

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO DE ANTI-INFLAMATÓRIOS EM EFLUENTE  
URBANO NA REGIÃO DE PORTO ALEGRE-RS POR  
SPE, DERIVATIZAÇÃO E GC-MS**

Raquel Wielens Becker

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do título de Mestre em Química.

Porto Alegre, 2012.

O presente trabalho foi realizado entre abril de 2010 e março de 2012, no Laboratório de Química Analítica e Ambiental do Instituto de Química da UFRGS, sob orientação da Professora Doutora Tânia Mara Pizzolato e co-orientação da Professora Doutora Maria do Carmo Ruaro Peralba.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tânia Mara Pizzolato

Coordenador da Pós-Graduação:

Prof. Dr. Osvaldo Casagrande

*Aos meus pais,  
por sempre me fazer acreditar na realização dos meus sonhos,  
por trabalhar muito para que eu pudesse realizá-los,  
mas principalmente, pelo amor imensurável em todos os momentos de minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Desenvolver o projeto e escrever esta dissertação foi, sem a menor dúvida, a coisa mais difícil que já fiz e acredito que devo os agradecimentos mais sinceros a quem quer que tenha dado alguma colaboração para que eu a tenha terminado e mantido, ainda que um mínimo de minha sanidade. Então vejamos...

Gostaria de agradecer à UFRGS e à Capes, por viabilizarem a realização deste curso de Mestrado em Química.

Aos professores Otávio Maldaner, Lenir Zanon, Marli Frison, a grande amiga Laís Basso Costa Beber e todos aqueles que plantaram em mim as primeiras ideias em seguir o caminho da pós-graduação, por me incentivarem, me auxiliarem e me motivarem, eis aqui o resultado... Obrigada!

A Professora Tânia Mara Pizzolato, por ter me acolhido em seu laboratório, por ter acreditado em mim... Fostes a melhor orientadora que eu poderia imaginar, me mostrou “um mundo fantástico” e fez eu me apaixonar por este mundo. Obrigada por cada ensinamento, por cada conselho, pela amizade, pela paciência, enfim, por contribuir significativamente no meu crescimento profissional *E* pessoal nesses meses de convivência.

Obrigada a todos os professores que compartilharam um pouco de seu conhecimento fazendo com que o meu crescimento fosse possível. Em especial, a Professora Maria do Carmo, pela orientação e por todos os ensinamentos e, também, ao Professor Marco Ferrão pela contribuição nesse trabalho e pela paciência nas explicações sobre o *Planejamento Doehlert...*

A vida de mestrando é corrida e mais complexa do que às vezes imaginávamos, mas... “alguém aqui te disse que seria fácil???”. Em momentos de dúvida, de angústia, de estudo, unimos forças com marujos do mesmo barco... Forças que vão muito além do mestrado, são laços de amizade, de respeito, de muito carinho... Formamos uma família de coração... Por isso, meu muito obrigada à minha “siamesa” Tauane, pela amizade, apoio, pelas conversas e, porque não pelas festas (tão importantes em alguns momentos) e por sempre estar disposta a ajudar onde quer que esteja! Meu agradecimento muito especial também, ao Alex, pela amizade, pelas longas horas de conversas, pelos conselhos, pelos risos, por tantas vezes ser a “pessoa inteligente do grupo”, pelo auxílio na rotina mensal de coletas de amostras, meu Muito Obrigada! O “trio parada dura” será eterno!!!

Aos colegas e amigos, Wiliam, Carol, Gi, Livia, Guzzato, por tornarem a rotina no Vale (e também fora do Vale) mais divertida!!

Aos meus amigos e colegas de laboratório que passaram ou ainda se encontram no D-107 (setE), Carla, Nelson, Flávia, Cibele, Eduardo, Louise, Rodrigo e João, por dividirem sua rotina comigo, pelo auxílio nos momentos de correria, pelos bons momentos vivenciados... E, também, ao amigo e colega adotivo que, também me “aguenta” Mauro, pela parceria na “hora sagrada” do chima, do chocolate e também da bagunça...Obrigada!

À minha amiga e “família” Anne, pela convivência diária, pelo carinho, pela amizade, e pela grande parceria nos tantos momentos de... “Eu to quereendo Viver!!!” Obrigada!

À todos os meus familiares e amigos que, mesmo distante, sempre me deram apoio, carinho e amor! Em especial aos meus avós Lori e Albino e a minha Oma Iracema, Amo vocês!

Não existem palavras que sejam suficientes para descrever a minha gratidão aos meus pais, Rosane e Erno! Obrigada Mãe, pelo colo, por me acompanhar sempre, mesmo que de longe, por me escutar, conversar, ajudar, aconselhar... Obrigada Pai, por cada abraço, pelas palavras sábias, por tantos cafunés, por sempre estar ao meu lado, onde quer que eu esteja... Vocês são meus heróis, meus exemplos de vida, de caráter, obrigada por sempre torcerem por mim, vibrarem comigo em cada vitória, me ampararem em cada fracasso, por compreenderem a minha ausência. Obrigada pelo amor e pelo carinho que sempre posso encontrar em vocês... Eu Amo MUITO Vocês!

À minha irmã Nathalia, por simplesmente fazer a minha vida mais feliz! Por ser o meu tesouro, a minha Princesa! A mana ama você do tamanho do infinito!!!

Ao Marcelo, por ser meu parceiro nesse momento turbulento, pela paciência, pelo carinho, pelo ombro para eu desabafar, pelas palavras certas para me acalmar e me manter focada no meu objetivo. Pelas tardes de sábado no Vale, pela ajuda, pelas discussões sobre reações e reagente... Por se tornar um pouco “cientista maluco” junto comigo, Muito Obrigada!

A todos aqueles que não foram citados, mas que contribuíram de uma forma ou outra para que esse trabalho fosse possível, meu Muito Obrigado!

Mas principalmente, Obrigada ao Papai do Céu, por colocar todas essas pessoas na minha vida e, por permitir que eu chegasse aqui...

## SUMÁRIO

1.	Introdução.....	1
2.	Objetivos .....	3
2.1	Objetivo Geral .....	3
2.2	Objetivos Específicos .....	3
3.	Revisão Bibliográfica.....	4
3.1	Contaminantes Emergentes .....	4
3.2	Os Fármacos .....	5
3.3	Os Fármacos: Riscos ao Meio Ambiente e a Legislação .....	10
3.4	Anti-Inflamatórios Não Esteróides (AINEs).....	13
3.4.1	Anti-Inflamatórios Não Esteroides (AINEs).....	13
3.4.2	Efeitos Terapêuticos dos AINEs .....	16
3.4.3	Efeitos Colaterais .....	17
3.4.4	Características dos Compostos em Estudo.....	18
3.4.4.1	Acetaminofeno .....	18
3.4.4.2	Ácido Salicílico .....	18
3.4.4.3	Cetoprofeno .....	19
3.4.4.4	Diclofenaco .....	20
3.4.4.5	Dipirona.....	20
3.4.4.6	Ibuprofeno .....	21
3.4.4.7	Naproxeno .....	22
3.4.4.8	Caféina .....	22
3.5	Preparo de Amostra na Análise de AINEs em Amostras Aquosas Ambientais.....	23
3.5.1	Extração em Fase Sólida - SPE.....	24
3.5.2	A Reação de Derivatização .....	28
3.5.2.1	Reação de Sililação .....	29
3.5.2.2	Derivatização de AINEs.....	32
3.5.3	Análise de AINEs por GC-MS.....	32
3.5.3.1	Métodos Cromatograficos .....	32
3.5.3.2	Cromatografia a Gás.....	34
3.5.3.3	Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS) .....	36
3.5.3.3.1	Funcionamento .....	36
3.5.3.3.2	Técnicas de Varredura.....	37
3.5.4	Determinação de AINEs em Matrizes Aquosas Ambientais .....	38

3.5.4.1	Análise de Resíduos de Fármacos na Literatura: Publicações .....	39
3.6	Avaliação do Desempenho do Método Desenvolvido .....	41
3.6.1	Parâmetros de Validação de Metodologia Analítica .....	42
3.6.1.1	Especificidade e Seletividade .....	42
3.6.1.2	Faixa de Trabalho e Faixa de Trabalho Linear .....	42
3.6.1.3	Linearidade .....	43
3.6.1.4	Padronização Interna .....	43
3.6.1.5	Sensibilidade .....	44
3.6.1.6	Limite de Detecção .....	44
3.6.1.7	Limite de Quantificação .....	44
3.6.1.8	Exatidão e Tendência .....	44
3.6.1.9	Precisão .....	45
3.6.1.10	Robustez .....	45
3.6.1.11	Incerteza da Medição .....	45
3.7	Tratamento de Efluentes Urbanos no Brasil .....	45
4.	Materiais e Métodos .....	47
4.1	Materiais e Solventes .....	47
4.2	Soluções .....	47
4.3	Métodos .....	48
4.3.1	Extração em Fase Sólida – SPE .....	48
4.3.2	Derivatização .....	48
4.3.3	Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS) .....	49
4.3.4	Desempenho do Método Proposto .....	49
5.	Resultados e Discussões .....	50
5.1	Otimização das Condições do GC-MS a Partir das Soluções Padrão Derivatizadas .....	50
5.2	Condições do GC-MS .....	52
5.3	Determinação do Método de Análise por Monitoramento de Íons .....	53
5.4	Otimização das Condições da Reação de Derivatização .....	54
5.4.1	Avaliação Preliminar das Condições para a Reação de Derivatização .....	54
5.4.1.1	Tempo de Reação .....	56
5.4.1.2	Solvente e Uso de Catalisador no Reagente Derivatizante .....	58
5.4.1.3	Volume do Reagente Derivatizante .....	61
5.4.1.4	Conclusões da Avaliação Preliminar da Reação de Derivatização .....	62
5.4.2	Utilização do Planejamento <i>Doehlert</i> .....	63
5.5	Extração em Fase Sólida .....	69

5.5.1	Escolha da Fase Sólida e do Procedimento de pré-concentração.....	69
5.5.2	Determinação do Volume de Quebra .....	71
5.6	Parâmetros de Desempenho do Método de Quantificação: Linearidade, Limite de Detecção e Quantificação e Precisão dos Dados.....	71
5.6.1	Linearidade.....	72
5.6.2	Precisão (repetitividade).....	76
5.6.3	Recuperação .....	77
5.7	Amostragem e Análise de Amostras Aquosas Ambientais .....	78
5.7.1	Amostragem .....	78
5.7.2	Quantificação das amostras aquosas ambientais .....	79
5.7.3	Análise de AINEs em amostras aquosas no Brasil .....	83
6.	Conclusões .....	86
7.	Trabalhos Futuros.....	87
8.	Referências .....	88
9.	Anexos.....	95



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais classes terapêuticas de fármacos e compostos farmacêuticos mais comumente encontrados em efluentes e no meio ambiente. ....	6
Tabela 2. Concentração dos fármacos mais detectados no meio ambiente aquático em diferentes países do mundo <sup>17</sup> .....	8
Tabela 3. Estudo do risco ecológico (RE) de alguns fármacos de diferentes propósitos terapêuticos em águas residuais <sup>17</sup> .....	11
Tabela 4. Classificação química dos anti-inflamatórios não esteróides inibidores não seletivos da ciclo-oxigenase (adaptado de Hardman, J. G. e Gilman, L. E., 2005) <sup>53</sup> . ....	14
Tabela 5. Características farmacológicas dos AINEs <sup>53; 54; 55; 56; 57</sup> .....	15
Tabela 6. Efeitos colaterais comuns causados por AINEs <sup>53</sup> .....	17
Tabela 7. Níveis de tratamento, descrição e exemplos de processos utilizados para o tratamento de águas residuárias.....	47
Tabela 8. Condição para análise dos AINEs por GC-MS no modo SIM e SCAN .....	53
Tabela 9. Tempo de retenção e íons a serem monitorados para cada analito (os íons sublinhados foram os escolhidos como quantificador por apresentarem maior abundância)..	54
Tabela 10. Experimentos realizados para avaliar a influência do tempo de reação na sililação.....	56
Tabela 11. Avaliação da variação do tempo de reação de derivatização na solução padrão mista em isoctano através da área dos picos cromatográficos. ....	56
Tabela 12. Variação da área dos picos cromatográficos em função do tempo de reação de sililação da solução padrão mista em ACN.....	57
Tabela 13. Áreas dos picos cromatográficos dos experimentos de avaliação de diferentes condições de realização da reação de sililação em uma solução com concentração 0,5 mg L <sup>-1</sup> de cada analito. Condições mantidas constantes: T 70°C; volume de derivatizante 10 µL; t de reação de 1h.....	59
Tabela 14. Valores de área obtidos no modo SIM (ou SCAN) para os respectivos compostos derivatizados (Composto- TrMSi) em função de diferentes volumes de derivatizante. ....	61
Tabela 15. Condições experimentais definidas para reação de sililação.....	62
Tabela 16. Valores experimentais de máximos e mínimos para as variáveis V1 e V2.....	64
Tabela 17. Matriz <i>Doehlert</i> com os valores codificados e experimentais .....	65
Tabela 18. Matriz <i>Doehlert</i> com os valores codificados e experimentais .....	67
Tabela 19. Matriz <i>Doehlert</i> com os valores codificados e experimentais .....	67
Tabela 20. Valores de áreas dos picos cromatográficos de cada analito, nas duas fases sólidas avaliadas.....	70
Tabela 21. Estudo da linearidade dos compostos em solução padrão no solvente. ....	72
Tabela 22. Valores de área dos picos cromatográficos para os diferentes pontos da curva analítica e seus respectivos coeficientes de variação percentual (CV%). Todas as concentrações são expressas em µg L <sup>-1</sup> .....	75

Tabela 23. Avaliação da Precisão .....	76
Tabela 24. Repetitividade dos dados em amostras de efluente da estação piloto. ....	76
Tabela 25. Recuperações dos analitos em diferentes matrizes.....	77
Tabela 26. Linearidade, Limites de Detecção e de Quantificação para as Curvas na Matriz..	80
Tabela 27. Concentrações dos analitos nas amostras da Estação Piloto e do Arroio Dilúvio em $\mu\text{g L}^{-1}$ , valores entre parênteses correspondem ao CV%. ....	81
Tabela 28. Comparação entre as concentrações de AINEs encontradas em diferentes países e as concentrações encontradas neste trabalho para efluente e afluentes e águas superficiais, concentrações em $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	82
Tabela 29. Comparação entre as concentrações de AINEs encontradas por Sodré et al. (2007) <sup>105</sup> e as concentrações encontradas neste trabalho em águas superficiais em $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	83
Tabela 30. Comparação entre concentrações encontradas em efluente e afluentes por Stumpf et al (1999) no Rio de Janeiro e concentrações encontradas neste trabalho em $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	84
Tabela 31. Comparação entre concentrações encontradas em Águas Superficiais por Stumpf et al (1999) no Rio de Janeiro e concentrações encontradas neste trabalho em $\mu\text{g L}^{-1}$ . ....	84

