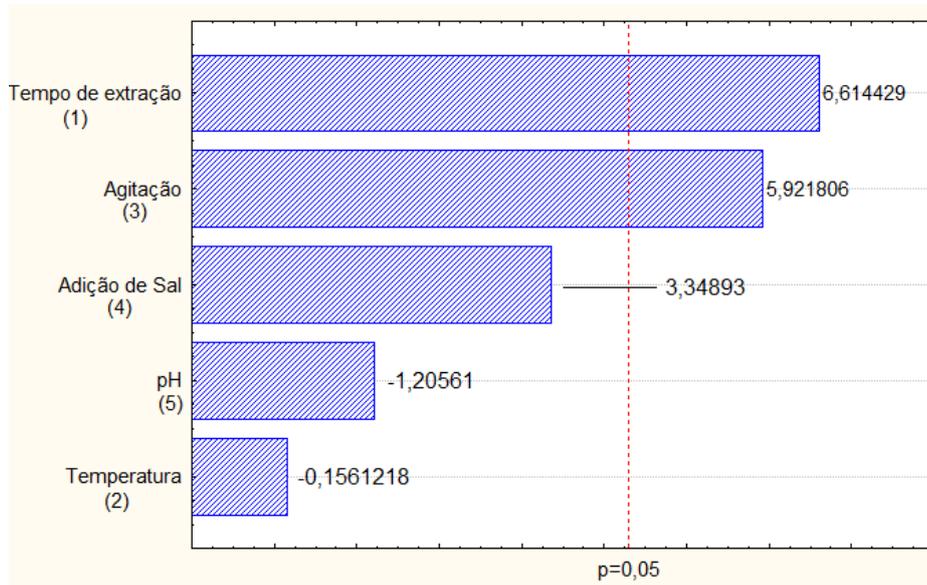
Experimentos	Variáveis					Sinal analítico relativo (%) <sup>a</sup>
	Tempo de extração (min)	Temperatura (°C)	Adição de Sal (g L <sup>-1</sup> )	pH	Agitação (rpm)	
1	15	25	20	10	0	11,85
2	50	25	0	4	0	21,53
3	15	80	0	10	0	12,91
4	50	80	20	4	0	85,06
5	15	25	20	4	1500	66,91
6	50	25	0	10	1500	91,40
7	15	80	0	4	1500	32,44
8	50	80	20	10	1500	64,55
9	30	50	10	7	750	85,25
10	30	50	10	7	750	93,68
11	30	50	10	7	750	100,0

Legenda: <sup>a</sup>O sinal analítico resultou da média geométrica das medidas normalizadas das áreas dos picos cromatográficos dos ftalatos e do BPA.

Fonte: Do autor (2017)

As variáveis significativas foram avaliadas com 95% de confiança e a importância de cada variável foi analisada através do gráfico de pareto. Por se tratar de uma extração simultânea dos analitos o ideal é obter uma resposta única que implique em uma extração adequada e que minimize as perdas. Para alcançar a resposta única utiliza-se o cálculo da média geométrica, pois através dessa média é possível minimizar as diferenças e obter uma extração adequada para todos os analitos. Quando foi realizado o cálculo da média geométrica o gráfico de pareto obtido foi o que está apresentado na Figura 8.

Figura 8 - Gráfico de pareto obtido através do planejamento fracionário  $2^{(5-2)}$  para seleção de variáveis que afetam a extração simultânea de ftalatos e BPA por HF-LPME.



Fonte: Do autor (2017)

A influência das variáveis na resposta acima do p-valor foi positiva, ou seja, quanto maior o tempo de extração e agitação maiores são as áreas dos picos dos analitos. O tempo de extração longo pode ser explicado devido à transferência da massa do analito que está na amostra para o solvente no interior da fibra (GHAMBARIAN; YAMINI; ESRAFILI, 2012). A influência da agitação ocorre uma vez que a difusão de analitos através da camada interfacial da fibra oca é facilitada, e se melhora a repetibilidade do método. E como na HF-LPME o solvente está contido no interior da fibra, a técnica suporta velocidades de agitação altas (PEDERSEN-BJERGAARD; RASMUSSEN, 2008).

As variáveis adição de sal, pH e temperatura foram descartadas por não serem significativas no domínio experimental avaliado. A adição de sal foi testada usando o sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) em níveis de acordo com o encontrado na literatura. Esse sal foi escolhido pela disponibilidade do mesmo no laboratório, embora normalmente na literatura o sal utilizado para testes de efeito “*salting out*” seja o cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ). Jiang *et al.* (2014) em seu trabalho também observaram um efeito negativo para adição de sal na extração de BPA em água, pois o  $\text{NaCl}$  aumentou a ionização do soluto no meio aquoso o que causou uma diminuição da eficiência de extração (JIANG *et al.*, 2014). O pH é outro parâmetro que afeta a eficiência da extração, pois os analitos podem existir em diferentes formas quando o pH é variado. A faixa de pH utilizada nos testes foi entre 4 a 10, de acordo com alguns trabalhos lidos na literatura (JIANG *et al.*, 2014; TAN *et al.*, 2012). As melhores extrações foram

obtidas sem alteração de pH. A HF-LPME normalmente é utilizada em temperaturas ambientes, pois assim evita-se a formação de bolhas na superfície da fibra e a evaporação do solvente durante a extração. Pode ser observado no Pareto obtido que a temperatura afetou negativamente a extração, embora esse efeito seja não significativo. Portanto, preferiu-se realizar as extrações à temperatura ambiente, principalmente para evitar a evaporação do solvente.

### **5.1.3 Obtenção das condições ótimas**

Para otimizar as variáveis tempo de extração e agitação simultaneamente foi utilizada a superfície de resposta Doehlert. Essa superfície permite avaliar o domínio experimental em mais níveis e permite a realização de menor número de experimentos em relação às demais superfícies de resposta. Na realização dos testes foram fixadas as variáveis não significativas em temperatura ambiente, sem alteração de pH e sem adição de sal.

Para atingir as condições ótimas para a extração dos analitos estudados dentro do domínio experimental, foi necessário agrupar as superfícies de respostas obtidas a partir dos modelos de regressão em uma função de desejabilidade. Esta função pode ser utilizada para combinar múltiplas respostas, através da média geométrica, em uma única resposta. Valores próximos de zero são indesejáveis, enquanto valores que se aproximam de um, representam as respostas ideais (JANCIC-STOJANOVIC et al., 2009). A Tabela 9 apresenta a matriz de experimentos com as respostas analíticas de cada experimento, novamente a média geométrica foi utilizada para obter-se uma superfície de resposta mais uniforme já que se trata de uma extração simultânea.

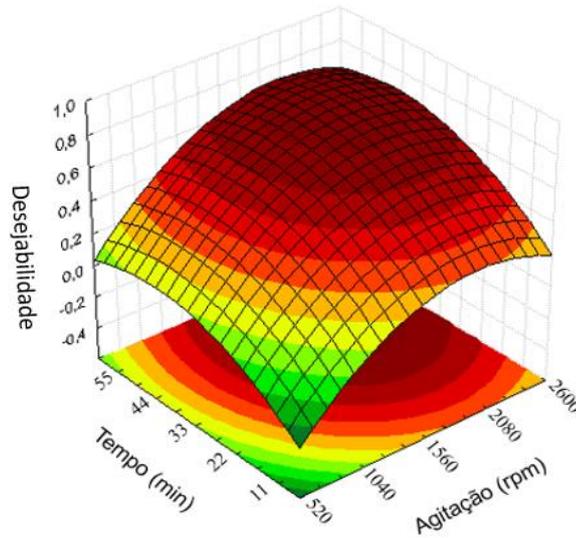
Tabela 9 - Matriz de experimentos aplicadas na superfície de resposta Doehlert e suas respectivas respostas obtidas.