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Rota dos fármacos no meio ambiente <sup>2</sup> .....	7
Figura 2.	Farmacocinética dos fármacos <sup>53</sup> .....	13
Figura 3.	Mecanismo de ação dos AINEs.....	16
Figura 4.	Fórmula estrutural do acetaminofeno.....	18
Figura 5.	Fórmula estrutural do ácido salicílico .....	19
Figura 6.	Fórmula estrutural do cetoprofeno .....	19
Figura 7.	Fórmula estrutural do diclofenaco.....	20
Figura 8.	Fórmula estrutural da dipirona .....	21
Figura 9.	Fórmula estrutural do ibuprofeno.....	21
Figura 10.	Fórmula estrutural do naproxeno .....	22
Figura 11.	Fórmula estrutural da cafeína .....	23
Figura 12.	Esquema de um cartucho de SPE.....	25
Figura 13.	Esquema geral das etapas do procedimento de extração em fase sólida.....	25
Figura 14.	FS com sílicas quimicamente modificadas .....	26
Figura 15.	Estrutura da FS Oasis HLB (a) e Strata X (b).....	27
Figura 16.	Mecanismo genérico da reação de silição, onde X varia de acordo com os diferentes reagentes derivatizantes <sup>79</sup> .....	30
Figura 17.	Fórmula estrutural do derivatizante MSTFA (a) e do catalisador imidazol (b)...	31
Figura 18.	Gráfico da polaridade-volatilidade e os ramos de aplicação de GC e LC <sup>83</sup> .....	33
Figura 19.	Métodos analíticos aplicados na determinação de fármacos mais comuns em águas ambientais e residuárias <sup>84</sup> , em 1,tem-se fármacos analisados por GC/MS ou GC/MS-MS sem derivatização, em 2, fármacos analisados por GC/MS ou GC/MS-MS após derivatização e, em 3, fármacos analisados por LC/MS e LC/ MS-MS .....	34
Figura 20.	Representação de um Cromatógrafo a Gás acoplado a um Espectrômetro de Massas.....	36
Figura 21.	Representação tridimensional dos dados gerados por Cromatógrafo a Gás acoplado a um Espectrômetro de Massas (GC-MS). .....	37
Figura 22.	Publicações referentes às palavras-chave <i>pharmaceutical x water x GC-MS</i> dos últimos onze anos, pela base de dados <i>Scopus</i> .....	40
Figura 23.	Publicações referentes às palavras-chave <i>antiinflammatory x water x GC-MS</i> dos últimos onze anos, pela base de dados <i>Scopus</i> .....	41
Figura 24.	Cromatograma da solução mista de AINEs não derivatizados. Concentração 10 mg L <sup>-1</sup> , em solvente isoctano, coluna DB 1 (60 m × 0,25 μm × 0,25 μm), com rampa de aquecimento de 100 °C (5 min) – 10°C/min – 290 °C (10 min). Temperatura do injetor e da linha de transferência em 290°C .....	50

Figura 25. Cromatograma da solução de AINEs derivatizados no modo SIM. Concentração de 1 mg L <sup>-1</sup> , em solvente isoctano, coluna DB 1 (60 m × 0,25 μm × 0,25 μm), com rampa de aquecimento de 100 °C (5 min) – 10°C/min – 290 °C (10 min). Temperatura do injetor e da linha de transferência em 290°C.....	51
Figura 26. Cromatograma da solução de AINEs derivatizados, no modo SIM. Concentração de 1 mg L <sup>-1</sup> , em solvente ACN, em coluna do GC-MS DB 1 (60 m × 0,25 μm × 0,25 μm), com rampa de aquecimento 100 °C (5 min) – 10°C/min – 290 °C (10 min). Temperatura do injetor e da linha de transferência em 290 °C.....	52
Figura 27. Reação do MSTFA com um hidrogênio ativo de um composto qualquer. ....	55
Figura 28. Área dos cromatogramas em função dos tempos da reação de sililação com o reagente MSTFA em isoctano.....	57
Figura 29. Áreas dos picos cromatográficos em função do tempo da reação de sililação com o reagente MSTFA em ACN.....	58
Figura 30. Média dos resultados dos experimentos da tabela 6. Concentração de 0,5 mg L <sup>-1</sup> de cada analito (60 minutos à 70°C com 10 μL do reagente). ....	60
Figura 31. Avaliação do volume de derivatizante na resposta das áreas dos compostos. Solvente isoctano.....	62
Figura 32. Vértices de um hexágono representando as condições experimentais de uma matriz <i>Doehlert</i> . ....	64
Figura 33. Cromatograma da solução de AINEs derivatizados com 10 μL de MSTFA e 114 min de reação. Concentração de 0,5 mg L <sup>-1</sup> , em solvente ACN. ....	66
Figura 34. Variações das condições experimentais das matrizes <i>Doehlert</i> ao longo do estudo.....	69
Figura 35. Comparação das áreas dos picos cromatográficos de cada para as duas fases sólidas empregadas.....	70
Figura 36. Determinação do volume de quebra em água ultra pura. ....	71
Figura 37. Comparação entre as retas das curvas analíticas obtidas para 6 analitos estudados considerando a área do analito (A); e considerando a razão área do analito/área PI (B).....	73
Figura 38. Comparação entre as retas das curvas analíticas obtidas para 6 analitos estudados considerando a área do analito (A); e considerando a razão área do analito/área PI (B).....	74
Figura 39. Localização geográfica dos pontos de coleta do Arroio Dilúvio .....	79

## LISTA DE ABREVIATURAS

- ACN – Acetonitrila
- AINE – Anti-inflamatório Não-Esteroide
- ANA – Agência Nacional de Águas
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- BSA – N,O-Bis(trimetilsilil)acetamida
- BSTFA – N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida
- CAE – Concentração Ambiental Esperada
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
- CV – Coeficiente de variação
- ETE – Estação de tratamento de esgoto
- FS – Fase sólida
- GC – Cromatografia a gás
- GC-MS – Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas
- INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
- ISOC - Isoctano
- LC – Cromatografia a líquido
- LC – MS/MS – Cromatografia a líquido acoplada a espectrometria de massas em tandem
- LD – limite de detecção
- LLE – Extração Líquido Líquido (do Inglês *Liquid Liquid Extraction*)
- LQ – limite de quantificação
- $m/z$  - Razão massa-carga
- MeOH – Metanol
- MIP – *Molecular Imprinted Polymers*
- MM – Massa molar
- MSTFA – N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida
- MTBSTFA – N-tert-butil(dimetilsilil)-N-(metil)-trifluoroacetamida
- ND – Não detectado
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- PPCP – Pharmaceuticals and personal care products (fármacos e produtos de higiene pessoal)
- ppm – parte por milhão
- RE – Risco Ecológico

SIM – Selected ion monitoring (monitoramento de íon selecionado)

SNC – Sistema nervoso central

SPE – Extração em fase sólida

TBDMCS – tert-butil(dimetil)clorosilano

TMCS – Trimetilclorosilano

TrMSi – Trimetilsilila

$t_R$  – tempo de retenção

VQ – Volume de Quebra

## RESUMO

Neste trabalho estudou-se o desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação e quantificação de sete anti-inflamatórios não esteroides, amplamente consumidos para tratamento humano, além da cafeína, determinada como marcador antropogênico, em amostras aquosas ambientais.

Os analitos estudados foram acetaminofeno (AC), ácido salicílico (AS), cafeína (CA), cetoprofeno (CE), diclofenaco (DC), dipirona (DP), ibuprofeno (IB) e naproxeno (NA) . Como padrão internos, foi utilizado o lindano (LI).

A determinação destes analitos foi realizada utilizando-se cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) utilizando MSTFA/Imidazol como derivatizante. As condições para a reação de derivatização foram otimizadas utilizando o planejamento *Doehlert*.

O procedimento de pré-concentração utilizado foi a extração em fase sólida (SPE), tendo como sorvente um sistema de fase polimérica reversa. O procedimento de SPE foi baseado em trabalhos publicados na literatura, com metanol e água (ajustada a pH 3,0) para o condicionamento e eluição com acetonitrila.

Os parâmetros de desempenho do método, como recuperação, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, repetitividade e reprodutibilidade foram avaliados de acordo com as normas estabelecidas pela ANVISA e INMETRO. Os limites de detecção ficaram entre 1,09 e 1079,14 ng L<sup>-1</sup> e os de quantificação entre 3,63 e 3597,12 ng L<sup>-1</sup>.

Após as definições em relação ao método, amostras de água do Arroio Dilúvio (em Porto Alegre – RS) e de uma Estação Piloto de tratamento de efluente pertencente ao Instituto de Pesquisas Hidráulicas (IPH/UFRGS) , foram analisadas para avaliar a presença destes analitos. As amostras da ETE-piloto do IPH, foram coletadas nos meses de janeiro e fevereiro e as amostras do Arroio Dilúvio também foram coletadas no mesmo período. Considerando as amostras reais analisadas em algumas foram detectados e em outras quantificados os anti-inflamatórios estudados. Nas amostras que estes compostos foram quantificados, a faixa de concentração variou entre 0,09 e 23,16 µg L<sup>-1</sup>.

**Palavras-Chave:** Anti-inflamatórios; derivatização; SPE, GC-MS e amostras aquosas ambientais.

## ABSTRACT

In this work the development of an analytic methodology was studied to determine and quantify seven non-steroidal anti-inflammatory drugs, widely used in human treatment, and caffeine considered an anthropogenic marker.

The compounds studied were acetaminophen (AC), salicylic acid (AS), caffeine (CA), ketoprofen (CE), diclofenac (DC), dipyron (DP), ibuprofen (IB), naproxen (NA) and lindane (LI) as internal standard.

The determination of these compounds was performed using gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) with derivatization of the target analytes using MSTFA/Imidazole. The derivatization conditions were optimized with *Doehlert* design.

Solid phase extraction (SPE) with a polymeric reversed solid phase was used as a pre-concentration system. The SPE procedure conditions were based previously established data in the literature, using methanol and water (adjusted to pH 3.0) for the conditioning step and acetonitrile for the elution step

The performance parameters, such recovery, linearity, detection limit, quantification limit, repeatability and reproducibility were evaluated according to ANVISA and INMETRO determinations. The detection limits was in the range of 1,09 and 1079,14 ng L<sup>-1</sup> and the quantification limits 3,63 and 3597,12 gn L<sup>-1</sup>.

After method establishment, samples from a piloto sewage treatment plant and river water, both in Porto Alegre-RS, were analysed. The samples were collected in January and February 2012, both in the pilot plant and in the river water. In some real samples the antiinflammatories were detected and in others was possible quantify. In the samples were the analytes were quantified, the concentration range was 0,09 to 23,16 µg L<sup>-1</sup>.

**Keywords:** Antiinflammatories, derivatization, SPE, GC-MS and environmental aqueous samples.



# 1. INTRODUÇÃO

O estudo do impacto da poluição química, durante as últimas décadas, tem focado quase que exclusivamente em poluentes convencionais que mostram persistência no meio ambiente<sup>1</sup>. Este espectro de produtos, entretanto, constitui somente uma parte do potencial poluente ao qual o meio ambiente está exposto.

Os fármacos pertencem a um grupo de substâncias que, por muito tempo, foi lançado no meio ambiente com muito pouca atenção. Porém, a partir da década de 90, observa-se um maior interesse de pesquisadores ambientais em realizar estudos referentes à ocorrência, destino, quantificação, monitoramento e remoção de fármacos em ambiente aquático, por serem frequentemente encontrados em amostras ambientais em concentração na faixa de  $\mu\text{g L}^{-1}$  e  $\text{ng L}^{-1}$ , sendo, inclusive, persistentes aos tratamentos químicos aplicados nas estações de tratamento de esgoto (ETE)<sup>2</sup>.

Estima-se que a maior fonte de poluição das águas por fármacos seja pela excreção de humanos e animais, tanto na sua forma inalterada, quanto metabolizada, ou, até mesmo, conjugada com outras moléculas polares, como, por exemplo, na forma de glicuronídeos<sup>3</sup>. Sugere-se, ainda, que outras fontes como emissões provenientes de sítios de produção, derramamentos acidentais em indústrias, descarte de medicamentos excedentes ou fora do prazo de validade em domicílios e vazamentos provenientes de redes de esgoto, contribuem significativamente para a contaminação ambiental<sup>2;4</sup>.

Sabe-se que uma significativa porção dos fármacos descartados em esgoto é composta por analgésicos e anti-inflamatórios, classificados como anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), os quais são utilizados respectivamente para aliviar sintomas de dor e combater processos inflamatórios<sup>4</sup>. Essa classe de fármacos está entre as mais consumidas no mundo, sendo estimada sua utilização por 30 milhões de pessoas diariamente<sup>5</sup>. No Brasil, geralmente, não são publicados dados referentes à venda de fármacos por classe terapêutica. Contudo, observa-se que os AINEs são amplamente utilizados visto que sua compra, na maioria dos casos, não requer prescrição médica<sup>6</sup>.

O monitoramento desses compostos é relevante, entre outros, pelo fato de que, segundo a Agência Nacional de Águas (ANA), menos da metade do esgoto gerado é coletado e apenas cerca de um terço desse volume é encaminhado para tratamento<sup>7</sup>. Portanto, grande parte desses compostos, e respectivos metabólitos, são diariamente lançados ao meio, podendo interagir livremente com a fauna e flora, acarretando em possíveis danos ambientais.

Pesquisas dos últimos cinco anos demonstram um crescente monitoramento de AINEs por cromatografia a líquido acoplada a espectrômetro de massas em *tandem* (LC-MS/MS), tendo como técnica de preparo de amostra a extração em fase sólida (SPE). Porém, a análise de AINEs por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS), tendo como técnica de preparo de amostra a SPE seguida pelo processo de derivatização<sup>8</sup> é amplamente difundida<sup>9; 10; 11; 12</sup>. Com isso, este trabalho propõe o desenvolvimento de um método analítico mais acessível, economicamente, de ser implementado, baseado em GC-MS para que a análise de AINEs possa se tornar uma rotina em laboratórios ambientais. Além disso, tendo esse panorama em vista, este trabalho pretende realizar levantamento pioneiro na região metropolitana de Porto Alegre – RS, relacionado à presença de anti-inflamatórios em águas residuárias e águas superficiais.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a presença de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) em águas superficiais, afluyente e efluente urbano de uma estação piloto de Porto Alegre – RS.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- a) Implementar e validar uma metodologia analítica para determinação de anti-inflamatórios não esteroides em águas superficiais, afluyente e efluentes urbanos, utilizando cromatografia a gás acoplados à espectrometria de massas;
- b) Otimizar as condições da reação de derivatização dos anti-inflamatórios não esteroides para análise por cromatografia a gás;
- c) Avaliar as etapas do processo de preparação de amostras por extração em fase sólida para a análise de anti-inflamatórios não esteroides;
- d) Monitorar a ocorrência/remoção dos fármacos nas amostras reais;

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CONTAMINANTES EMERGENTES

Durante muitos anos, a análise de contaminantes ambientais determinou a presença de agrotóxicos, gases poluentes, derivados do petróleo, entre tantos outros, que são designados como poluentes convencionais. Atualmente, um número muito grande de compostos orgânicos sintéticos é produzido para consumo doméstico e industrial, sem ter conhecimento acerca das consequências destes para o ambiente e para os seres vivos.

Compostos que apresentam potencial poluente, compreendem uma nova classe de contaminantes. Estes novos compostos chamados “contaminantes emergentes”<sup>13</sup> que correspondem aos contaminantes que recentemente foram identificados com potencial poluente. Sua principal característica é não precisar persistir no meio ambiente para causar efeitos negativos, visto que suas altas taxas de transformação e remoção são compensadas pela contínua introdução ao meio, podendo levar a altas concentrações em longo prazo<sup>14</sup>.

Esse grupo de compostos, que tem como exemplos: fármacos e produtos de higiene pessoal (PPCPs, do inglês *Pharmaceuticals and Personal Care Products*), desreguladores endócrinos, percloratos e retardantes de chama bromados, tem chamado atenção por serem liberados em quantidades pequenas, mas continuamente<sup>2</sup>. Apesar de serem designados como contaminantes emergentes, estes vem sendo utilizados pela população há décadas, portanto, sua presença no ambiente não é recente.

O constante lançamento desses compostos no ambiente continuará ocorrendo indiscriminadamente enquanto as tecnologias de tratamento convencionais forem consideradas satisfatórias para os padrões regulatórios. Para melhorar essa situação, a legislação é a principal força na química analítica ambiental. Pesquisadores avaliam o efeito de substâncias no ambiente e, quando estes apresentam potenciais negativos são regulamentados através de listas de poluentes prioritários sendo incluídos em diferentes legislações<sup>15</sup>.

Os contaminantes emergentes ainda não se encontram em listas regulatórias de poluentes ambientais, pois os efeitos que os mesmos causam ao ambiente (riscos e dados ecotoxicológicos) ainda não são totalmente conhecidos<sup>16</sup>, mas dependendo dos resultados obtidos em pesquisas, poderão vir a ser regulados<sup>14</sup>.

### 3.2 OS FÁRMACOS

Os fármacos compreendem uma classe de contaminantes emergentes, que pode ser considerada a mais importante, pois seu consumo a nível mundial está cada vez maior, tanto pela qualidade de vida das pessoas, como também, pela média de idade da população estar aumentando nas últimas décadas. Além disso, se trata de um grupo muito numeroso e heterogêneo de compostos, os quais são sintetizados com o propósito de curar enfermidades, prevenir infecções e reduzir sintomas<sup>17</sup>. Os fármacos são lançados no meio ambiente há muito tempo, contudo, apenas recentemente, com o avanço das técnicas instrumentais de análise e preparo de amostras, se tornou possível a detecção dessas substâncias e assim, possibilitou estudar o problema que estes podem acarretar ao ecossistema.

Embora sejam lançados ao meio ambiente há muito tempo, até recentemente, pouca atenção foi dada a esses compostos no que se refere a seus efeitos no meio ambiente. Nos anos 70 surgiu pela primeira vez o interesse da comunidade científica por fármacos no meio ambiente, mais especificamente pelo efeito dos hormônios. Durante a década de 80, porém, as atenções se voltaram para os efeitos dos contaminantes convencionais, deixando de lado os compostos farmacêuticos. Nos anos 90, novamente os fármacos chamam a atenção de pesquisadores e a partir de então, começam a ser estudados mais profundamente sobre os efeitos destes para os organismos vivos<sup>17</sup>.

O primeiro estudo sobre a presença de hormônios em águas foi publicado em 1965, e demonstrou que os esteroides não eram completamente eliminados durante o tratamento de águas residuais<sup>18</sup>. Outros trabalhos, demonstrando a presença de hormônios humanos em águas foram publicados nos anos 70 e 80<sup>19; 20</sup>. Porém, mesmo a relação destes contaminantes com efeitos toxicológicos em peixes, não fez com que se fosse dada a devida atenção<sup>21</sup>. Os primeiros trabalhos demonstrando a presença de resíduos de fármacos no meio ambiente aquático foram publicados nos Estados Unidos em 1970, estando centrados principalmente no ácido clofíbrico, o metabólito de três reguladores lipídicos bem conhecidos<sup>22</sup>. Na Europa, os primeiros estudos sobre a presença de fármacos no meio ambiente foram descritos no Reino Unido e revelaram que os fármacos estavam presentes em águas em concentrações de aproximadamente  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ <sup>23</sup>.

Atualmente, se percebe na literatura um número muito grande de estudos que evidenciam fármacos de diferentes classes terapêuticas no ambiente aquático. Estes compostos causam efeitos para os seres vivos aquáticos e terrestres devido suas propriedades biológicas e também, pela possibilidade de bioacumulação, contudo, esses efeitos ainda não são totalmente conhecidos. Além disso, os sistemas convencionais de tratamento de efluentes

não foram projetados para eliminar resíduos de fármacos, isso nos leva a uma situação de contínuo despejo destes compostos no ambiente aquático, problemática a qual faz com que seja necessário o estudo de novos sistemas de tratamento de efluentes<sup>17</sup>.

As principais categorias de fármacos de consumo humano e os seus principais representantes utilizados que são mais comumente detectados no ambiente são mostrados na tabela 1.

Tabela 1. Principais classes terapêuticas de fármacos e compostos farmacêuticos mais comumente encontrados em efluentes e no meio ambiente.

<b>CLASSE TERAPÊUTICA</b>	<b>FÁRMACOS MAIS DETECTADOS NO MEIO AMBIENTE</b>
Antibióticos	Amoxicilina, sulfametoxazol,
AINEs	Ácido salicílico, acetaminofeno, Ibuprofeno, fenoprofeno, cetoprofeno, naproxeno, diclofenaco, dipirona.
B-bloqueadores	Metoprolol, propranolol, nadolol, atenolol, sotalol, betaxolol.
Reguladores lipídicos	Bezafibrato, genfibrozil, ácido clofibrico, fenofibrate, pravastatin, mevastatin
Fármacos de psiquiatria	Carbamazepina, fluoxetina, diazepam.
Esteroides e hormônios	17 $\beta$ -estradiol, estrona, 17 $\alpha$ -etinilestradiol, gestodeno, drospirenona.
Outros	Cafeína

Além desses compostos, a cafeína é muito monitorada em estudos, pois é utilizada como marcador de contaminação antropogênica (resultado da atividade humana) por águas residuais domésticas em águas superficiais<sup>24</sup>. Além disso, a cafeína também é amplamente utilizada concomitantemente com outros princípios ativos para incrementar a efetividade dos mesmos.

Em relação ao uso humano, a principal via de entrada de fármacos no meio aquático é a excreção. Após a administração, os princípios ativos podem ser excretados como substância ativa inalterada ou na forma de metabólitos. Outras vias de exposição ambiental aos fármacos são os efluentes hospitalares, aplicações na terra (sólidos biológicos, por exemplo) e disposição direta no ambiente (eliminação de produtos vencidos)<sup>25</sup>. Com isso, o controle da emissão de fármacos no meio ambiente se torna complexo, pois suas fontes de contaminação estão muito dispersas (efluentes domésticos, hospitalares, industriais, etc.)

Uma provável rota dos fármacos no ambiente é mostrada na figura 1.

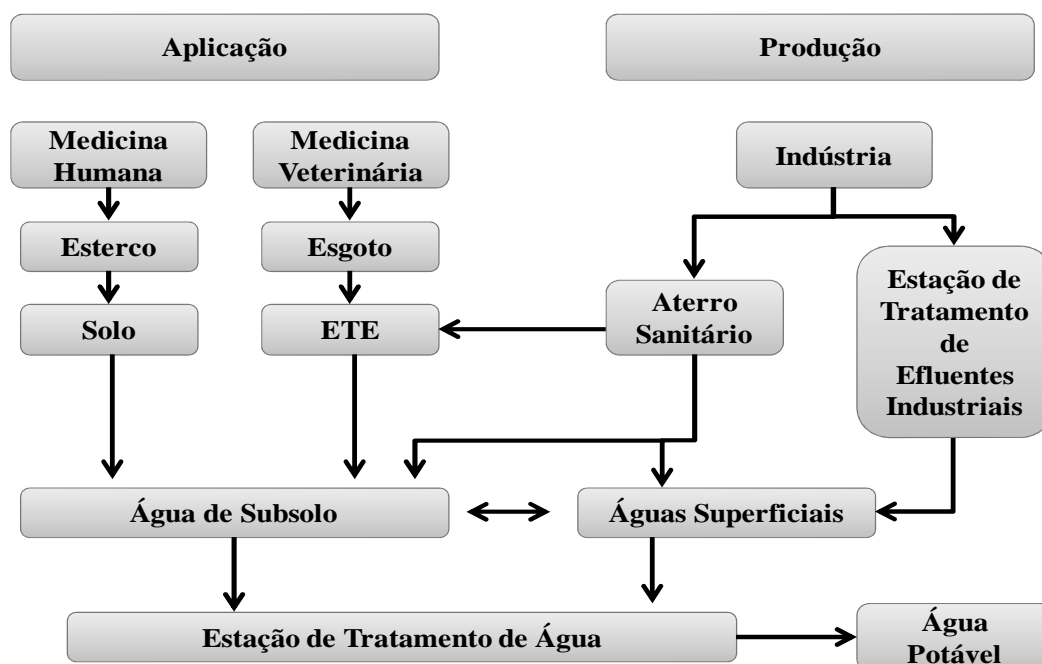


Figura 1. Rota dos fármacos no meio ambiente<sup>2</sup>

Muitas toneladas de medicamentos são produzidas anualmente e utilizadas tanto na medicina humana quanto veterinária. Geralmente, a produção exata não é publicada na literatura<sup>2</sup>, mas o que se sabe é que o Brasil pertence ao grupo dos maiores consumidores mundiais de fármacos, juntamente com países como Estados Unidos, França e Alemanha<sup>26</sup>. Por apresentarem concentrações ambientais aquáticas baixíssimas, em nível de traço e ultra traço ( $\mu\text{g}$  e  $\text{ng L}^{-1}$ ), sua identificação somente se torna possível graças às técnicas de detecção sensíveis, como a espectrometria de massas.

Dentre as várias classes de fármacos existentes, as mais abordadas em publicações científicas em diferentes matrizes aquosas são os anti-inflamatórios, analgésicos, antibióticos, reguladores de lipídios, esteroides e hormônios relacionados, betabloqueadores e remédios empregados em terapias contra câncer<sup>27; 28</sup>. Dentro dessas classes, um grande número de fármacos tem sido detectado em efluentes aquáticos, recursos naturais, sedimentos e solos<sup>29</sup>. Estudos demonstram que várias dessas substâncias não são completamente removidas nas Estações de Tratamento de Efluentes (ETEs)<sup>2</sup>. A tabela 2 nos mostra os níveis de concentração de fármacos mais representativos encontrados no meio ambiente aquático de diferentes países.

Tabela 2. Concentração dos fármacos mais detectados no meio ambiente aquático em diferentes países do mundo<sup>17</sup>.

<b>FÁRMACOS</b>	<b>CONCENTRAÇÃO MÉDIA (MIN-MAX) (ng/L)</b>	<b>LOCALIZAÇÃO</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>
<b>Ibuprofeno</b>	(<L.D.-80)	2 rios, Suíça	30
	(7-12)	Lago, Suíça	30
	200	95 correntes, EE.UU	31
	70	Rios, Alemanha	32
	(<L.D.-674)	Canais, N. Orleans	33
	(<L.D.-34)	Rio, N. Orleans	34
	(<L.D.-928)	Estuários, R. Unido	35
	(<L.D.-200)	Poços, Berlin	36
	60 (L.D.-150)	Rio, Espanha	37
	28 (11-38)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
13 (<L.D.-17)	Rio, Itália	39	
<b>Acetaminofeno</b>	110	95 correntes, EE.UU	31
	(25-65)	Rio, N. Orleans	34
	20 (<L.D.-110)	Rio, Japão	40
	42 (<L.D.-250)	Rio, Espanha	37
	33 (4-73)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
13 (<L.D.-66)	Rios, Alemanha	41	
<b>Naproxeno</b>	(<L.D.-50)	Rio, Brasil	26
	(<L.D.-380)	2 rios, Suíça	30
	(4-10)	Lago, Suíça	30
	70	Rios, Alemanha	32
	(<L.D.-145)	Canais, N. Orleans	33
	(<L.D.-135)	Rio, N. Orleans	34
	33 (L.D.-50)	Rio, Espanha	37
	11 (2-18)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
5 (L.D.-32)	Rios, Alemanha	41	
<b>Diclofenaco</b>	(<L.D.-195)	Estuários, R. Unido	35
	2.2 (<L.D.-3.3)	Rio, Japão	40
	(<L.D.-380)	Poços, Alemanha	36
	29 (<L.D.-60)	Rio, Espanha	37
	3 (1-7)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
	27 (<L.D.-69)	Rios, Alemanha	41
	(<L.D.-590)	Subterrânea, Alemanha	42
<b>Indometacina</b>	11 (<L.D.-16)	Rio, Japão	40
	(<L.D.-10)	Rio, Espanha	37
<b>Codeína</b>	(17-123)	Lago, EE.UU	43
	40 (<L.D.-54)	Rios, Romênia	44
<b>Hidrocodona</b>	(6-13)	Lago, EE.UU	43
	2 (1-2)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
<b>Bezafibrato</b>	26 (<L.D.-170)	Rio, Japão	40
	8 (<L.D.-10)	Rio, Espanha	37
	2 (<L.D.-3)	Rio, Itália	39
<b>Genfibrozil</b>	(<L.D.-340)	Poços, Alemanha	36
	46 (<L.D.-60)	Rio, Espanha	37
	7 (2-9)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
		Rios, Alemanha	41



	8 (<L.D.-27)		
<b>Propranolol</b>	(<L.D.-56)	Estuários, R. Unido	35
	8 (<L.D.-46)	Rio, Japão	40
<b>Atenolol</b>	72 (<L.D.-250)	Rio, Espanha	37
	17 (<L.D.-41)	Rio, Itália	39
	(10-320)	2 rios, Suíça	30
	(30-55)	Lago, Suíça	30
	250	Rios, Alemanha	32
	(43-114)	Rio, N. Orleans	34
<b>Carbamazepina</b>	(<L.D.-570)	Subterrânea, Alemanha	45
	(14-35)	Lago, EE.UU	43
	30 (<L.D.-110)	Rio, Espanha	37
	25 (5-61)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
	(<L.D.-900)	Subterrânea, Alemanha	42
	(3-62)	Lago, EE.UU	43
<b>Diazepam</b>	31 (<L.D.-34)	Rios, Romênia	44
	27	95 correntes, EE.UU	31
	(<L.D.-5)	Rio, N. Orleans	34
<b>Estrona</b>	24	Aquífero, Austrália	46
	4 (2-5)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
	9	95 correntes, EE.UU	31
<b>17β-estradiol</b>	(<L.D.-5)	Rio, N. Orleans	34
<b>17α-etinilestradiol</b>	73	95 correntes, EE.UU	31
	(<L.D.-569)	Estuários, R. Unido	35
<b>Trimetoprima</b>	11 (<L.D.-20)	Rio, Espanha	37
	4 (3-5)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
	38(<L.D.-160)	Rio, Japão	40
	(<L.D.-110)	Subterrânea, Alemanha	45
<b>Sulfametoxazol</b>	20 (2-36)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
	(<L.D.-410)	Subterrânea, Alemanha	42
	17 (<L.D.-30)	Rio, Espanha	37
<b>Eritromicina</b>	3 (2-5)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
	3 (<L.D.-16)	Rio, Itália	39
	7 (<L.D.-70)	Rio, Japão	40
<b>Azitromicina</b>	8 (<L.D.-20)	Rio, Espanha	37
<b>Tamoxifen</b>	(<L.D.-71)	Estuários, R. Unido	35
<b>Diatrizoato</b>	(1600-9600)	Subterrânea, Alemanha	45
<b>Iopromida</b>	134 (20-361)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
<b>Iopamidol</b>	(<L.D.-300)	Subterrânea, Alemanha	42
<b>Ciclofosfamida</b>	55 (<L.D.-65)	Rios, Romênia	44
	15 (<L.D.-21)	Rio, Japão	40
<b>Furosemida</b>	4 (<L.D.-67)	Rio, Itália	39
<b>Ranitidina</b>	1.3 (<L.D.-4)	Rio, Itália	39
	(5-50)	Lago, EE.UU	43
<b>Pentoxifilina</b>	1.6	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
	239 (<L.D.-299)	Rios, Romênia	44
	(<L.D.-30)	Rio, Brasil	26
	(<L.D.-19)	Mar do Norte	47
<b>Acido clofíbrico</b>	(<L.D.-30)	2 rios, Suíça	30
	(6-8)	Lago, Suíça	30
	66	Rios, Alemanha	32