Experimento	Variáveis e níveis		Sinal Analítico Relativo (%)
	Tempo de extração (min)	Agitação (rpm)	
1	40(-0,5)	750(-0,87)	60,12
2	60(0,5)	750(-0,87)	66,33
3	70(1)	1500(0)	93,83
4	60(0,5)	2250(0,87)	94,64
5	40(-0,5)	2250(0,87)	100,0
6	30(-1)	1500(0)	65,82
7	50(0)	1500(0)	70,33
8	50(0)	1500(0)	96,79
9	50(0)	1500(0)	85,90

Fonte: Do autor (2017)

Pode-se observar na Figura 9 a superfície de resposta obtida através da função desejabilidade para as variáveis estudadas. A interação entre os parâmetros avaliados tem efeito significativo e positivo sobre a resposta. As condições ótimas indicadas pela função desejabilidade foram: tempo de extração 55 min e agitação de 2400 rpm.

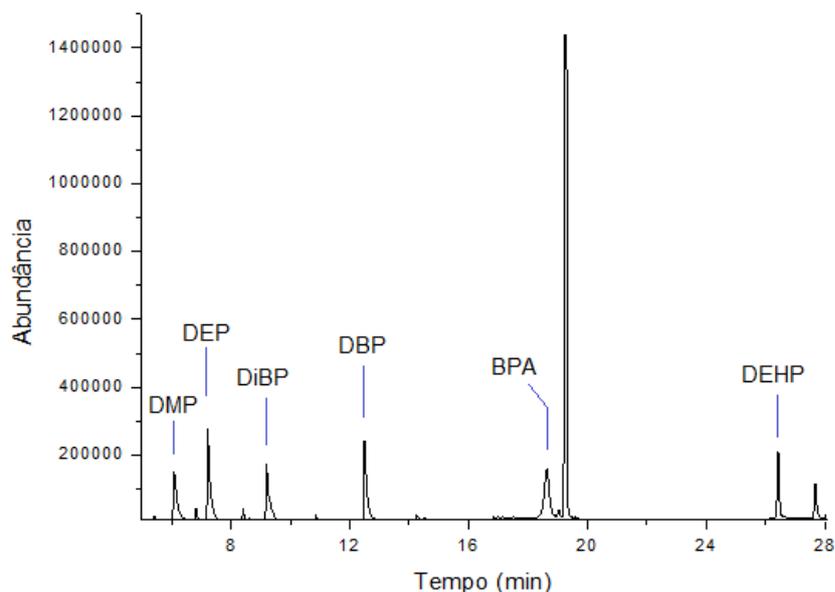
Figura 9 - Superfície de resposta da desejabilidade obtida no planejamento Doehlert.



Fonte: Do autor (2017)

Portanto, após o estudo da superfície de resposta considerou-se como condições ótimas para o método de microextração em fase líquida com fibra oca em amostras aquosas: 16 mL de solução aquosa, sem alteração do pH, temperatura ambiente, sem adição de sal e agitação constante de 2400 rpm. Um cromatograma de solução padrão obtido para a análise dos ftalatos e BPA derivatizado por GC-MS no modo SIM é apresentado na Figura 10.

Figura 10 - Cromatograma dos compostos estudados por GC-MS, modo SIM.



Fonte: Do autor (2017)

## 5.2 Parâmetros de Mérito

Para que o método de extração de DEs em amostras de chorume apresente confiabilidade foram realizados testes para a validação do mesmo utilizando as principais figuras de mérito: linearidade, precisão, recuperação, LD e LQ.

As curvas analíticas foram construídas em água destilada em sete níveis de concentrações: 0,25; 0,50; 2,00; 5,00; 10,0; 20,0 e 30,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para DEP, DiBP, DBP, BPA e DEHP e em 5 níveis de concentrações: 2,00 a 30,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  para DMP, em triplicatas para cada concentração. O DMP não foi detectado nas extrações com concentrações abaixo de 1  $\mu\text{g L}^{-1}$ , por isso a curva começou em 2,00  $\mu\text{g L}^{-1}$ , fato que pode ser explicado devido sua maior solubilidade em água (4  $\text{g L}^{-1}$ ) em relação aos demais DEs. Os coeficientes de determinação obtidos ( $R^2 \geq 0,998$ ) mostraram que os ajustes dos modelos lineares propostos foram adequados.

Para verificar os limites de detecção e de quantificação do equipamento GC-MS foram injetadas, 10 vezes, soluções brancas fortificadas com 1,00  $\mu\text{g L}^{-1}$  de todos os analitos estudados, de acordo com o guia de validação da Eurachem. Os valores estão descritos na Tabela 10.

Tabela 10 - Parâmetros de mérito, limites de detecção, limites de quantificação e linearidade do método proposto.

<b>Analito</b>	<b>Faixa de trabalho (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>LD (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>LQ (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
<b>DMP</b>	2,00 – 30,0	$y=119897x + 0,2409$	0,9992	0,28	0,95
<b>DEP</b>	0,25 – 30,0	$y=460995x + 0,2613$	0,9999	0,22	0,72
<b>DiBP</b>	0,25 – 30,0	$y=745626x + 0,405$	0,998	0,15	0,49
<b>DBP</b>	0,25 – 30,0	$y=1000000x - 0,4851$	0,9999	0,46	1,55
<b>BPA</b>	0,25 – 30,0	$y=343794x - 0,0518$	0,9998	0,24	0,80
<b>DEHP</b>	0,25 – 30,0	$y= 216662x - 12193$	0,9994	0,76	2,40

Fonte: Do autor (2017)

A precisão intra e inter ensaio foi determinada em três níveis de concentração: 2,00; 10,0 e 30,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Os padrões foram preparados e injetados pelo mesmo analista, no mesmo dia, no mesmo equipamento e em dois dias consecutivos. A avaliação da precisão do método ocorreu através do cálculo do coeficiente de variação (CV), os resultados, mostrados na Tabela 11, mostram que os CVs obtidos estão todos abaixo de 11%, o que indica uma precisão adequada do método proposto, já que o critério de precisão da Eurachem exige CVs abaixo de 20%.

Quando não há disponível um material de referência certificado, nem um método de referência, pode-se mensurar a exatidão realizando a adição de uma concentração conhecida em uma amostra e verificando se o método é capaz de retornar o resultado com o valor verdadeiro adicionado. Para o estudo de exatidão do método foram avaliadas as recuperações em três níveis de concentração, um nível baixo, médio e alto, em 10 replicatas. Os resultados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados da precisão intra e inter, e do estudo de recuperação, em três níveis de concentração.

Analito	Precisão Intra			Precisão Inter			Recuperação (%)		
	CV (%)			CV (%)					
	2,0 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	10 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	30 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2,0 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	10 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	30 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	5,0 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	10 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	30 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
<b>DMP</b>	5,1	6,1	4,0	4,5	9,6	2,8	88,2	101	94,4
<b>DEP</b>	5,2	4,2	2,3	5,8	3,5	3,3	81,8	77,7	92,9
<b>DiBP</b>	4,1	2,4	1,9	4,6	2,3	3,9	106	84,6	92,1
<b>DBP</b>	2,4	4,8	2,3	3,7	2,6	2,4	79,6	86,4	94,5
<b>BPA</b>	6,7	2,9	4,5	8,3	8,7	6,2	82,6	107	103
<b>DEHP</b>	8,3	3,9	10,9	6,0	3,7	4,0	113	90,8	81,7

Fonte: Do autor (2017)

Os valores de CVs encontrados variaram entre 1,9% até 10,9%, sendo todos abaixo de 20%, que é descrito como ideal pelos guias de validação. É possível observar que para todos os analitos foram obtidos valores de recuperação satisfatórios, uma vez que se trata de extração simultânea de compostos com características distintas. Foi realizado um estudo de recuperação no chorume bruto e diluído, em dois níveis de concentração (menor e maior concentração), para verificar o efeito de matriz. Os resultados podem ser observados na Tabela 12.