	(3-27)	Rio, N. Orleans	34
	(<L.D.-111)	Estuários, R. Unido	35
	(<L.D.-7300)	Poços, Alemanha	36
	(<L.D.-170)	Água bebida, Alemanha	36
	11 (10-20)	Rio, Espanha	37
<b>Acido salicílico</b>	(<L.D.-1225)	Poços, Alemanha	36
<b>4-Formilaminoantipirina (4-FAA)</b>	272 (103-510)	Rios, Romênia	44
	227 (<L.D.-707)	Rios, Alemanha	41
<b>4-Acetilaminoantipirina (4-AAA)</b>	992 (312-1560)	Rios, Romênia	44
	234 (64-698)	Rios, Alemanha	41
	(2-16)	Mar do norte	47
	81	95 correntes, EE.UU	31
	(<L.D.-38)	Rio, N. Orleans	34
<b>Cafeína</b>	342 (<L.D.-2100)	Rio, Japão	40
	(10-47)	Lago, EE.UU	43
	105 (3-194)	Lagos, rios, Coreia do Sul	38
	3480 (428-9700)	Rios, Romênia	44

Conforme nos mostra a tabela 2, muitos fármacos são encontrados em águas de diferentes países, nos mais diversos níveis de concentração. Porém, mesmo tendo conhecimento da presença desses compostos e, ainda que se saiba que estes causam danos ao meio ambiente, a amplitude de seus efeitos ainda não é totalmente conhecida e, portanto, não existem limites máximos ambientais estabelecidos.

### 3.3 OS FÁRMACOS: RISCOS AO MEIO AMBIENTE E A LEGISLAÇÃO

Para que seja estabelecida uma legislação quanto aos limites ambientais máximos de fármacos permitidos no ambiente, são necessários conhecimentos muito específicos sobre seus efeitos e sua toxicidade. Essa área vem sendo estudada no mundo todo por pesquisadores da área da química ambiental. Sabe-se que os fármacos possuem comportamento físico-químico muito semelhante a outros xenobióticos perigosos<sup>17</sup>, que se acumulam e induzem efeitos negativos nos organismos aquáticos e terrestres.

Mesmo a literatura demonstrando concentrações individuais de fármacos na faixa de ng/L - µg/L, essas concentrações já são suficientes para que efeitos adversos sejam causados ao ecossistema aquático. Porém, é reconhecido que a combinação de concentrações de fármacos que possuem um efeito comum pode indicar efeitos sinérgicos<sup>17</sup>. Considerando esse fato, surge a crescente demanda de informações sobre a toxicidade dos resíduos de fármacos, dados estes ainda escassos atualmente.

A tabela 3 demonstra o risco ecológico (RE) de alguns fármacos de diferentes propósitos terapêuticos em águas residuais. Os dados foram determinados em um estudo

realizado por Hernando e col., (2006)<sup>48</sup>. Esses são dados de fármacos em águas residuais não considerando a diluição do efluente. Porém, esses dados ainda são insuficientes visto que há necessidade de estudos sobre os efeitos crônicos pela exposição em longo prazo, ou seja, avaliar a concentração ambiental esperada (CAE), que é a concentração da porção ativa ou o composto de interesse na qual os organismos seriam expostos no meio ambiente depois de considerações de, por exemplo, concentração temporal ou fatores tais como diluição, degradação, sorção e/ou bioacumulação.

Tabela 3. Estudo do risco ecológico (RE) de alguns fármacos de diferentes propósitos terapêuticos em águas residuais<sup>17</sup>.

<b>CLASSE</b>	<b>COMPOSTO</b>	<b>RE EM ÁGUAS RESIDUAIS</b>
<b>Antibióticos</b>	Eritromicina	Alto (alga)
	Ibuprofeno	Alto (bactéria)
<b>Anti-inflamatórios</b>	Diclofenaco	Alto (bactéria)
	Naproxeno	Alto (bactéria)
	Cetoprofeno	Alto (bactéria)
<b>Regulador de colesterol</b>	Gemfibrozil	Alto (bactéria)
	Ácido Clofíbrico	Alto (bactéria)
<b>β-bloqueadores</b>	Propranolol	Alto (invertebrado)
	Metoprolol	Alto (invertebrado)
<b>Antiepiléptico</b>	Carbamazepina	Alto (alga)

Se tratando de legislação, o Brasil não contempla normas específicas relativas aos limites máximos permitidos de fármacos no ambiente aquático. Devendo ser consideradas as normas que tratam da classificação dos corpos d'água – Resolução CONAMA nº 357/2005<sup>49</sup> e de padrões de qualidade da água para consumo humano – Portaria MS nº 518/2004<sup>50</sup>.

Na relação de variáveis de qualidade contempladas na resolução CONAMA é encontrada uma grande variedade de substâncias e compostos químicos, orgânicos e inorgânicos, algas e microrganismos, além de propriedades físicas da água. Dentre as substâncias orgânicas as quais apresentam limites máximos permitidos encontram-se os agroquímicos e solventes orgânicos, contudo, os contaminantes emergentes de forma geral, não possuem legislação quanto aos limites ambientais máximos permitidos.

No entanto, a Resolução CONAMA abre precedentes para incluir na relação de variáveis de qualidade de água qualquer substância que possa comprometer o uso da água

para os fins previstos, dependendo das condições específicas locais ou, então, mediante fundamentação técnica.

Considerando a Portaria 518, estão estabelecidos os padrões de qualidade da água para abastecimento público (padrões de qualidade para a água potável), onde são considerados os riscos associados à presença de microrganismos e substâncias químicas. Nesta portaria são consideradas substâncias inorgânicas e agrotóxicos, sendo que os limites de qualidade baseados nas diretrizes definidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). De maneira similar ao que ocorre na Resolução CONAMA, também não são definidos limites de quantidades para as substâncias enquadradas atualmente como contaminantes emergentes.

No que se refere ao lançamento de efluentes no ambiente, a Resolução CONAMA estabelece alguns padrões de lançamento de efluentes (Anexo 1), porém, assim como para águas doce, não há legislação quanto aos limites de fármacos permitidos no ambiente, o que se tem são precedentes para que seja criada essa legislação. Isso pode ser percebido no artigo 34 parágrafos 1 e 2 da Resolução CONAMA nº 357 de 2005, onde tem-se que:

*§ 1º O efluente não deverá causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de toxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.*

*§ 2º Os critérios de toxicidade previstos no § 1º devem se basear em resultados de ensaios ecotoxicológicos padronizados, utilizando organismos aquáticos, e realizados no efluente.*

*(Resolução CONAMA nº 357 de 2005 p. 30<sup>49</sup>)*

Se tratando de mundo, na *European Medicines Agency (EMA)*<sup>51</sup>, em junho de 2006, foi elaborado pelo *Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)*, um guia: *Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medical Products for Human Use*, no qual é descrita uma avaliação do potencial dos riscos ambientais de produtos medicinais de uso humano, especificando a abrangência e as bases legais para a avaliação. O escopo e as bases legais desse guia estão de acordo com o Artigo 8 (3) da Diretiva 2001/83/EC (*European Commission*). A diretiva 2001/83/EC, como emenda, relata que os riscos ambientais crescem a partir do uso, estocagem e disposição de medicamentos e os riscos não crescem a partir da síntese ou fabricação de medicamentos.

Conforme o guia, a avaliação dos riscos potenciais ao meio ambiente constitui de duas fases: a primeira fase (fase I) estima a exposição do medicamento no meio ambiente. Na segunda fase (fase II) informações sobre o destino e efeitos no meio ambiente são obtidas e avaliadas.

Com base nas premissas existentes nas duas principais normas que tratam da qualidade da água no território nacional e a partir de estudos desenvolvidos em vários países sobre os efeitos de fármacos em organismos aquáticos e efeitos potenciais na saúde humana, além do monitoramento destas substâncias nos corpos hídricos em algumas regiões do país, é possível prever que, no futuro, tais substâncias poderão vir a ser contempladas nas legislações existentes ou, então, em normas específicas<sup>52</sup>.

### 3.4 ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES (AINES)

#### 3.4.1 Anti-Inflamatórios Não Esteroides (AINEs)

Quando um fármaco entra no corpo, o organismo começa imediatamente a processá-lo: absorção, distribuição, metabolismo e eliminação. Esse processo é conhecido como farmacocinética, mostrado na figura 2.

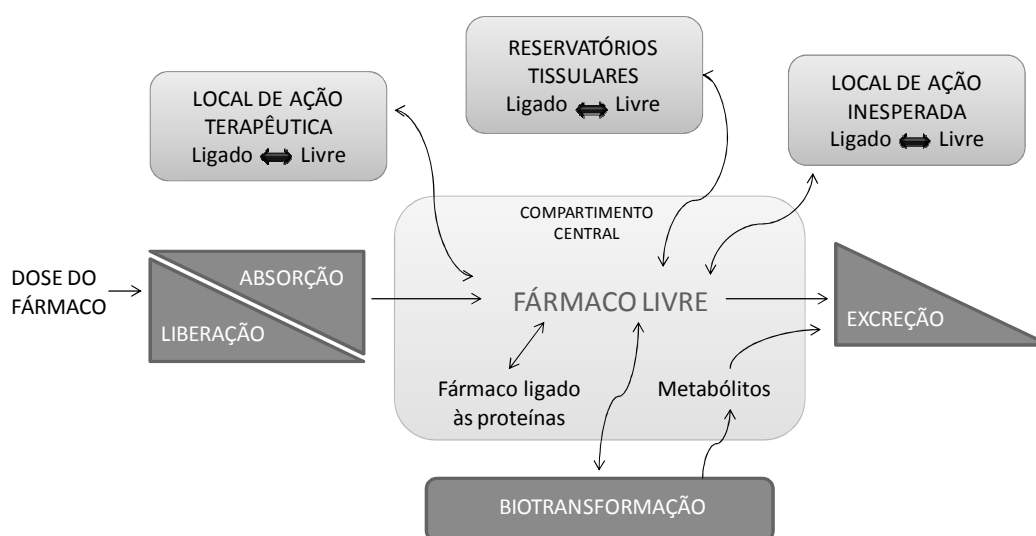


Figura 2. Farmacocinética dos fármacos<sup>53</sup>

Todos os fármacos são eliminados pelo processo de excreção sem qualquer alteração, convertidos em metabólitos ou ainda, na forma conjugada, como na forma de glicuronídeos<sup>53</sup>. Os efeitos terapêuticos da maioria dos fármacos são atribuídos à sua interação com os componentes macromoleculares do organismo. Essas interações alteram a função do

componente envolvido e, desta forma, produzem as alterações bioquímicas e fisiológicas que caracterizam a resposta do fármaco<sup>53</sup>.

O processo inflamatório é a resposta a um estímulo nocivo. Pode ser evocado por uma ampla variedade de agentes nocivos (p ex., infecções, anticorpos ou lesões físicas). A capacidade de montar uma resposta inflamatória é essencial para a sobrevivência ante lesões e patógenos do ambiente. Não importa qual tenha sido o estímulo inicial, a resposta inflamatória clássica inclui calor, dor, rubor e tumor<sup>53</sup>.

A denominação AINEs é dada a um grupo de compostos, os quais, do ponto de vista químico, são, na sua maioria, ácidos orgânicos, utilizados na medicina como anti-inflamatórios, analgésicos e antipiréticos. A classificação química desses fármacos é apresentada na tabela 4.

Tabela 4. Classificação química dos anti-inflamatórios não esteróides inibidores não seletivos da ciclo-oxigenase (adaptado de Hardman, J. G. e Gilman, L. E., 2005)<sup>53</sup>.

<b>CLASSE</b>	<b>REPRESENTANTE</b>
<b>Derivados do ácido salicílico</b>	Ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, salicilato de sódio, trissalicilato de magnésio e colina, salsalato, diflunisal, sulfassalazina, olsalazina
<b>Derivados do para-aminofenol</b>	Acetaminofeno
<b>Derivados da pirazolona</b>	Fenilbutazona, oxifembutazona, antipirina, aminopirina, dipirona
<b>Ácidos indolacético e indenacético</b>	Indometacina, sulindaco
<b>Ácidos heteroaril acéticos</b>	Tolmetina, diclofenaco, cetorolaco, aceclofenaco
<b>Ácidos arilpropiônicos</b>	Ibuprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, cetoprofeno, fenoprofeno, oxaprozina
<b>Ácidos antranílicos (fenamatos)</b>	Ácido mefenâmico, ácido meclofenâmico
<b>Ácidos enólicos</b>	Oxicams (piroxicam, meloxicam)
<b>Alcanonas</b>	Nabumetona

Os AINEs estão entre os agentes terapêuticos mais amplamente utilizados no mundo inteiro. A tabela 5 apresenta informações farmacológicas sobre alguns dos AINEs mais consumidos e quantificados em matrizes aquosas ambientais.

Tabela 5. Características farmacológicas dos AINEs<sup>53; 54; 55; 56; 57</sup>

<b>COMPOSTO</b>	<b>AÇÃO TERAPÊUTICA</b>	<b>DOSE HABITUAL</b>	<b>PRINCIPAIS METABÓLITOS</b>	<b>EXCREÇÃO NA FORMA INALTERADA</b>
<b>Acetaminofeno (Paracetamol)</b>	Analgésico; antipirético.	350-1000 mg 1-3 x/dia	N-acetil-benzoquinoneimina (<10%)	90-100%
<b>Ácido acetilsalicílico</b>	Analgésico; antipirético; anti-inflamatório; antiagregante plaquetário.	500-1000 mg 4-6 x/dia	Ácido salicílico (75%); ácido salicílico (10%).	30% (urina alcalina); 2% (urina ácida).
<b>Ácido salicílico</b>	Ceratolítico	Uso tópico	-	-
<b>Cetoprofeno</b>	Anti-inflamatório	50-75 mg 3-4 x/dia	3-hidroxi-cetoprofeno	10%
<b>Diclofenaco</b>	Anti-inflamatório	50-100 mg 2-4 x/dia	4-hidroxi-diclofenaco	>50%
<b>Dipirona</b>	Analgésico; antipirético.	500-1000 mg 1-4 x/dia	4-acetil-amino-antipirina (45%)	<10%
<b>Ibuprofeno</b>	Anti-inflamatório	400-800 mg 3-4 x/dia	2-hidroxi-ibuprofeno	15%
<b>Naproxeno</b>	Anti-inflamatório	250-500 mg 2 x/dia	Naproxeno acil glicuronídeo (>50%)	< 1%

A tabela 5 evidencia as elevadas doses diárias de AINEs (100 - 4000 mg) e o percentual de excreção na forma inalterada e metabolizada de cada fármaco. Considerando esses números, aliados ao fato destes serem comercializados sem receituário médico, a existência de poucas estações de tratamento de esgoto, e, segundo o Censo de 2010<sup>58</sup>, a população do Rio Grande do Sul ultrapassar os 10 milhões, e, a população brasileira tangenciar os 191 milhões de habitantes, a quantidade AINEs e respectivos metabólitos enviadas diretamente para o meio ambiente aquático é alarmante. Isso tudo justifica estudos como este para essa classe de fármacos e alerta para que se prossiga a avaliação do impacto dessas substâncias em biota.

### 3.4.2 Efeitos Terapêuticos dos AINEs

Todos os AINEs são anti-inflamatórios, analgésicos e antipiréticos e representam um grupo de compostos quimicamente heterogêneos, que frequentemente não tem relação química entre si, mas compartilham certas ações terapêuticas e determinados efeitos adversos. Os principais efeitos terapêuticos dos AINEs derivam da sua capacidade de inibir a síntese de prostaglandinas através da interação do ácido araquidônico com o local ativo das enzimas ciclooxigenase (COX).

A COX-1 é uma enzima construtiva expressa na maioria dos tecidos desempenha um papel de manutenção no corpo e está envolvida na homeostasia tecidual. A COX-2 é induzida nas células inflamatórias quando estas são ativadas. Já está bem definido que a ação anti-inflamatória dos AINEs está principalmente relacionada à inibição da COX-2 e que, quando utilizados como agentes anti-inflamatórios, seus efeitos indesejáveis decorrem, em grande parte, da inibição da COX-1<sup>53</sup>. O efeito dos AINEs pode ser melhor visualizado na figura 3.

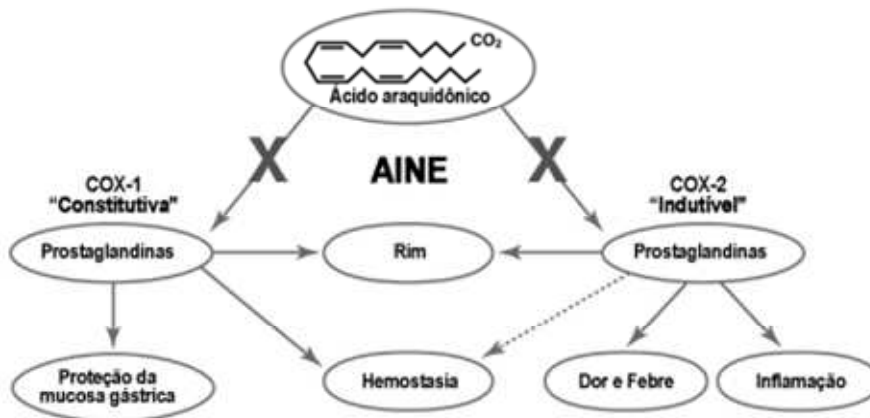


Figura 3. Mecanismo de ação dos AINEs

Conforme já mencionado, os AINEs exercem efeitos antipiréticos, devido, em grande parte, à inibição da produção de prostaglandinas no hipotálamo, responsável pelo controle da temperatura corporal. Efeitos analgésicos mostrando-se principalmente eficazes contra a dor associada à inflamação ou à lesão tecidual, visto que diminuem a produção e prostaglandinas que sensibilizam os nociceptores, sua capacidade de aliviar cefaleia pode estar relacionada também, a abolição do efeito vasodilatador das prostaglandinas sobre a vasculatura cerebral. Além disso, desempenha efeitos anti-inflamatórios pela redução de componentes da resposta inflamatória em que os produtos da ação COX-2 desempenham uma função significativa como vasodilatadores e na dor<sup>59</sup>.



### 3.4.3 Efeitos Colaterais

Os efeitos indesejáveis, devido, em grande parte, à inibição da enzima de manutenção construtiva, a COX-1, são comuns, sobretudo em indivíduos idosos, pois a idade geralmente se correlaciona a uma probabilidade maior de desenvolver reações adversas sérias aos AINEs. Os efeitos adversos mais comumente verificados são apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Efeitos colaterais comuns causados por AINEs<sup>53</sup>

<b>SISTEMA</b>	<b>MANIFESTAÇÕES</b>
<b>Gastrointestinal</b>	Dor abdominal; Náuseas Anorexia Erosão/úlceras gástricas Anemia Hemorragia Perfuração Diarreia
<b>Renal</b>	Retenção de sal e água Edema, piora da função renal em pacientes renais/cardíacos ou cirróticos Menor eficácia dos medicamentos anti-hipertensivos Menor eficácia dos diuréticos Hiperpotassemia
<b>SNC</b>	Cefaleia Vertigem Tonturas Confusão Depressão Redução do limiar convulsivo Hiperventilação
<b>Plaquetas</b>	Inibição da atividade plaquetária Propensão a equimoses Maior risco de hemorragias
<b>Útero</b>	Prolongamento da gestação
<b>Hipersensibilidade</b>	Rinite vasomotora Edema angioneurótico Asma Urticária Rubor Hipotensão Choque
<b>Vascular</b>	Fechamento do canal arterial

### 3.4.4 Características dos Compostos em Estudo

#### 3.4.4.1 Acetaminofeno

O acetaminofeno (N-acetil-p-aminofenol, 4-acetamidofenol, paracetamol, ou outros nomes comerciais) é um composto p-aminofenólico que apresenta atividades analgésica e antipirética. Este fármaco não possui atividade anti-inflamatória, mesmo assim é provavelmente o antipirético-analgésico de segunda escolha, principalmente para os pacientes alérgicos ao ácido acetilsalicílico ou que sofram de úlceras pépticas. É uma molécula orgânica de tamanho moderado, estável e não reativo com a maioria dos produtos químicos não corrosivo, não é inflamável, e não se degrada significativamente, se for armazenado por longos períodos de tempo, sob condições ácidas sofre ligeira degradação, é estável à temperatura, luz e umidade.

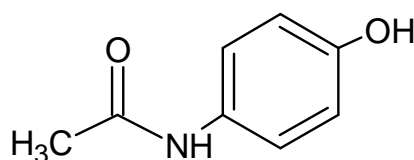


Figura 4. Fórmula estrutural do acetaminofeno

A fórmula molecular do acetaminofeno é  $C_8H_9NO_2$ , sua fórmula estrutural é apresentada na figura 4. Apresenta massa molecular de  $151,17 \text{ g mol}^{-1}$  e densidade de  $1,293 \text{ g (cm}^3)^{-1}$ . O pKa do acetaminofeno é 9,51, a  $25^\circ \text{ C}$ . De acordo com a Folha de Dados de Segurança, é um sólido branco cristalino à temperatura ambiente, com um ponto de fusão de  $170^\circ \text{ C}$ . É razoavelmente solúvel em água.

#### 3.4.4.2 Ácido Salicílico

O ácido salicílico é um ácido orgânico fraco que pode ser obtido na natureza, a partir da casca da árvore salgueiro branco (*Salix Alba*). Usado desde a antiguidade para tratar dores, o ácido salicílico é o ponto de partida para a química moderna farmacêutica (aspirina). O ácido salicílico, que tem fórmula molecular  $C_7H_6O_3$  e fórmula estrutural apresentada na figura 5, é um sólido cristalino de incolor a branco, é inodoro e solúvel em acetona, etanol e metanol, além de ser levemente solúvel em água. Seu ponto de fusão é  $159^\circ \text{ C}$  e sua densidade  $1,443 \text{ g (cm}^3)^{-1}$  e seu pKa é 2,98.

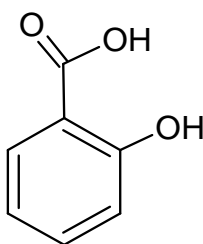


Figura 5. Fórmula estrutural do ácido salicílico

O ácido salicílico é tão irritante que pode ser utilizado apenas externamente; vários derivados desse ácido foram sintetizados para uso sistêmico. O ácido acetilsalicílico, por exemplo, é um éster do ácido acético. Os salicilatos (derivados do ácido salicílico) são, geralmente, utilizados para aliviar dores de cabeça, mialgias e artralrias. Os salicilatos são os mais amplamente utilizados para o alívio da dor que qualquer outra classe de fármacos. Eles aliviam a dor em virtude de uma ação periférica, mas efeitos diretos sobre o SNC também podem estar envolvidos.

#### 3.4.4.3 Cetoprofeno

O cetoprofeno é um pó um granulado branco, sem higroscopicidade, é inodoro, insípido e irritante. Quimicamente é denominado ácido 2-(3-benzoilfenil) propiônico. Sua fórmula molecular é  $C_{16}H_{14}O_3$ , correspondendo a uma massa molecular de  $254,29 \text{ g mol}^{-1}$ , a fórmula estrutural do cetoprofeno é apresentada na figura 6. O cetoprofeno é um ácido fraco, com uma constante de dissociação (pKa) compreendida entre 4,23 e 5,02. Pouco solúvel em água e solúvel em grande parte dos solventes orgânicos (acetona, acetato de etila, benzeno, clorofórmio, éter, etanol).

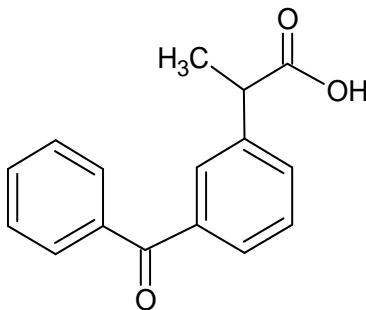


Figura 6. Fórmula estrutural do cetoprofeno

As propriedades farmacológicas do cetoprofeno são iguais às propriedades farmacológicas dos outros derivados do ácido propiônico (ibuprofeno e naproxeno). Estes

compostos são aprovados para uso no tratamento sintomático da artrite reumatoide, osteoartrite, espondilite anquilosante e artrite gotosa aguda, sendo usados também como analgésicos na tendinite aguda e na bursite.

#### 3.4.4.4 Diclofenaco

O 2-[(2,6-diclofenil)amino]benzoacetato de sódio, mais conhecido por diclofenaco sódico é um potente inibidor competitivo reversível da atividade da ciclooxigenase que se apresenta como pó cristalino branco a levemente amarelado, pouco higroscópico, com peso molecular de  $318,13 \text{ g mol}^{-1}$ . Sua fórmula molecular é constituída por  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{NNaO}_2$ , possui pka 4, levemente ácido, e ponto de fusão ( $^{\circ}\text{C}$ ): 283-285, sua fórmula estrutural é apresentada na figura 7. O diclofenaco sódico é levemente solúvel em água, facilmente solúvel em metanol, solúvel em etanol, ligeiramente solúvel em acido acético glacial, pouco solúvel em acetona, praticamente insolúvel em éter, clorofórmio e tolueno.

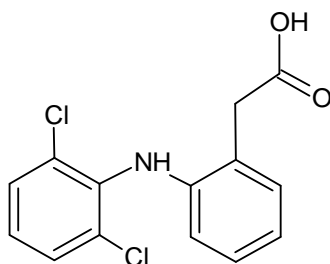


Figura 7. Fórmula estrutural do diclofenaco

O diclofenaco é um AINE amplamente utilizado, possui atividade analgésica, antipirética e anti-inflamatória. Sua potência contra a COX-2 é substancialmente maior que a do naproxeno e de vários outros. O tratamento crônico com diclofenaco pode levar a riscos cardiovasculares. Possui rápida absorção e tem como efeitos colaterais a longo prazo artrite reumatoide, além de efeitos sobre o SNC, reações alérgicas, entre outros.

#### 3.4.4.5 Dipirona

A dipirona ou metamizol é, conhecido quimicamente como ácido 1-fenil-2,3-dimetil-5-pirazolona-4-metilaminometanossufônico, é usado na forma de sal sódico ou de magnésio. A dipirona apresenta-se como um pó cristalino, quase branco e inodoro. Solúvel em água e

ligeiramente em álcool, e é insolúvel em éter e em clorofórmio. Sua fórmula molecular é  $C_{26}H_{34}N_6O_8S_2Na$  e, sua fórmula estrutural é apresentada na figura 8.

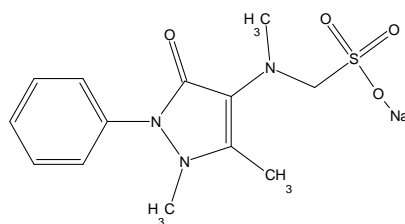


Figura 8. Fórmula estrutural da dipirona

A dipirona é um derivado da pirazolona, juntamente com fenilbutazona, fenazona e aminopirina. Por muito tempo esses compostos foram utilizados por muitos anos, porém foram abandonados pela sua propensão a causar agranulocitose irreversível, atualmente a dipirona já foi reintroduzida e é muito utilizada pela população, pois estudos epidemiológicos sugeriram que o risco de efeitos adversos era similar ao do acetaminofeno e menor do que o do ácido acetilsalicílico.

#### 3.4.4.6 Ibuprofeno

O ibuprofeno, também denominado de ácido p-isobutilhidratrópico é o nome do ácido iso-butil-propano-fenólico. É classificado como anti-inflamatório não esteroide (AINE), sendo esse o primeiro AINE derivado do ácido fenilpropionico a ser utilizado para uso geral. Possui ação anti-inflamatória, antirreumática, antipirética e analgésica. É um pó branco, com um leve odor característico, sendo praticamente insolúvel em água, mas solúvel em soluções aquosas diluídas de hidróxidos alcalinos e de carbonatos, e também em alguns solventes orgânicos como a acetona, o álcool etílico, o éter, o diclorometano e o clorofórmio. Sua fórmula molecular é  $C_{13}H_{18}O_2$  e sua fórmula estrutural é apresentada na figura 9.

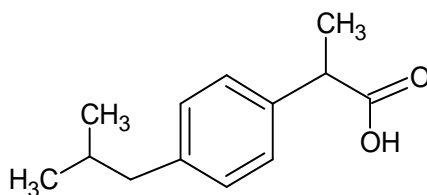


Figura 9. Fórmula estrutural do ibuprofeno

O ibuprofeno é considerado bem mais tolerado que o ácido acetilsalicílico e a indometacina e já foi utilizado em pacientes com história de intolerância gastrointestinal aos outros AINEs. Seus efeitos adversos incluem cefaleia, tonturas, visão borrada e, em poucos casos, retenção de líquido e edema.