Tabela 12 - Resultados do estudo de recuperação em chorume bruto e diluído.

Analitos	Chorume Bruto		Chorume Diluído	
	5 $\mu\text{g L}^{-1}$	30 $\mu\text{g L}^{-1}$	5 $\mu\text{g L}^{-1}$	30 $\mu\text{g L}^{-1}$
DMP	70	86	76	93
DEP	64	89	78	91
DiBP	67	69	85	92
DBP	67	72	76	88
BPA	53	75	75	100
DEHP	68	62	71	88

Fonte: Do autor (2017)

O uso do chorume diluído para o teste de recuperação justifica-se pelo fato de que é esperado que ocorra um efeito de matriz, por se tratar de uma amostra muito complexa e que contém muitos interferentes que possam interferir na extração. O chorume foi diluído em um fator de diluição igual a 13. Como pode ser observado nos resultados, o efeito de matriz existe e um estudo com adição de padrão pode ser realizado para se estudar com maior profundidade esse efeito.

Outro parâmetro avaliado foi o fator de enriquecimento para as extrações em água e no chorume diluído. Na Tabela 13 estão apresentados os resultados para o FE obtidos.

Tabela 13 - Valores de fator de enriquecimento obtidos em água e em chorume diluído.

Analitos	Água		Chorume	
	5 $\mu\text{g L}^{-1}$	30 $\mu\text{g L}^{-1}$	5 $\mu\text{g L}^{-1}$	30 $\mu\text{g L}^{-1}$
DMP	470	503	407	496
DEP	436	495	416	483
DiBP	567	491	452	490
DBP	425	504	403	467
BPA	441	551	400	531
DEHP	605	436	376	467

Fonte: Do autor (2017)

Embora os valores de FE obtidos para extração em água sejam em sua maior parte superiores aos valores obtidos para extração no chorume, os valores de FE indicaram a eficiência da HF-LPME em pré concentrar os analitos e em tornar o extrato mais limpo para realizar as análises no GC.

O método desenvolvido e validado apresentou bons resultados de linearidade, precisão e recuperação. Também possui valores baixos de LQ, indicando boa detectabilidade e adequação para determinação dos analitos.

### 5.3 Análise das amostras de chorume

Foram analisadas amostras de chorume coletadas em 2015 da célula que armazenava chorume, e amostras de chorume coletadas em março de 2017 em pontos diferentes do aterro controlado da cidade de Divinópolis, conforme mostrado na Figura 11.

O chorume do aterro controlado da cidade de Divinópolis é captado por meio de tubulações e drenado para tanques de coleta de chorume, e como ainda não existe um tratamento para tal, o chorume é drenado e transferido a uma lagoa de chorume. Vale ressaltar que essa lagoa não possui nenhuma estrutura que proteja o meio ambiente ao redor, sendo assim, esses poluentes orgânicos encontrados no chorume podem estar presentes no solo e, conseqüentemente, em águas subterrâneas ao redor da região do aterro.

Figura 11 - Extração do chorume coletado do aterro controlado de Divinópolis utilizando a placa de agitação feita em laboratório.



Fonte: Do autor (2017)

O método otimizado e validado foi aplicado às amostras de chorume, e os resultados estão mostrados na Tabela 14.

Tabela 14 - Resultados das concentrações encontradas dos ftalatos e do BPA em amostras de chorume do aterro controlado de Divinópolis, Minas Gerais.

Amostras	DMP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	DEP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	DiBP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	DBP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	BPA ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	DEHP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Chorume célula antiga coleta em 2015	nd	3,18	nd	nd	13,8	7,09
Chorume célula antiga	nd	nd	nd	nd	379	3,26
Chorume célula nova	nd	nd	nd	nd	nd	5,56
Chorume da lagoa	nd	nd	nd	nd	804	3,62

Legenda: nd = não detectado

Fonte: Do autor (2017)

Por ter o menor ponto de ebulição dentre os ftalatos avaliados, o DMP pode ser emitido para atmosfera como partículas e gases em ambientes similares aos de aterros controlados e através da deposição atmosférica esse ftalato provavelmente contamina o meio ambiente próximo, como solo e águas superficiais (WESCHLER; SALTHAMMER; FROMME, 2008). Esse fato pode justificar o porquê desse analito não ter sido detectado em nenhuma das amostras, ou por estar em concentrações menores ainda do limite de detecção.

Em relação aos demais ftalatos, DEP, DiBP e DBP são de ftalatos com cadeias de carbono pequenas, em comparação com o DEHP. E ftalatos de cadeia carbônica pequena conseguem ser degradados por microorganismos presentes no meio ambiente. E ainda os ftalatos de cadeia carbônica pequena são mais suscetíveis a solubilidade em água (LIU et al., 2010). As taxas de degradação dos ftalatos dependem do tamanho de suas cadeias e das condições do meio em que se encontram. No caso do DEP a biodegradação só ocorre em meios aeróbicos e possui meia vida que varia de 2 dias a 2 semanas, sendo que a biodegradação anaeróbica ocorre mais lentamente ou, dependendo das condições não ocorre (ROSLEV et al., 2007). Segundo alguns estudos realizados por Niazi et al., (2001) existem microorganismos capazes de metabolizar os ftalatos convertendo-os em ácido protocateúico nos mais diversos ambientes como águas naturais, esgotos e solos. Além disso, alguns fatores influenciam na capacidade de biodegradação, como estação do ano e forma de entrada no ambiente. Em complemento, a solubilidade em água influencia na biodisponibilidade, já que uma vez iniciado o processo de biodegradação o DEHP fica mais fácil de solubilizar em água

(NIAZI; KAREGOUDAR, 2001; NIAZI; PRASAD; KAREGOUDAR, 2001). Já no caso do DEHP, esse ftalato consegue ser fortemente adsorvido a sedimentos e pode ser bioconcentrado em organismos aquáticos, estima-se o tempo de meia vida em 3 semanas ou mais dependendo das condições do meio (ROSLEV et al., 2007).

A biodegradação tem desempenhado um papel importante na decomposição dos ftalatos, que podem ser degradados sob várias condições ambientais, podendo ser estimulada com uma temperatura próxima de 37 °C, um pH neutro e alta concentração de nutrientes (LIU et al., 2010), e quanto menor a cadeia de carbono dos ftalatos, mais rápida é a degradação em condições de aterro controlado, o que pode explicar os limites não detectáveis do DMP, DEP, DiBP e DBP. Era esperado encontrar concentrações maiores de ftalatos por se tratar da decomposição de vários materiais que contém esses compostos em suas produções, porém a baixa concentração dos ftalatos pode ser justificada pelo fato de que os mesmos sofrem degradação. No caso do BPA é justamente o oposto, o BPA não é degradado tornando-se bioacumulativo.