#### 3.4.4.7 Naproxeno

O naproxeno é um pó cristalino branco ou quase branco, com sabor amargo e cheiro pouco ativo. Sua fórmula molecular é  $C_{14}H_{14}O_3$  o que corresponde a uma massa molecular de  $230,3 \text{ g mol}^{-1}$ , sua fórmula estrutural é apresentada na figura 10. É solúvel em álcool, clorofórmio e metanol, praticamente insolúvel em água. Funde entre  $154$  e  $158 \text{ }^\circ\text{C}$  e apresenta um pKa de  $4,2$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

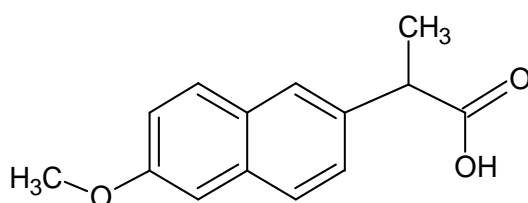


Figura 10. Fórmula estrutural do naproxeno

O naproxeno é absorvido quando administrado via oral. As concentrações plasmáticas de pico ocorrem em 2 a 4 h e são alcançadas um pouco mais rapidamente após administração de naproxeno sódico. Sua meia-vida no plasma é variável: cerca de 14 h no jovem, mas podendo aumentar aproximadamente 2 vezes no idoso, por causa do declínio da função renal relacionado com a idade. Os metabólitos do naproxeno são excretados quase inteiramente na urina. Seus efeitos sobre o SNC variam desde sonolência, dor de cabeça, tonturas e suores até fadiga, depressão e ototoxicidade.

#### 3.4.4.8 Cafeína

A cafeína pertence à família química dos alcaloides, com fórmula molecular  $C_8H_{10}N_4O_2$  e peso molecular de  $194,19 \text{ g mol}^{-1}$ , sua fórmula estrutural é apresentada na figura 11. A cafeína apresenta um ponto de fusão de  $238^\circ \text{C}$ . A sua densidade é de  $1,23 \text{ g (cm}^3\text{)}^{-1}$  e apresenta uma volatilidade de 0,5%. Caracteriza-se por ser um pó branco, cristalino, com sabor muito amargo, sem cheiro e com aspecto brilhante. Pode-se dizer que a cafeína é estável

em condições normais de temperatura e pressão. É incompatível com ácidos fortes, bases fortes, água com cloro e, com oxidantes fortes, há perigo de explosão e fogo.

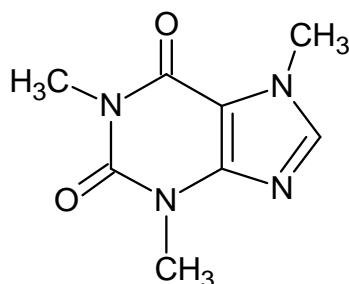


Figura 11. Fórmula estrutural da cafeína

A cafeína é um estimulante suave e a droga psicoativa mais consumida no mundo todo. Está presente em refrigerantes, café, chá, cacau, chocolate e em vários fármacos vendidos com e sem prescrição médica. A cafeína aumenta ligeiramente a liberação de norepinefrina e dopamina e exacerba a atividade neuronal em várias áreas do cérebro. A cafeína é absorvida pelo trato digestivo e é rapidamente distribuída para todos os tecidos e pode atravessar a barreira placentária facilmente. Muitos dos efeitos da cafeína podem ser atribuídos ao antagonismo competitivo nos receptores de adenosina. Embora a síndrome de abstinência possa ser demonstrada, poucos usuários de cafeína relatam perda do controle de ingestão dessa substância, logo, a cafeína não está incluída no grupo dos estimulantes que causam vício.

### **3.5 PREPARO DE AMOSTRA NA ANÁLISE DE AINES EM AMOSTRAS AQUOSAS AMBIENTAIS**

Com a crescente tecnologia empregada nos equipamentos utilizados para a identificação e quantificação de analitos, que cada vez possuem menores limites de detecção e são capazes de serem específicos e sensíveis aos compostos de interesse em misturas complexas, o foco tem se voltado às metodologias para a preparação de amostras. Esta etapa do procedimento analítico é o que pode demandar mais tempo e ser mais suscetível a erros. Um tratamento pobre de uma amostra ou um extrato mal preparado pode invalidar todo o ensaio, e mesmo o mais poderoso método instrumental não poderá fornecer um resultado válido<sup>60</sup>.

O conceito básico de um método de preparação de amostras é converter uma matriz real em uma amostra adequada para a análise por uma técnica analítica. Isso pode ser

alcançado através da remoção de potenciais interferentes da amostra, pelo aumento da concentração do analito, pela conversão do mesmo a uma forma mais adequada para a detecção ou separação, com o objetivo de alcançar um método robusto e reprodutível, que seja independente das variações da matriz<sup>60</sup>.

Em relação às amostras ambientais aquosas, os principais desafios residem na complexidade da matriz e na baixa concentração dos compostos alvos. Devido a isso, um procedimento de tratamento de amostras normalmente inclui várias etapas tais como, extração, pré-concentração e remoção de interferentes da matriz<sup>61</sup>. De um modo geral, um dos procedimentos mais utilizados para a preparação de amostras aquosas ambientais é a extração em fase sólida (SPE do inglês *Solid Phase Extraction*)<sup>62; 63; 64; 65; 66</sup>, principalmente devido ao baixo consumo de solvente orgânico, altos fatores de concentração e disponibilidade de diversos tipos de adsorventes, o que possibilita a aplicação para uma ampla gama de compostos.

### **3.5.1 Extração em Fase Sólida - SPE**

Sabe-se que a SPE é uma técnica de preparo de amostras que vem em substituição a tradicional extração líquido-líquido (LLE). A SPE é mais seletiva, reprodutível e sua principal vantagem frente à LLE é o baixo consumo de solvente orgânico<sup>14</sup>. A SPE permite a extração, purificação, concentração dos analitos na matrix, além de permitir a troca de solvente. Tem como princípio a retenção seletiva dos analitos presentes em uma amostra aquosa, em um adsorvente denominado de “fase sólida” (FS)<sup>17</sup>.

Em função da constituição química da FS, vários mecanismos de retenção podem ocorrer. Quanto mais específico for o mecanismo de retenção, tanto maior a seletividade e, portanto, maiores as chances de eliminar os interferentes. Portanto a SPE, além de ser o sistema de pré-concentração também poderá fazer às vezes a eliminação de interferentes da matriz.

Porém, antes de passar pelo processo de SPE, a amostra deve ser filtrada para serem eliminados a matéria orgânica suspensa, a qual pode vir a interferir na eficiência da extração. Geralmente para evitar a perda de eficiência, são utilizados filtros de membranas com porosidade de 0,2 a 0,7  $\mu\text{m}$ . Dependendo dos compostos de interesse ocorre também o ajuste prévio do pH para que o equilíbrio esteja deslocado ou para a forma protonada ou desprotonada do analito de interesse.

O processo de SPE pode ocorrer de duas formas: i) na forma “online”, quando o sistema de SPE está ligado diretamente ao sistema cromatográfico de análise ou, ii) na forma



“off-line”, quando o processo de SPE é realizado separadamente do processo de análise. O processo de SPE off-line é realizado em um cartucho de SPE onde a FS é colocada dentro de um cartucho que pode ser de teflon ou vidro, entre dois frits que tem como função reter a fase sólida, o que pode ser melhor visualizado na figura 12.

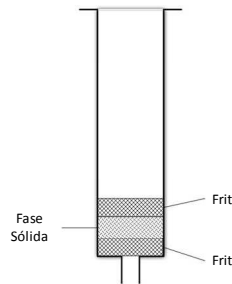


Figura 12. Esquema de um cartucho de SPE

Genericamente, as principais etapas de um procedimento de SPE são:

- I. Condicionamento da FS
- II. Percolação da amostra
- III. Eliminação de interferentes
- IV. Secagem da FS, normalmente com fluxo de nitrogênio, para eliminar a água presente no sistema.
- V. Eluição dos analitos de interesse por um solvente orgânico.

A Figura 13 apresenta um esquema geral destas etapas.

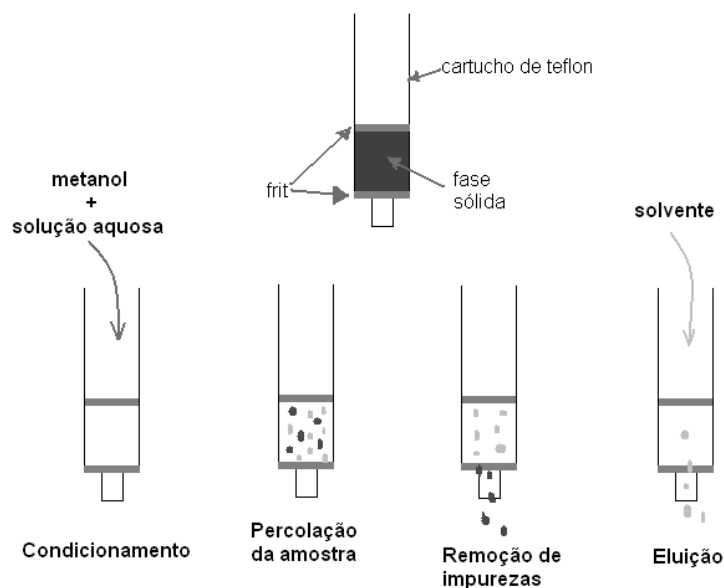


Figura 13. Esquema geral das etapas do procedimento de extração em fase sólida.

A etapa de condicionamento tem como objetivo solvatar os sítios que irão efetivamente interagir com os analitos de interesse e que estão na superfície da FS. Para o condicionamento, diversos solventes e/ou mistura de solventes bem como soluções tampão, básicas ou ácidas, podem ser utilizadas, dependendo das características do analito de interesse. A escolha do melhor condicionante irá depender do mecanismo de retenção envolvido. A etapa de percolação é quando se passa a amostra pela FS de modo que os analitos de interesse fiquem retidos enquanto que os interferentes passem direto. A etapa de remoção de interferentes poderá existir ou não, dependerá da matriz e dos analitos. Por último tem a etapa de eluição dos analitos de interesse. Da mesma forma que na etapa de condicionamento, várias opções podem ser utilizadas, dependendo do mecanismo de retenção e conseqüentemente do mecanismo de dessorção utilizado para a pré-concentração dos analitos<sup>60</sup>.

Atualmente, existe um grande número de FS disponíveis comercialmente, as quais são cada vez mais específicas e seletivas para diferentes classes de compostos<sup>67</sup>. A grande diversidade vai desde FS com sílicas quimicamente modificadas (figura 14) com grupos n-álquil (C-8, C-18), até sorventes mais seletivos como os de troca iônica e os polímeros de impressão molecular (MIPs)<sup>17</sup>. O mecanismo de retenção dos analitos na fase sólida varia de acordo com as características de cada composto, podendo estar baseado em diferentes tipos de interações.

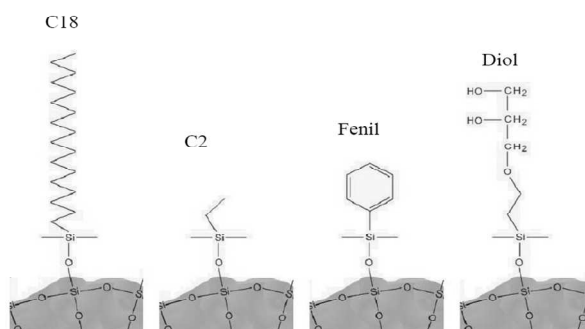


Figura 14. FS com sílicas quimicamente modificadas

Atualmente, as FS poliméricas são as mais utilizadas para extração de fármacos e outros contaminantes orgânicos em amostras aquosas, por serem capazes de reter analitos de uma faixa muito grande de polaridade e, também, por ser possível trabalhar em uma faixa considerável de pH.

Sabe-se que a FS Oasis HLB (*Waters*) é uma das mais utilizadas para extrair resíduos de fármacos polares e apolares simultaneamente de matrizes aquosas, pois se trata de um adsorvente de balanço hidrofílico-lipofílico e, assim, permitir o desenvolvimento de métodos multirresíduos trabalhando com um pH neutro<sup>68</sup>, característica esta que simplifica o processo de preparo da amostra.

Outra FS utilizada na análise de fármacos em amostras aquosas é a FS Strata X (Phenomenex) de fase polimérica reversa, a qual foi utilizada em alguns trabalhos<sup>69; 70</sup> os quais obtiveram bons resultados, sendo que o seu menor custo e a maior área superficial (>700 m<sup>2</sup>/g) sejam uma alternativa adequada à FS Oasis HLB<sup>71</sup>. A estrutura da FS Oasis HLB, bem como a Strata X são mostradas na Figura 15.

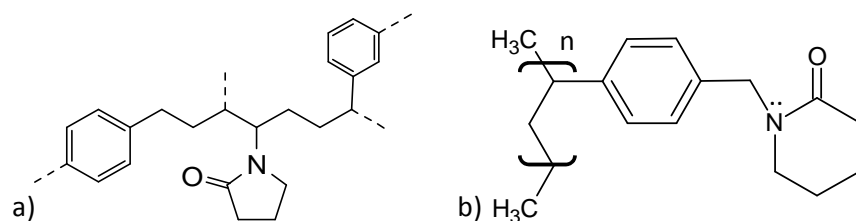


Figura 15. Estrutura da FS Oasis HLB (a) e Strata X (b)

O delineamento de um procedimento de SPE tem por objetivo definir as melhores condições no que diz respeito ao que poderá ser utilizado em cada etapa em termo de solvente e/ou mistura de solventes, bem como a FS mais adequada para um determinado conjunto de analitos de interesse sem deixar de lado a matriz. Por sua vez, a matriz desempenha um importante papel na SPE, pois a definição dos parâmetros mencionados poderá mudar de forma significativa dependendo da complexidade da mesma. Por exemplo, se o objetivo é determinar anti-inflamatórios em efluente urbano, não basta apenas definir as melhores condições para a pré-concentração deste analitos em água, mas a avaliação deverá ser estendida também para os analitos na matriz que serão efetivamente analisados. Um dos parâmetros que pode ser mais afetado é o volume de quebra (VQ). O VQ é definido como o volume máximo de amostra que pode ser processado com a melhor recuperação possível. Ao utilizarmos volumes superiores ao volume de quebra para dado sistema de SPE a perda da recuperação ocorre quando mesmo o fraco eluente aquoso efetivamente começa a eluir a amostra ou quando ocorre a sobrecarga do cartucho por outros componentes da amostra<sup>60</sup>.

Resumindo, a sistematização de um procedimento de SPE, deve avaliar os seguintes parâmetros: (1) fase sólida; (2) solvente e volume de solvente para o condicionamento; (3)

volume de quebra; (4) necessidade ou não da etapa de remoção de interferentes e solvente e volume do sistema utilizado para a eluição. No caso do sistema utilizado para a eluição, a técnica instrumental que será posteriormente utilizada para analisar os analitos também deverá ser considerada.

Os sistemas de SPE que tem sido descritos na literatura para a pré-concentração de anti-inflamatórios em amostras aquosas, são apresentados no Anexo 2.

### 3.5.2 A Reação de Derivatização

Idealmente, em uma análise química, se busca avaliar os analitos em sua estrutura original, porém, muitas vezes estes não se encontram em uma forma adequada para a técnica analítica a ser utilizada. A derivatização é um processo químico que modifica a estrutura do analito gerando novos produtos com a finalidade de melhorar o perfil cromatográfico<sup>72</sup>. Compostos com baixa volatilidade, elevada polaridade e baixa estabilidade térmica são difíceis de serem analisados por cromatografia a gás (GC), logo, precisam passar pelo processo de derivatização, ou seja, a transformação do analito de interesse em um derivado possível de ser analisado<sup>73</sup>.

Compostos que contém grupos funcionais tais como carboxila (-COOH), hidroxila (-OH), tiol (-SH), amino (-NH<sub>2</sub>) e imino (=NH) são de difícil análise por GC, pois não apresentam volatilidade suficiente além da possibilidade de interações com os grupos silanóis remanescentes da fase estacionária ou até mesmo com as impurezas do sistema cromatográfico, resultando em pior resolução bem como menor detecção<sup>72</sup>. Essa interação irreversível faz com que haja dispersão da amostra na coluna, gerando picos não gaussianos (com cauda), de tal forma que concentrações muito baixas dos analitos na amostra ocasionam a perda do mesmo<sup>74</sup>.

A derivatização é a substituição dos hidrogênios livres ativos das funções químicas citadas (funções polares) por grupamentos mais apolares que não apresentem a característica de formação de ligações de hidrogênio. Essa substituição resulta em modificações da estrutura química do analito e também do perfil de fragmentação do mesmo, possibilitando assim a análise por GC e GC-MS (cromatografia a gás acoplada a um espectrômetro de massas). Com isso, a introdução de alguns elementos ou grupos através de derivatização química pode aumentar a resposta do detector ou gerar espectros de massa úteis para a elucidação das características estruturais dos analitos e também, melhorar a detecção dos analitos em matrizes complexas<sup>75</sup>.

Embora propicie excelentes vantagens para análises químicas, as reações de derivatização possuem alguns aspectos a serem considerados, como por exemplo, a possibilidade de gerar múltiplos derivados, que são formados a partir de reações de derivatização incompletas de compostos multifuncionais<sup>75</sup>, adição de custos a análise, possibilidade de introduzir impurezas, incerteza sobre a integridade da conversão dos analitos<sup>74</sup>, além de aumentar a possibilidade de erros devido adição de etapas no procedimento analítico. Porém, mesmo tendo algumas implicações, essas reações melhoram a especificidade, a precisão, a sensibilidade, a reprodutibilidade e a linearidade do método<sup>76</sup>, fazendo com que tal técnica seja largamente utilizada em análises de compostos por GC e GC-MS.

Para que a reação de derivatização tenha sucesso e seja eficiente, deve-se obter um único derivado para cada composto a ser analisado; a reação deve ser rápida e simples dentro de condições estabelecidas; deve apresentar alto rendimento, ter boa reprodutibilidade; ser estável no meio reacional e a curva de calibração deve ser linear<sup>75</sup>. Além disso, a eficiência do processo depende do tipo de amostra, da estrutura química dos analitos, do tempo e da temperatura de reação, da natureza dos reagentes e solventes, das características do meio reacional e do sistema de detecção utilizado<sup>77</sup>. Outro fator determinante é a escolha do reagente de derivatização a ser utilizado, esta escolha deve ser baseada na estrutura (grupos funcionais) do analito e em suas propriedades químicas.

Os AINEs, geralmente, apresentam em sua estrutura hidrogênios ativos os quais prejudicam as propriedades desses compostos para análise por GC-MS. Dentre os diferentes processos de derivatização utilizados para a análise de AINEs em amostras aquosas ambientais, a sililação é um dos processos mais utilizados.

### **3.5.2.1 Reação de Sililação**

A sililação é o método mais comumente utilizado na derivatização de compostos orgânicos que possuem hidrogênio ativo, sendo que compostos de trimetilsilil (TrMSi) são os mais utilizados<sup>78</sup>. Essas reações caracterizam-se por serem simples, rápidas, reprodutíveis, em única etapa e por apresentarem alto rendimento sobre condições brandas. Ao realizar uma sililação, bloqueia-se sítios próticos, havendo uma redução de interações do tipo dipolo-dipolo, elevando a volatilidade dos compostos, resultando em picos estreitos e simétricos<sup>8; 78</sup>. Os produtos têm sua polaridade reduzida (o que significa um decréscimo nas interações dipolo-dipolo), há um acréscimo na volatilidade do composto, na estabilidade térmica do

mesmo, além de aumentar a sensibilidade e seletividade em análises traços por monitoramento de íons (SIM)<sup>77; 78</sup>.

O mecanismo de reação é via substituição nucleofílica de segunda ordem (S<sub>N</sub>2), onde o par de elétrons do heteroátomo mais eletronegativo, por exemplo, oxigênio, nitrogênio ou enxofre, ataca o átomo de silício do grupo silil pela região de menor impedimento estérico, produzindo um estado de transição bimolecular. O grupo de saída (X) deve possuir baixa basicidade - habilidade de estabilizar uma carga negativa no estado de transição - e pouca ou nenhuma tendência para retro-ligação π(p-d) com o átomo de silício. Além disso, o grupo de saída ideal deve ser tal que rapidamente saia do estado de transição durante a reação, além de possuir estabilidade química suficiente para permitir o armazenamento do derivatizante em longo prazo para o uso quando necessário. Como a formação do estado de transição é reversível, a substituição somente irá ocorrer se a basicidade do grupo de saída X for maior que a do grupamento da amostra<sup>78</sup>. A reação genérica desse processo pode ser melhor visualizada na figura 16.

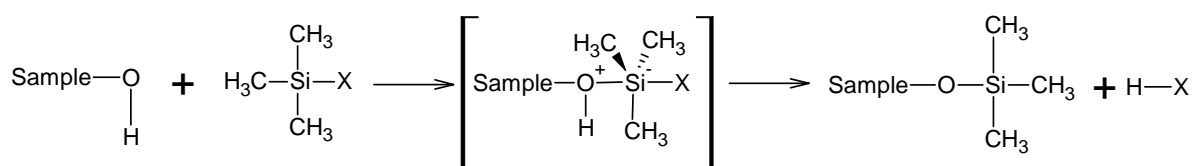


Figura 16. Mecanismo genérico da reação de sililação, onde X varia de acordo com os diferentes reagentes derivatizantes<sup>79</sup>.

A facilidade de derivatização de diferentes grupos funcionais com um agente sililante segue a ordem: alcoóis > fenóis > ácidos carboxílicos > aminas > amidas. Dentro dessa sequência de reatividade, também pode haver influência de impedimentos estéricos da estrutura do analito; portanto, grupos primários reagem mais rapidamente que grupos secundários, os quais reagem mais rápido que grupos terciários<sup>8; 78</sup>.

Quanto às condições práticas, deve-se ter atenção ao fato de que todos reagentes sililantes e seus respectivos derivados são sensíveis ao efeito hidrolítico. Consequentemente, as reações devem ser realizadas em frascos selados e com derivatizante em excesso. A escolha do solvente da reação também é um fator importante a ser estudado. Como a sililação ocorre em hidrogênios ativos, deve-se evitar solventes próticos. Em alguns casos, o próprio agente sililante pode ser empregado como solvente. Entre os solventes comumente empregados, destacam-se: piridina, hexano, isoctano, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, tetrahydrofurano

e acetonitrila. Geralmente emprega-se aquecimento do sistema para favorecer uma derivatização efetiva<sup>78</sup>.

Para aplicação da sililação em diversos compostos polares de diferente reatividade, vários agentes sililantes foram desenvolvidos, variando o poder silil-doador de cada reativo. Geralmente, para análises via GC, adiciona-se, em compostos polares, grupos trimetilsilila (TrMSi) ou tert-butil(dimetil)silila (TBDMS). Quando se deseja obter derivados-TrMSi, os agentes sililantes rotineiramente empregados são trimetilclorosilano (TMCS), N,O-bis(trimetilsilil)acetamida (BSA), N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA), N-trimetilsililimidazol (TMSIM), hexametilsililazano (HMDS) e N-metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MSTFA), além de misturas entre eles, com o intuito de, ou catalisar as reações, ou derivatizar moléculas complexas. E, quando se almeja derivados-TBDMS como produto, aplica-se, em geral, os reativos tert-butil(dimetil)clorosilano (TBDMCS), N-tert-butil(dimetil)sililimidazol (TBDMSIM) e N-tert-butil(dimetilsilil)-N-(metil)-trifluoroacetamida (MTBSTFA), ou a mistura deles para reação com moléculas de maior complexidade<sup>8</sup>.

Entre os agentes sililantes aplicados quando se deseja obter derivados-TrMSi, o MSTFA se destaca por ser mais volátil que o BSA e o BSTFA, apesar de possuir similar poder silil-doador que ambos. Para aumentar o poder de sililação do MSTFA, pode-se usar catalisadores, como o TMCS e o imidazol<sup>8</sup>. O derivatizante MSTFA e o catalisador imidazol estão apresentados na figura 17.



Figura 17. Fórmula estrutural do derivatizante MSTFA (a) e do catalisador imidazol (b).

Além da aplicação em química analítica, as reações de derivatização são amplamente empregadas em métodos de síntese com o objetivo de proteger grupos funcionais, conforme descrito na literatura<sup>80</sup>.

### **3.5.2.2 Derivatização de AINEs**

A análise de anti-inflamatórios por GC-MS somente é possível através da derivatização prévia dos mesmos. Isso ocorre porque os AINEs são, em sua grande maioria, compostos que possuem em sua estrutura hidrogênios ativos, apresentam uma elevada polaridade e pouca volatilidade. Diferentes agentes derivatizantes são utilizados na análise de anti-inflamatórios em águas residuais, o que é mais bem visualizado no Anexo 3.

### **3.5.3 Análise de AINEs por GC-MS**

#### **3.5.3.1 Métodos Cromatográficos**

Métodos cromatográficos são essencialmente métodos físicos de separação de misturas no qual os componentes a serem separados estão distribuídos entre duas fases, uma estacionária e outra é um fluido, chamada de fase móvel, que se desloca através ou sobre a fase estacionária em uma direção definida<sup>81</sup>. A separação dos componentes da amostra é o resultado de repetidos eventos de sorção/dessorção ao longo da fase estacionária. Separações eficientes requerem uma adequada diferença de força das interações intermoleculares dos componentes da amostra nas duas fases, combinado com uma contribuição favorável das propriedades do sistema de transporte que controlam o movimento da amostra tanto intimamente com as fases quanto entre as fases<sup>82</sup>.

Os vários processos cromatográficos são nomeados de acordo com o estado físico da fase móvel. Dessa forma, por exemplo, quando se utiliza um gás como fase móvel (também conhecido como gás de arraste), chama-se o processo de cromatografia a gás, assim como quando a fase móvel é líquida, designa-se como cromatografia a líquido (LC)<sup>81</sup>. Para escolher entre a GC ou LC como método de separação, devem-se levar em conta alguns aspectos como volatilidade e estabilidade térmica dos analitos a serem analisados. A técnica mais apropriada para as diferentes amostras pode ser melhor visualizada na figura 18.



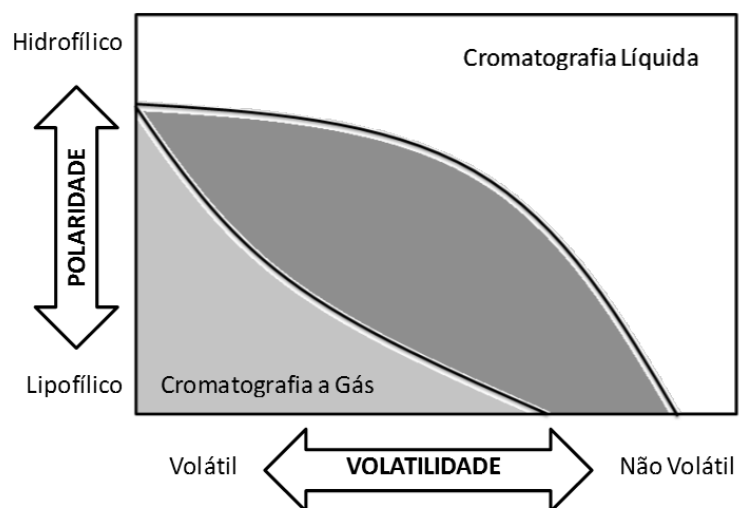


Figura 18. Gráfico da polaridade-volatilidade e os ramos de aplicação de GC e LC<sup>83</sup>.

No que diz respeito ao tipo de analitos estudados neste trabalho (fármacos), a separação por GC ou LC é definida de acordo com as propriedades físico-químicas dos analitos de interesse. Na figura 19 é mostrado um esquema com as técnicas analíticas que podem ser utilizadas para análise de fármacos em amostras aquosas ambientais.

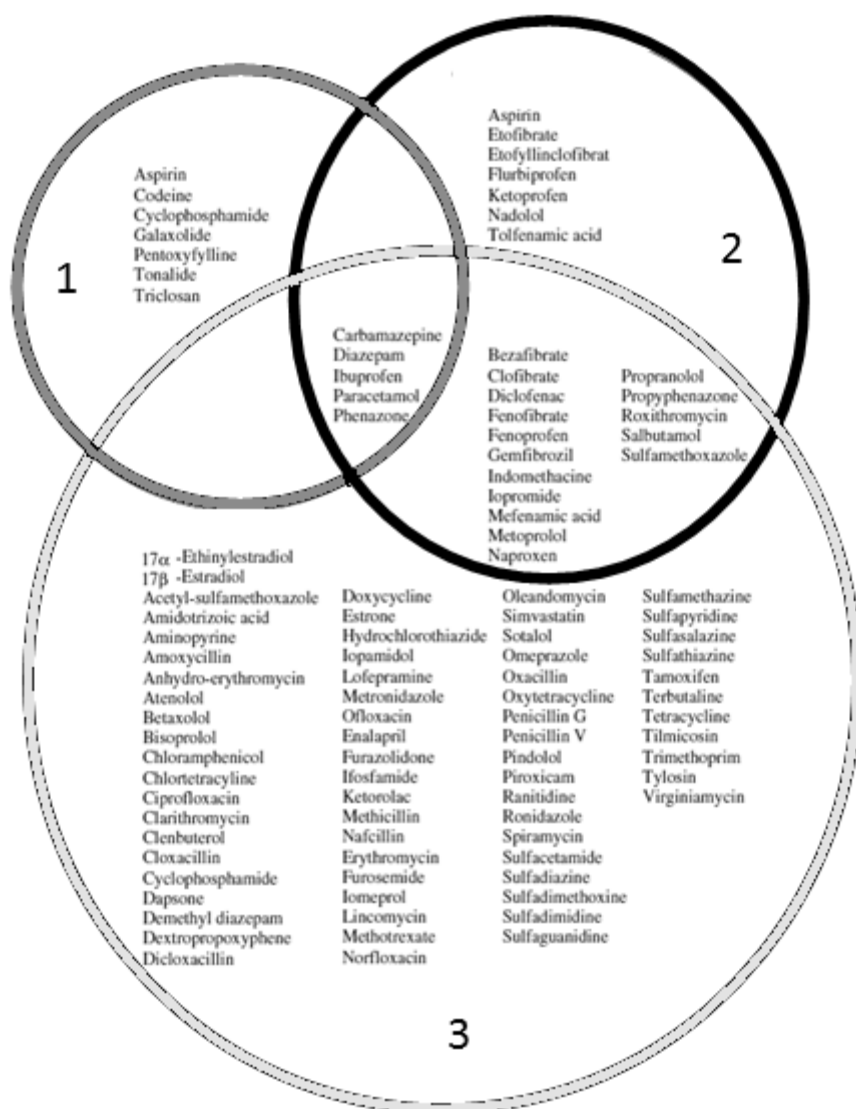


Figura 19. Métodos analíticos aplicados na determinação de fármacos mais comuns em águas ambientais e residuárias<sup>84</sup>, em 1, tem-se fármacos analisados por GC/MS ou GC/MS-MS sem derivatização, em 2, fármacos analisados por GC/MS ou GC/MS-MS após derivatização e, em 3, fármacos analisados por LC/MS e LC/MS-MS

### 3.5.3.2 Cromatografia a Gás

Os AINEs são compostos que podem ser analisados tanto por GC como por LC. Na maioria dos casos, para ser possível a análise por GC, faz-se necessária uma etapa de derivatização descrito anteriormente na sessão 3.5.2. Nesse sistema de análise, a injeção da amostra é realizada majoritariamente em colunas capilares, o injetor mais comumente utilizado é do tipo *split/splitless*, onde no modo *split*, ocorre uma diluição da amostra pelo gás

de arraste, sendo esse modo de injeção interessante quando os compostos de interesse estão em alta concentração. Já no modo *splitless*, não ocorre esta diluição, o que é desejado para a análise em nível de traços, visto que, nesse caso, maiores quantidades de amostra precisam entrar na coluna cromatográfica<sup>73</sup>.