Outro fator que implica nos resultados obtidos foram as idades de cada amostra. A célula antiga tem aproximadamente 6 anos, o que implica em um chorume descartado por mais tempo que a célula recente, que possui apenas 1 ano e meio de funcionamento. O chorume mais diversificado é o da lagoa, porque essa lagoa é onde ocorre o despejo de todo chorume coletado do aterro controlado, e possui aproximadamente 15 anos. Nas amostras de chorume da lagoa e da célula antiga é que foram encontrados os valores mais altos do BPA, e por isso foi necessária uma diluição da amostra já que no chorume bruto a concentração de BPA extrapolava a curva de calibração. O fator de diluição realizado foram 13,3 e 40 para as amostras da célula antiga e da lagoa de chorume, respectivamente. Nas amostras de chorume da célula recente do aterro apenas o DEHP foi detectado. Essa célula de armazenagem do aterro controlado tem idade aproximada de um ano e meio, a ausência de concentrações detectáveis dos analitos pode ter relação a idade da célula já que se trata de um chorume considerado “novo” e considera-se que não tenha dado tempo suficiente para sua lixiviação.

Neste trabalho foi possível observar o que já é indicado na literatura, pois em um intervalo de quase 2 anos entre as coletas das amostras de chorume da mesma célula (célula antiga) o DEP degradou a ponto de chegar a um limite não detectável, o DEHP reduziu sua concentração pela metade, e o BPA tem se mostrado um DE persistente. Vale ressaltar, também, que as concentrações encontradas dependem dos RSU que são descartados no aterro controlado e de que antes da adaptação para aterro controlado na área se encontrava o lixão de Divinópolis. Um estudo realizado por Araújo (2015) relata que apenas 15% dos RSU

despejados no aterro controlado são de materiais plásticos, e que 63% dos RSU despejados são de matérias orgânicas putrescíveis (Araújo, 2015). Essa proporção de despejo dos RSU pode auxiliar na degradação dos ftalatos, portanto apesar dos ftalatos terem sido encontrados em concentrações menores do que o esperado não quer dizer que a presença deles não esteja em níveis tóxicos a biota da região, pois diariamente são despejados RSU da cidade.

Em relação aos valores encontrados dos ftalatos no chorume e a legislação brasileira, o CONAMA estipula uma concentração máxima para DEHP em corpos aquáticos de  $8 \mu\text{g L}^{-1}$ , e foram encontradas concentrações abaixo desse limite. O BPA ainda não possui legislação referente ao meio ambiente.

Os valores de concentrações para os analitos encontrados são similares a outros estudos com chorume utilizando outras técnicas de extração (CLARKE et al., 2015; LI et al., 2006; LIU et al., 2010; MORIN; ARP; HALE, 2015; YAO et al., 2008). Entre as substâncias normalmente encontradas em chorume, os ftalatos DMP e DEP aparecem em concentrações mais baixas, pois são ftalatos com solubilidade em água maior devido ao pequeno tamanho de suas cadeias, e o DEHP aparece em concentrações mais elevadas (GAO; WEN, 2016). Mesmo que neste trabalho não tenha sido identificado DMP na amostra, a concentração de DEP foi relativamente a mais baixa, confirmando o que é encontrado na literatura. O DEP tende a ser mais utilizado em tintas, inseticidas, produtos farmacêuticos, adesivos e ceras, produtos que não são descartados em lixos domésticos com tanta frequência quando comparado ao DEHP. Os ftalatos de cadeias menores também são mais facilmente degradados por microorganismos, portanto suas concentrações em limites não detectáveis e/ou baixos são justificados tanto pela sua solubilidade em água quanto pela facilidade de degradação. O DEHP é encontrado nos mais diversos produtos plásticos, que varia de utensílios domésticos a brinquedos, e de embalagens de alimentos até os próprios alimentos contaminados, o que explica a abundância desse composto nos lixos domésticos. Por sua vez, o BPA foi o analito com a concentração mais elevada presente no chorume, o que é compreensível já que o BPA tem efeito acumulativo no meio ambiente.

Morin, Arp e Hale (2015) utilizaram a SPE para determinar BPA em amostras de chorume e análise por GC-MS, as concentrações variaram de  $0,70$  a  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  (MORIN; ARP; HALE, 2015). Essa variação alta de concentração pode ser explicada quando lembramos que o BPA não degrada, ou seja, ele fica acumulando no meio que estiver. Neste trabalho foi possível determinar BPA em concentração acima de  $370 \mu\text{g L}^{-1}$  em amostras de chorume que ficaram armazenadas por 6 anos, e na lagoa de chorume que possui aproximadamente 15 anos as concentrações de BPA encontradas eram na faixa de

aproximadamente  $804 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esses resultados servem de alerta para a contaminação dos corpos aquáticos subterrâneos da região do aterro controlado, bem como a contaminação de águas superficiais tendo em vista que próximo a região do aterro passa o Rio Pará, além de conter pequenas comunidades.

Na literatura é possível encontrar muitos artigos apontando alternativas para tratamento de chorume para minimizar a contaminação de poluentes orgânicos no meio ambiente, tratamentos físicos, químicos e biológicos (DENG; ENGLEHARDT, 2006; GARG; MISHRA, 2010; KADLEC; ZMARTHIE, 2010; RENOUE et al., 2008; SILVA; DEZOTTI; SANT'ANNA, 2004). Porém, a busca por trabalhos que contenham informações sobre determinação desses compostos poluentes orgânicos é bem mais limitada, o que ressalta a importância do desenvolvimento de métodos simples e eficientes para a determinação desses compostos, visto que a determinação de compostos orgânicos poluentes auxiliará no desenvolvimento de trabalhos futuros que tenham o objetivo de eliminar esses poluentes e tratar o chorume, que é um efluente altamente complexo e de difícil tratamento.

Vale ressaltar que as técnicas clássicas utilizadas no preparo de amostras para matrizes ambientais, SPE e LLE, apresentam desvantagens como o alto consumo de solvente orgânico e maior volume de amostra. As técnicas miniaturizadas surgiram para suprir essas desvantagens, proporcionando a diminuição do solvente orgânico e, em alguns casos, a automação da técnica. A microextração em fase líquida apareceu como uma abordagem viável para o preparo de amostra sendo simples e de baixo custo, além de ser ambientalmente amigável. A HF-LPME é uma técnica de preparo de amostra considerada efetiva, de fácil operação e que proporciona altos fatores de enriquecimento, bons resultados de recuperação e seletividade. O descarte da fibra oca após o uso elimina qualquer possibilidade de efeito de memória, e o tamanho dos poros da fibra previne que partículas indesejadas entrem em contato com o solvente, obtendo-se um extrato limpo e que pode ser conduzido ao equipamento analítico sem nenhuma etapa prévia. Além disso, é uma técnica altamente versátil sendo utilizada em praticamente todas as classes de analitos e matrizes, até as matrizes mais complexas como plasma, urina, saliva, leite, águas residuais e superficiais, e efluentes domésticos. Essas vantagens foram atrativas para a escolha dessa técnica para extração dos analitos no chorume, já que o mesmo é uma matriz que contém muitos compostos poluentes que podem vir a interferir na extração.

Pelo fato do chorume ser uma amostra reconhecidamente complexa, para ser analisada por GC-MS, o método desenvolvido neste trabalho se mostrou simples, eficaz e com a vantagem de não ser necessário nenhum passo para tratamento da amostra, sendo possível

realizar a extração em chorume bruto; sem filtração para retirada de particulados. A técnica de HF-LPME se mostrou eficiente para extração de DEs em chorume, em relação a pequena literatura apresentada para identificação de DEs em matrizes ambientais complexas. A principal justificativa da pouca literatura sobre o tema se deve à complexidade da amostra. A técnica mais utilizada para esse tipo de amostra é a SPE, porém essa técnica demanda um consumo elevado de solvente, tempo e, algumas vezes, uma etapa antecedendo a extração para eliminação de resíduos sólidos que possam interferir na extração.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O método desenvolvido, e utilizado, abre caminhos para novos trabalhos. Como a HF-LPME é uma técnica versátil, ela pode ser usada para fins como determinação de outros compostos orgânicos poluentes no chorume, ou em outras matrizes ambientais. A HF-LPME tem sido muito empregada em determinações das mais diversas classes de compostos em matrizes biológicas, que também são matrizes complexas que normalmente exigem um preparo prévio mais longo e trabalhoso.

Como a validação foi realizada em água, o método proposto pode ser utilizado para determinações de outros poluentes em águas naturais, efluentes e esgotos. A técnica permite um amplo uso para matrizes que são consideradas complexas, e por ser de menor custo e prática em seu manuseio, pode ser utilizada em matrizes mais simples.

## 7 CONCLUSÕES

O método desenvolvido e validado se mostrou eficiente para identificação e quantificação de compostos como os ftalatos e o BPA na amostra de chorume do aterro controlado da cidade de Divinópolis, Minas Gerais.

O método de extração por HF-LPME se mostrou adequado na recuperação simultânea dos analitos estudados no presente trabalho. A HF-LPME também se mostrou eficiente na pré concentração dos analitos, o que foi evidenciado através dos cálculos dos fatores de enriquecimento.

Além disso, a técnica utilizada para extração gerou um volume de resíduo menor que os produzidos com o uso das técnicas tradicionais, sendo ambientalmente favorável.

Os LD e LQ ficaram de acordo com outros trabalhos encontrados na literatura. O LQ mais alto foi  $2,40 \mu\text{g L}^{-1}$  para DEHP, que é o ftalato mais abundante no meio ambiente, podendo ser encontrado até mesmo no ar.

A análise por GC-MS se apresentou como um método adequado e extremamente eficiente devido à seletividade e detectabilidade para os compostos estudados, permitindo a identificação do dietilftalato, bis-(2-etilhexil) ftalato e do bisfenol A na amostra de chorume.

O BPA foi o analito com maior concentração ( $804 \mu\text{g L}^{-1}$ ) encontrada na amostra da lagoa de chorume, o que se dá principalmente em virtude da não degradação desse composto no meio ambiente e a grande presença dele em resíduos de embalagens, objetos plásticos e demais produtos que possuam essa substância na sua composição, descartados no aterro.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL DAIEM, M. M. et al. Environmental impact of phthalic acid esters and their removal from water and sediments by different technologies - A review. **Journal of Environmental Management**, v. 109, p. 164–178, 2012.

ABRELPE. **Panorama dos Resíduos Sólidos no Brasil - 2014**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.abrelpe.org.br/>>.

AL-NATSHEH, M. et al. Simultaneous GC-MS determination of eight phthalates in total and migrated portions of plasticized polymeric toys and childcare articles. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 985, p. 103–109, 2015.

ANVISA. Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Lista Positiva de Aditivos para Materiais Plásticos destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos. **Diário Oficial Da União**, p. 1–49, 2008.

ANVISA, A. N. D. V. S. Monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros plásticos em contato com alimentos. **Resolução da Diretoria Colegiada**, v. RDC nº 56, n. D, 2012.

ASCHBERGER, K. et al. **European Union Risk Assessment Report - BPA (4,4' – Isopropylidenediphenol (Bisphenol – A))**. [s.l.: s.n.].

ASENSIO-RAMOS, M. et al. Liquid phase microextraction applications in food analysis. **Journal of chromatography. A**, v. 1218, n. 42, p. 7415–37, 21 out. 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 8419 - Apresentação de projetos de aterros sanitários de resíduos sólidos urbanos. **Abnt.**, p. 1–7, 1996.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 10004 - Classificação de resíduos sólidos. **Abnt.**, 2004.

AZZOUZ, A.; BALLESTEROS, E. Trace analysis of endocrine disrupting compounds in environmental water samples by use of solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometry detection. **Journal of chromatography. A**, v. 1360, p. 248–57, 19 set. 2014.

BAUN, A. et al. Xenobiotic organic compounds in leachates from ten Danish MSW landfills - Chemical analysis and toxicity tests. **Water Research**, v. 38, n. 18, p. 3845–3858, 2004.

BECKER, R. W. Determinação de anti-inflamatórios em efluente urbano na região de Porto Alegre-RS por SPE, derivatização e GC-MS. [s.l.: s.n.].

BERKNER, S.; STRECK, G.; HERRMANN, R. Development and validation of a method for determination of trace levels of alkylphenols and bisphenol A in atmospheric samples. **Chemosphere**, v. 54, n. 4, p. 575–584, 2004.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 965–977, 2008.

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

BJORKKLUND, K. et al. Phthalates and nonylphenols in urban runoff: Occurrence, distribution and area emission factors. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 16, p. 4665–4672, 2009.

BOONYAROJ, V. et al. Toxic organic micro-pollutants removal mechanisms in long-term operated membrane bioreactor treating municipal solid waste leachate. **Bioresource Technology**, v. 113, p. 174–180, 2012.

BRASIL. Resolução CONAMA n.420. v. 2013, p. 20, 2009.

BRASIL. **Lei 12.305 - PNRS**. [s.l: s.n.].

BUI, T. T. et al. Human exposure, hazard and risk of alternative plasticizers to phthalate esters. **Science of the Total Environment**, v. 541, p. 451–467, 2016.

CHANG, Y.-J.; LIN, K.-L.; CHANG, Y.-Z. Determination of Di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human hair using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry**, v. 420, p. 155–9, 2013.

CHEN, B. et al. Hollow fiber liquid-liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography-ultraviolet detection for the determination of various environmental estrogens in environmental and biological samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1305, p. 17–26, 2013.

CLADIÈRE, M. et al. Alkylphenolic compounds and bisphenol A contamination within a heavily urbanized area: Case study of Paris. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 5, p. 2973–2983, 2013.

CLARA, M. et al. Occurrence of phthalates in surface runoff, untreated and treated wastewater and fate during wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 78, n. 9, p. 1078–1084, 2010.

CLARKE, B. O. et al. Investigating landfill leachate as a source of trace organic pollutants. **Chemosphere**, v. 127, p. 269–275, 2015.

CUNHA, S. C.; PENA, A.; FERNANDES, J. O. Dispersive liquid-liquid microextraction followed by microwave-assisted silylation and gas chromatography-mass spectrometry analysis for simultaneous trace quantification of bisphenol A and 13 ultraviolet filters in wastewaters. **Journal of Chromatography A**, v. 1414, p. 10–21, 2015.

DE OLIVEIRA, A. R. M. et al. Microextração em fase líquida (LPME): Fundamentos da técnica e aplicações na análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 637–644, 2008.

DEBRUS, B. et al. Application of new methodologies based on design of experiments, independent component analysis and design space for robust optimization in liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 691, n. 1-2, p. 33–42, 2011.

DECEUNINCK, Y. et al. Development and validation of a specific and sensitive gas chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of bisphenol A residues in a large set of food items. **Journal of Chromatography A**, v. 1362, p. 241–249, out. 2014.

DENG, Y.; ENGLEHARDT, J. D. Treatment of landfill leachate by the Fenton process. **Water Research**, v. 40, n. 20, p. 3683–3694, 2006.

DESHMUKH, D. K. et al. Characterization of dicarboxylates and inorganic Ions in Urban PM10 aerosols in the Eastern Central India. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 12, n. 4, p. 592–607, 2012.

EL-FADEL, M. et al. Temporal variation of leachate quality from pre-sorted and baled municipal solid waste with high organic and moisture content. **Waste Management**, v. 22, n. 3, p. 269–282, 2002.

FANG, C. R.; LONG, Y. Y.; SHEN, D. S. Comparison on the removal of phthalic acid diesters in a bioreactor landfill and a conventional landfill. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5664–5670, 2009.

FERREIRA, S. L. C. et al. Doehlert matrix: A chemometric tool for analytical chemistry - Review. **Talanta**, v. 63, n. 4, p. 1061–1067, 2004.

FILHO, R. W. R.; LUVIZOTTO-SANTOS, R.; VIEIRA, E. M. Poluentes Emergentes como Desreguladores Endócrinos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 2, n. 3, p. 283–288, 2007.

FLINT, S. et al. Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective. **Journal of Environmental Management**, v. 104, p. 19–34, 2012.

FROMME, H. et al. Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. **Water Research**, v. 36, n. 6, p. 1429–1438, 2002.

FU, P.; KAWAMURA, K. Ubiquity of bisphenol A in the atmosphere. **Environmental Pollution**, v. 158, n. 10, p. 3138–3143, 2010.

GAO, D. W.; WEN, Z. D. Phthalate esters in the environment: A critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes. **Science of the Total Environment**, v. 541, p. 986–1001, 2016.

GARCÍA-MAYOR, R. V. et al. Endocrine disruptors and obesity: Obesogens. **Endocrinología y Nutrición (English Edition)**, v. 59, n. 4, p. 261–267, 2012.

GARG, A.; MISHRA, A. Wet oxidation-an option for enhancing biodegradability of leachate derived from municipal solid waste (msw) landfill. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 12, p. 5575–5582, 2010.

GEENS, T. et al. Assessment of human exposure to Bisphenol-A, Triclosan and Tetrabromobisphenol-A through indoor dust intake in Belgium. **Chemosphere**, v. 76, n. 6, p. 755–760, 2009.

GHAMBARIAN, M.; YAMINI, Y.; ESRAFILI, A. Developments in hollow fiber based liquid-phase microextraction: Principles and applications. **Microchimica Acta**, v. 177, n. 3-4, p. 271–294, 2012.

GIBSON, R. et al. Analysis of 4-nonylphenols, phthalates, and polychlorinated biphenyls in soils and biosolids. **Chemosphere**, v. 61, n. 9, p. 1336–1344, 2005.

GIMENO, P. et al. Identification and quantification of 14 phthalates and 5 non-phthalate plasticizers in PVC medical devices by GC-MS. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 949-950, p. 99–108, 2014.

GONG, J. et al. Occurrence and environmental risk of endocrine-disrupting chemicals in surface waters of the Pearl River, South China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 156, n. 1-4, p. 199–210, 2009.

GORE, A.C. CREWS, D. DOAN, L.L. LA MERRILL, M. PATISAUL, H. ZOTA, A. E. A. **Introduction to Endocrine disrupting Chemicals (EDCs)-A Guide for Public interest Organizations and Policy-makers. Endocrine Society.** [s.l: s.n.].

GUIMARÃES, J. Disruptores endócrinos no meio ambiente: um problema de saúde pública e ocupacional. **ACPO - Associação de Consciência à Prevenção Ocupacional**, p. 1–13, 2005.

HARTHE, C. et al. Unconjugated bisphenol A cord blood levels in boys with descended or undescended testes. **Human Reproduction**, v. 27, n. 4, p. 983–990, 2012.

HESS, S. C. Interferentes Hormonais no Ambiente: Um Risco à Saúde Pública. **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v. 7, n. 3, p. 311–329, 2010.

INMETRO. Portaria n.º 369, de 27 de setembro de 2007. p. 2–4, 2007.

INOUE, K. et al. Determination of bisphenol A in human serum by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical detection. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 749, n. 1, p. 17–23, 2000.

JANCIC-STOJANOVIC, B. et al. Chemometrical evaluation of ropinirole and its impurity's chromatographic behavior. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 8, p. 1263–1269, 2009.

JIANG, Y. et al. Determination of Endocrine Disruptors in Environmental Water by Single-Drop Microextraction and High-Performance Liquid Chromatography. **Analytical Letters**, v. 48, n. 4, p. 710–725, 31 dez. 2014.

JONSSON, S. et al. Mono- and diesters from o-phthalic acid in leachates from different European landfills. **Water Research**, v. 37, n. 3, p. 609–617, 2003.

KABIR, E. R.; RAHMAN, M. S.; RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 40, n. 1, p. 241–258, 2015.

KADLEC, R. H.; ZMARTHIE, L. A. Wetland treatment of leachate from a closed landfill. **Ecological Engineering**, v. 36, n. 7, p. 946–957, 2010.

KANDA, R.; GLENDINNING, R. Mass spectrometry for environmental and wastewater monitoring. **Spectroscopyeurope**, v. 23, n. 5, p. 14–27, 2011.

KAWAGOSHI, Y. et al. Estrogenic chemicals and estrogenic activity in leachate from municipal waste landfill determined by yeast two-hybrid assay. **Journal of environmental monitoring : JEM**, v. 5, n. 2, p. 269–74, 2003.

KAWAGUCHI, M. et al. Miniaturized hollow fiber assisted liquid-phase microextraction with in situ derivatization and gas chromatography-mass spectrometry for analysis of bisphenol A in human urine sample. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 870, n. 1, p. 98–102, 2008.

KHEDR, A. Optimized extraction method for LC-MS determination of bisphenol A, melamine and di(2-ethylhexyl) phthalate in selected soft drinks, syringes, and milk powder. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 930, p. 98–103, 2013.

KJELDSEN, P. et al. Present and Long-Term Composition of MSW Landfill Leachate: A Review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 32, n. 4, p. 297–336, 2002.

KOKOSA, J. M. Advances in solvent-microextraction techniques. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 2–13, 2013.

KONG, S. et al. Diversities of phthalate esters in suburban agricultural soils and wasteland soil appeared with urbanization in China. **Environmental Pollution**, v. 170, p. 161–168, 2012.

KONG, S. et al. Spatial and temporal variation of phthalic acid esters (PAEs) in atmospheric PM10 and PM2.5 and the influence of ambient temperature in Tianjin, China. **Atmospheric Environment**, v. 74, p. 199–208, 2013.

KOZLOWSKA-TYLINGO, K.; NAMIEŚNIK, J.; GÓRECKI, T. Determination of Estrogenic Endocrine Disruptors in Environmental Samples—A Review of Chromatographic Methods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 40, n. 3, p. 194–201, 2010.

LAI, B. W. et al. Combination of liquid-phase hollow fiber membrane microextraction with gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry for the determination of dichlorophenol isomers in water and urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 576, n. 1, p. 61–66, 2006.

LEE, C. C. et al. The potential role of water quality parameters on occurrence of nonylphenol and bisphenol A and identification of their discharge sources in the river ecosystems. **Chemosphere**, v. 91, n. 7, p. 904–911, 2013.

LEE, J. et al. Environmental and bioanalytical applications of hollow fiber membrane liquid-phase microextraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 624, n. 2, p. 253–268, 2008.

LETSEKA, T.; GEORGE, M. J. Towards coupling dispersive liquid-liquid microextraction with hollow fibre liquid phase microextraction for extraction of organic pollutants of agricultural origin. **Analytical Chemistry Research**, v. 10, p. 28–32, 2016.

LI, P.; HU, B. Sensitive determination of phenylarsenic compounds based on a dual preconcentration method with capillary electrophoresis/UV detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 29, p. 4779–4787, 2011.

LI, X. et al. Determination of Bisphenol A in Landfill Leachate by Solid Phase Microextraction with Headspace Derivatization and Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 34, n. 3, p. 325–328, 2006.

LIMAM, I. et al. Evaluation of biodegradability of phenol and bisphenol A during mesophilic and thermophilic municipal solid waste anaerobic digestion using <sup>13</sup>C-labeled contaminants. **Chemosphere**, v. 90, n. 2, p. 512–520, 2013.

LIU, H. et al. Impact of MSW landfill on the environmental contamination of phthalate esters. **Waste Management**, v. 30, n. 8-9, p. 1569–1576, 2010.

LOCATELLI, M. et al. Analytical methods for the endocrine disruptor compounds determination in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1434, p. 1–18, 2016.

LOGANATHAN, S. N.; KANNAN, K. Occurrence of bisphenol a in indoor dust from two locations in the Eastern United States and implications for human exposures. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 61, n. 1, p. 68–73, 2011.

LOPES, V. S. A. et al. Development of a solid-phase extraction system modified for preconcentration of emerging contaminants in large sample volumes from rivers of the lagoon system in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 110, n. 1, p. 572–577, 2016.

LÓPEZ-GARCÍA, I.; RIVAS, R. E.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Hollow fiber based liquid-phase microextraction for the determination of mercury traces in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 743, p. 69–74, 2012.

LOPEZ-NOGUEROLES, M. et al. A rapid and sensitive gas chromatography-mass spectrometry method for the quality control of perfumers: simultaneous determination of phthalates. **Anal. Methods**, v. 5, p. 409–415, 2013.

MAGNUSSON, O. **Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics**, [s.l: s.n.].

MARIANA, M. et al. The effects of phthalates in the cardiovascular and reproductive systems: A review. **Environment International**, v. 94, p. 758–776, 2016.

MATSUMOTO, H.; ADACHI, S.; SUZUKI, Y. Bisphenol A in ambient air particulates responsible for the proliferation of MCF-7 human breast cancer cells and its concentration

changes over 6 months. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 48, n. 4, p. 459–466, 2005.

MEEKER, J. D.; SATHYANARAYANA, S.; SWAN, S. H. Phthalates and other additives in plastics: human exposure and associated health outcomes. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 2097–2113, 2009.

MERIB, J.; CARASEK, E. Microextração em fase líquida suportada com fibra oca ( HF-LPME ): Fundamentos e aplicações recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 4, p. 249–262, 2013.

MICHAŁOWICZ, J. Bisphenol A - Sources, toxicity and biotransformation. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 37, n. 2, p. 738–758, 2014.

MOREDA-PIÑEIRO, J.; MOREDA-PIÑEIRO, A. Recent advances in combining microextraction techniques for sample pre-treatment. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 265–274, 2015.

MORIN, N.; ARP, H. P. H.; HALE, S. E. Bisphenol A in Solid Waste Materials, Leachate Water, and Air Particles from Norwegian Waste-Handling Facilities: Presence and Partitioning Behavior. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 13, p. 7675–7683, 2015.

MOUSA, A.; BASHEER, C.; RAHMAN AL-ARFAJ, A. Determination of phthalate esters in bottled water using dispersive liquid-liquid microextraction coupled with GC-MS. **Journal of Separation Science**, v. 36, n. 12, p. 2003–2009, 2013.

MTIBE, A. et al. Determination of phthalate ester plasticizers in the aquatic environment using hollow fibre supported liquid membranes. **Physics and Chemistry of the Earth**, v. 50-52, p. 239–242, 2012.

NET, S. et al. Case study of PAHs, Me-PAHs, PCBs, phthalates and pesticides contamination in the Somme River water, France. **International Journal of Environmental Research**, v. 8, n. 4, p. 1159–1170, 2014.

NET, S. et al. Reliable quantification of phthalates in environmental matrices (air, water, sludge, sediment and soil): A review. **Science of the Total Environment**, v. 515-516, p. 162–180, 2015.

NIAZI, J. H.; KAREGOUDAR, T. B. DEGRADATION OF DIMETHYLPHTHALATE BY CELLS OF *BACILLUS* SP. IMMOBILIZED IN CALCIUM ALGINATE AND POLYURETHANE FOAM. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 36, n. 6, p. 1135–1144, 2001.

NIAZI, J. H.; PRASAD, D. T.; KAREGOUDAR, T. B. Initial degradation of dimethylphthalate by esterases from *Bacillus* species. **FEMS Microbiology Letters**, v. 196, n. 2, p. 201–205, 2001.

ORECCHIO, S.; INDELICATO, R.; BARRECA, S. Determination of selected phthalates by gas chromatography-mass spectrometry in mural paintings from Palermo (Italy). **Microchemical Journal**, v. 114, p. 187–191, 2014.

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1184, n. 1-2, p. 132–142, 2008.

PENG, J. F. et al. Direct determination of chlorophenols in environmental water samples by hollow fiber supported ionic liquid membrane extraction coupled with high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1139, n. 2, p. 165–170, 2007.

PÉREZ-FEÁS, C.; BARCIELA-ALONSO, M. C.; BERMEJO-BARRERA, P. Presence of phthalates in contact lens and cleaning solutions. **Microchemical Journal**, v. 99, n. 1, p. 108–113, 2011.

PLANELLÓ, R. et al. Comparative effects of butyl benzyl phthalate (BBP) and di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the aquatic larvae of *Chironomus riparius* based on gene expression assays related to the endocrine system, the stress response and ribosomes. **Aquatic Toxicology**, v. 105, n. 1-2, p. 62–70, 2011.

PROTECTION AGENCY ENVIRONMENTAL, U. S. **Bisphenol A Action Plan**. Disponível em: <[www.Cmaq-Model.Org](http://www.Cmaq-Model.Org)>.

PSILLAKIS, E.; KALOGERAKIS, N. Developments in single-drop microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 1, p. 53–63, 2002.

PSILLAKIS, E.; KALOGERAKIS, N. Developments in liquid-phase microextraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 9, p. 565–574, 2003a.

PSILLAKIS, E.; KALOGERAKIS, N. Hollow-fibre liquid-phase microextraction of phthalate esters from water. **Journal of Chromatography A**, v. 999, n. 1-2, p. 145–153, 2003b.

QURESHI, M. S. et al. Methods for the Determination of Endocrine-Disrupting Phthalate Esters. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 146–159, 2016.

RAMÍREZ-SOSA, D. R. et al. Determination of organic compounds in landfill leachates treated by Fenton-Adsorption. **Waste Management**, v. 33, n. 2, p. 390–395, 2013.

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

RAMOS PAYÁN, M. et al. Hollow fiber-based liquid phase microextraction (HF-LPME) for a highly sensitive HPLC determination of sulfonamides and their main metabolites. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 879, n. 2, p. 197–204, 2011a.

RAMOS PAYÁN, M. et al. Hollow fiber-based liquid phase microextraction (HF-LPME) as a new approach for the HPLC determination of fluoroquinolones in biological and

environmental matrices. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 2, p. 332–341, 2011b.

RASMUSSEN, K. E.; PEDERSEN-BJERGAARD, S. Developments in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, n. 1, p. 1–10, 2004.

RENOU, S. et al. Landfill leachate treatment: Review and opportunity. **Journal of Hazardous Materials**, v. 150, n. 3, p. 468–493, 2008.

ROCHA, S. et al. Occurrence of bisphenol A, estrone, 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\beta$ -ethinyloestradiol in Portuguese rivers. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 90, n. 1, p. 73–78, 2013.

ROCHESTER, J. R. Bisphenol A and human health: A review of the literature. **Reproductive Toxicology**, v. 42, p. 132–155, 2013.

ROSLEV, P. et al. Degradation of phthalate esters in an activated sludge wastewater treatment plant. **Water Research**, v. 41, n. 5, p. 969–976, 2007.

SAGRISTÀ, E. et al. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in sewage sludge by direct hollow fiber supported liquid membrane extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 40, p. 6153–6158, 2010.

SALEH, A. et al. Hollow fiber liquid phase microextraction as a preconcentration and clean-up step after pressurized hot water extraction for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in sewage sludge. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 10, p. 1331–1339, 2011.

SAN ROMÁN, I. et al. Hollow fibre-based liquid-phase microextraction technique combined with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of pyrethroid insecticides in water samples. **Talanta**, v. 100, p. 246–253, 2012.

SÁNCHEZ-AVILA, J. et al. Determination and occurrence of phthalates, alkylphenols, bisphenol A, PBDEs, PCBs and PAHs in an industrial sewage grid discharging to a Municipal Wastewater Treatment Plant. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 13, p. 4157–4167, 2009.

SCHETTLER, T. et al. Human exposure to phthalates via consumer products. **International Journal of Andrology**, v. 29, n. 1, p. 134–139, 2006.

SELVARAJ, K. K. et al. Phthalate esters in water and sediments of the Kaveri River, India: environmental levels and ecotoxicological evaluations. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 37, n. 1, p. 83–96, 2014.

SHAO, B. et al. Analysis of alkylphenol and bisphenol A in meat by accelerated solvent extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1236–1241, 2007.

SHARIFI, V.; ABBASI, A.; NOSRATI, A. Application of hollow fiber liquid phase microextraction and dispersive liquid-liquid microextraction techniques in analytical toxicology. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, n. 2, p. 264–276, 2016.

SILVA, A. C.; DEZOTTI, M.; SANT'ANNA, G. L. Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate. **Chemosphere**, v. 55, n. 2, p. 207–214, 2004.

SODRÉ, F. F. et al. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian surface waters by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 92–98, 2010.

SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Occurrence of emerging contaminants in Brazilian drinking waters: A sewage-to-tap issue. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 206, n. 1-4, p. 57–67, 2010.

SPIETELUN, A. et al. Green aspects, developments and perspectives of liquid phase microextraction techniques. **Talanta**, v. 119, p. 34–45, 2014.

STACHEL, B. et al. Xenoestrogens in the River Elbe and its tributaries. **Environmental Pollution [Environ. Pollut.]**, v. 124, n. 3, p. 497–507, 2003.

STAPLES, C. A et al. A review of the environmental fate, effects, and exposures of Bisphenol A. **Chemosphere**, v. 36, n. 10, p. 2149–2173, 1998.

SUN, M. et al. Graphene reinforced hollow fiber liquid-phase microextraction for the determination of phthalates in water, juice and milk samples by HPLC. **Analytical Methods**, v. 5, n. 20, p. 5694–5700, 2013.

SUNGUR, Ş.; KOROĞLU, M.; ÖZKAN, A. Determination of bisphenol a migrating from canned food and beverages in markets. **Food Chemistry**, v. 142, p. 87–91, 2014.

TAN, X.-W. et al. Determination of Trace Bisphenol A in Water Using Three-phase Hollow Fiber Liquid-phase Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 40, n. 9, p. 1409–1414, 2012.

TAO, Y. et al. Hollow fiber supported ionic liquid membrane microextraction for determination of sulfonamides in environmental water samples by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 35, p. 6259–6266, 2009.

TEÓFILO, R. F. QUIMIOMETRIA II: PLANILHAS ELETRÔNICAS PARA CÁLCULOS DE PLANEJAMENTOS EXPERIMENTAIS, UM TUTORIAL Reinaldo F. Teófilo e Márcia M. C. Ferreira\*. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

TERA AMBIENTAL. **Destinação e Tratamento do Chorume** Tera Ambiental, , 2014. (Nota técnica).

TÜMAY ÖZER, E.; GÜER, E. Determination of di(2-ethylhexyl) phthalate migration from toys into artificial sweat by gas chromatography mass spectrometry after activated carbon enrichment. **Polymer Testing**, v. 31, n. 3, p. 474–480, 2012.

UPSON, K. et al. Phthalates and risk of endometriosis. **Environmental Research**, v. 126, p. 91–97, 2013.

WANG, J. et al. Science of the Total Environment Occurrence of phthalate esters in river sediments in areas with different land use patterns. **Science of the Total Environment**, v. 500-501, p. 113–119, 2014.

WANG, J. et al. Method development for the analysis of phthalate esters in tea beverages by ionic liquid hollow fibre liquid-phase microextraction and liquid chromatographic detection. **Food Control**, v. 67, p. 278–284, 2016.

WANG, P.; WANG, S. L.; FAN, C. Q. Atmospheric distribution of particulate- and gas-phase phthalic esters (PAEs) in a Metropolitan City, Nanjing, East China. **Chemosphere**, v. 72, n. 10, p. 1567–1572, 2008.

WESCHLER, C. J.; SALTHAMMER, T.; FROMME, H. Partitioning of phthalates among the gas phase, airborne particles and settled dust in indoor environments. **Atmospheric Environment**, v. 42, n. 7, p. 1449–1460, 2008.

WOOTEN, K. J.; SMITH, P. N. Canine toys and training devices as sources of exposure to phthalates and bisphenol A: Quantitation of chemicals in leachate and in vitro screening for endocrine activity. **Chemosphere**, v. 93, n. 10, p. 2245–2253, 2013.

XU, L.; BASHEER, C.; LEE, H. K. Developments in single-drop microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1152, n. 1-2, p. 184–192, 2007.

YAMINI, Y.; ESRAFILI, A.; GHAMBARIAN, M. Online Injection-Based Hollow Fiber Liquid-Phase Microextraction–High-Performance Liquid Chromatography as a Fully Automatic Sample Processing for Phthalate Esters Analysis. **Food Analytical Methods**, v. 9, n. 3, p. 729–737, 2016.

YAO, J. et al. A novel liquid-phase microextraction method combined with high performance liquid chromatography for analysis of phthalate esters in landfill leachates. **Analytica Chimica Acta**, v. 616, n. 1, p. 42–48, 2008.

YOU, L. et al. Investigation of pharmaceuticals, personal care products and endocrine disrupting chemicals in a tropical urban catchment and the influence of environmental factors. **Science of the Total Environment**, v. 536, p. 955–963, 2015.

ZHANG, C.; WANG, Y. Removal of dissolved organic matter and phthalic acid esters from landfill leachate through a complexation-flocculation process. **Waste Management**, v. 29, n. 1, p. 110–116, 2009.

ZHANG, L. et al. Phthalate esters (PAEs) in indoor PM10/PM2.5 and human exposure to PAEs via inhalation of indoor air in Tianjin, China. **Atmospheric Environment**, v. 85, p. 139–146, 2014.

ZHAO, H. Y. et al. The effects of bisphenol A (BPA) exposure on fat mass and serum leptin concentrations have no impact on bone mineral densities in non-obese premenopausal women. **Clinical Biochemistry**, v. 45, n. 18, p. 1602–1606, 2012.

ZHAO, L.; LEE, H. K. Liquid-phase microextraction combined with hollow fiber as a sample preparation technique prior to gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 11, p. 2486–2492, 2002.

ZHOU, J. et al. Application of two-phase hollow fiber liquid phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography for the study of the echinacoside pharmacokinetics in parkinson's disease rat plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 81-82, p. 27–33, 2013.

ZHU, Z.; ZUO, Y. Bisphenol A and other alkylphenols in the environment - occurrence, fate, health effects and analytical techniques. **Advances in environmental research**, v. 2, n. 3, p. 179–202, 2013.

ZOU, Y. et al. Hollow-fiber-supported liquid-phase microextraction using an ionic liquid as the extractant for the pre-concentration of bisphenol A, 17- $\beta$ -estradiol, estrone and diethylstilbestrol from water samples with HPLC detection. **Water Science and Technology**, v. 69, n. 5, p. 1028–1035, 2014.