Quanto à fase estacionária, os parâmetros a serem avaliados na sua seleção são: diâmetro interno; comprimento da coluna; espessura do filme; composição da fase estacionária; e o fluxo do gás de arraste. Em geral, observa-se que as colunas capilares com fase líquida são as mais utilizadas. Entre as fases líquidas, destaca-se o uso de policiloxanos e misturas desse polímero com grupos metil, fenil, e ciano, as quais são utilizadas a fim de mudar a polaridade da fase estacionária, fato que sempre deve ser avaliado em função do analito de interesse.

Um artifício geralmente empregado para otimização das condições experimentais é o controle de temperatura da coluna, sendo essa variável uma das mais importantes na GC. Em poucas palavras, o aumento da temperatura da coluna resulta em diminuição dos tempos de retenção, porém pode causar perda de resolução. Contudo, desde que corretamente utilizada, a separação entre compostos pode ser significativamente melhorada usando a programação de temperatura, também conhecida por rampa de aquecimento. Esse método tem como uma das principais vantagens a diminuição do tempo de análise de amostras complexas, mas é necessário cuidado no sentido de que pode ocorrer sangria da coluna a altas temperaturas, é necessário avaliar a estabilidade térmica dos analitos para que não ocorra degradação dos mesmos, além de que se deve considerar o tempo de resfriamento da coluna para próxima análise.

Todavia, quando se deseja identificar e quantificar compostos, apenas a separação deles pela coluna cromatográfica e comparação dos tempos de retenção não é suficiente. É necessário o emprego de um detector. Ao longo da história, sabe-se que aproximadamente 60 detectores já foram utilizados, sendo que 15 destes em cromatógrafos comerciais. Porém, apenas quatro deles, correspondem a maior parte das aplicações, que são: o Detector por Condutividade Térmica (DCT), o Detector por Ionização em Chama (DIC), o Detector por Captura de Elétrons (DCE) e o Espectrômetro de Massas (MS).

Os diferentes detectores, apresentam diferentes características, tem-se os detectores universais, que são aqueles que geram sinais para qualquer substância eluída (DCT e DIC); os seletivos, que detectam substâncias com determinadas características físico-químicas (DCE) e os detectores específicos que detectam substâncias que possuam determinado elemento ou grupo funcional em suas estruturas.

Em geral, para a identificação e quantificação de compostos, utiliza-se a cromatografia acoplada ao espectrômetro de massas, por este permitir uma maior confiabilidade dos resultados visto que se pode caracterizar o composto pelo seu espectro de fragmentação, além do tempo de retenção.<sup>73; 81</sup>

### 3.5.3.3 Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (CG-MS)

A Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS) combina alta resolução com alta seletividade e sensibilidade de detecção na separação de componentes. Seu uso em todas as áreas da ciência tem se estendido principalmente para análises de rotina.

É uma técnica instrumental muito utilizada para auxiliar na elucidação estrutural de moléculas, bem como instrumento analítico para análise de contaminantes ambientais em nível de traços<sup>85</sup>.

A figura 20, apresenta um equipamento de Cromatógrafo a Gás acoplado a um Espectrômetro de Massas (GC-MS).

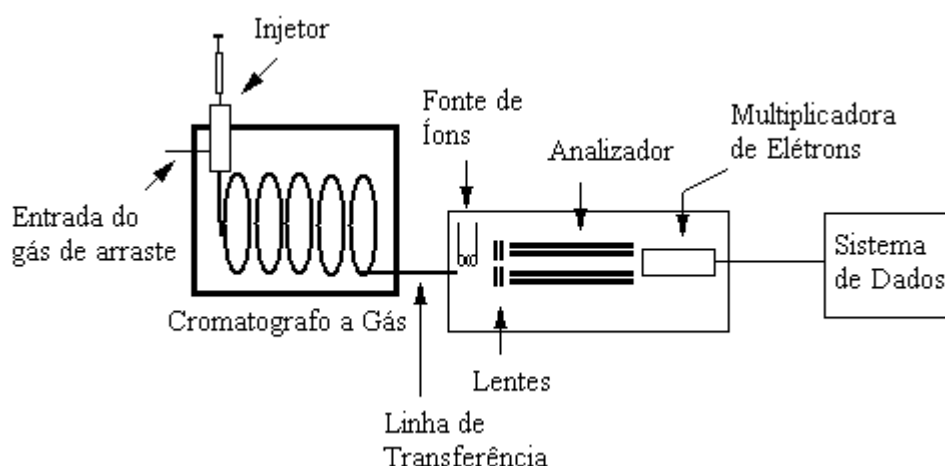


Figura 20. Representação de um Cromatógrafo a Gás acoplado a um Espectrômetro de Massas.

#### 3.5.3.3.1 Funcionamento

Os analitos separados na coluna cromatográfica, passam pela interface entre o GC e o espectrômetro de massas (MS). Os analitos vaporizados são então ionizados, produzindo fragmentos moleculares e/ou íons, os quais são separados em função de sua razão carga/massa ( $m/z$ ) e analisados. Como resultado, cada composto gera um espectro de massas disposto em um gráfico de intensidade relativa dos íons *versus* sua razão carga/massa ( $m/z$ ). Como a maioria dos íons produzidos possui carga +1, os valores de  $m/z$  correspondem as massas dos fragmentos. As intensidade dos íons de todos os valores de  $m/z$ , para cada varredura, são

então somados para gerar um pico cromatográfico chamado de cromatograma do íon total. A figura 21, ilustra os dados tridimensionais gerados por um CG-MS.

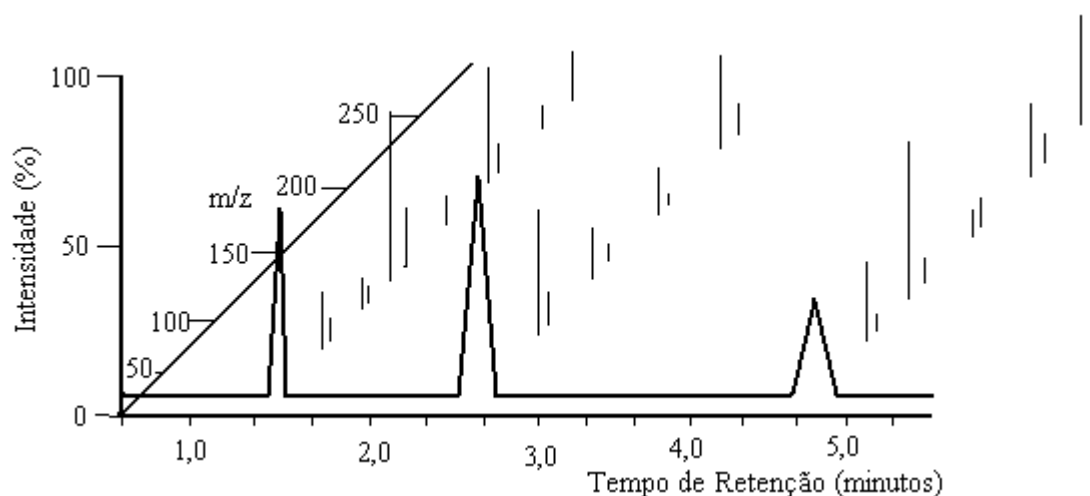


Figura 21. Representação tridimensional dos dados gerados por Cromatógrafo a Gás acoplado a um Espectrômetro de Massas (GC-MS).

Os espectrômetros de massas operam em baixas pressões, na faixa de  $10^{-5}$  a  $10^{-7}$  Torr. A baixa pressão se faz necessária para minimizar colisões íon-molécula sendo que neste ponto o interfaciamento do sistema é muito importante. A cromatografia a gás capilar oferece vantagens adicionais para facilitar este interfaciamento devido ao menor fluxo de gás se comparada com o fluxo das colunas empacotadas.

#### 3.5.3.3.2 Técnicas de Varredura

O espectrômetro de massas é usado para realizar muitas tarefas, incluindo análises de compostos desconhecidos, análises de traços, análises de compostos alvo e medidas de massas precisas, entre outras. Cada uma dessas análises tem um número de requisitos instrumentais, incluindo o modo de varredura.

O mais conveniente método de varredura de massas é a varredura em uma faixa de massas completa. Nesse modo *scan*, o espectrômetro realiza uma varredura sobre uma faixa de massas cobrindo todos os íons moleculares e fragmentados produzidos para uma amostra complexa de múltiplos componentes. Massas menores (50 Da) são excluídas porque podem fazer parte do *background* do ar e do gás de arraste. O limite superior é baseado na volatilidade dos analitos. Muitos compostos acima dessa massa molecular (600 Da), com a exceção de derivados voláteis especificamente preparados, têm pressão de vapor insuficiente para as análises. Por isso, para muitos espectrômetros isso representa o máximo da faixa de

massas ao usar uma coluna capilar, porque o uso de velocidades de varredura de 0.5 *seg/scan* tornam-se mais difíceis acima dessa faixa.

Outro modo de varredura muito utilizado é o monitoramento seletivo de íon (SIM). Nesse método o analisador de massas pode ser programado para amostrar um único valor de  $m/z$  no decorrer da separação cromatográfica. No monitoramento de apenas um  $m/z$ , 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 analito é normalmente escolhido para o monitoramento de  $m/z$ . Ele é também útil para analitos que são parcialmente resolvidos, assim um único íon pode ser escolhido, o qual não é produzido pelas espécies co-eluídas. O controle computadorizado possibilita, em espectrômetros modernos, que a seleção das massas de íons seja mudada durante o curso da separação, facilitando a otimização das análises para todos os componentes individuais na mistura. A análise por SIM sintetiza a seletividade e sensibilidade do GC-MS.

#### **3.5.4 Determinação de AINEs em Matrizes Aquosas Ambientais**

A determinação de AINES por cromatografia a gás, amplamente difundida na literatura, faz uso de uma etapa de derivatização com o objetivo de melhorar o desempenho cromatográfico destes compostos, com isso, a metodologia normalmente utilizada para determinação de AINEs em matriz aquosa ambiental por GC-MS, contempla os seguintes aspectos experimentais:

- coleta da amostra: utilização de frasco de vidro âmbar, e armazenamento da amostra coletada em baixas temperaturas (-20°C – 0°C) para evitar degradação dos analitos;
- filtração: com filtro de fibra de vidro de 0,7 µm, ou, pré-filtração primeiramente com camada de celite e com um filtro de maior porosidade, por exemplo, 1,2 µm, para retirar partículas suspensas e, em sequência, com um filtro de menor porosidade, como 0,45 µm;
- acidificação da amostra: a pH 2 – 3 com ácido clorídrico ou sulfúrico para tornar predominante na amostra os AINEs em sua forma protonada, o que melhora a captura desses compostos na fase sólida e, também, contribui para a realização da reação de derivatização;

- extração/pré-concentração: para preparação da amostra, sendo a SPE a mais utilizada. Para isso, em geral, são empregados, como fase sólida, cartuchos Oasis<sup>®</sup> HLB e Strata<sup>™</sup> X. Essa técnica tem como objetivos principais a limpeza e pré-concentração da amostra;
- derivatização: mais comumente empregada é do tipo sililação. Entre os reagentes sililantes utilizados, destaca-se a utilização de reagentes BSTFA, BSTFA com 1% TMCS, MSTFA, MTBSTFA, MTBSTFA com 1 % TBDMCS. Essa reação tem como variáveis de reação o volume de derivatizante, o solvente empregado, o uso de catalisador, o tempo e a temperatura da reação. Por meio do controle dessas variáveis, pode-se determinar uma condição experimental viável para análise por GC-MS, que é o próximo passo.

Na etapa da análise por GC-MS propriamente dita, constata-se que a maioria dos trabalhos publicados utiliza fase estacionária de 5% difenil dimetilsiloxano<sup>86; 87; 88; 89</sup>, própria para o sistema GC-MS por apresentar baixa ocorrência de sangria. O hélio é utilizado como gás de arraste, com fluxo constante, que varia, nas publicações, de 0,6 à 1 mL.min<sup>-1</sup>. Praticamente todos os trabalhos usam injeção *splitless*, com exceção de SEBÖK, *et. al.*<sup>90; 91</sup>, que utilizaram injeção por meio de vaporização com temperatura programada. Com relação ao volume de injeção, geralmente os trabalhos usam de 1 à 2 µL de amostra, exceto GÓMEZ, *et. al.*<sup>92</sup> que utilizaram 10µL. Além disso, observa-se o uso de programação de aquecimento da coluna para otimização da análise. O analisador de quadrupolo é o mais usado, mas o do tipo captura de íons também é encontrado nas publicações, principalmente quando utiliza-se a técnica de MS/MS. Como se trata de uma amostra com várias substâncias, utiliza-se o modo de análise por SIM e se observa que, normalmente, são escolhidos de 2 a 4 íons na sua programação.

A concentração encontrada nas águas de entrada e saída das ETEs varia de caso para caso. Contudo, é evidente que, na grande maioria, a operação realizada para tratamento do esgoto não foi suficientemente eficaz para remover os fármacos abaixo do limite de detecção do método, que, em grande parte dos estudos, fica na faixa de ng L<sup>-1</sup>.

#### **3.5.4.1 Análise de Resíduos de Fármacos na Literatura: Publicações**

O desenvolvimento de técnicas analíticas capazes de detectar substância orgânicas em níveis de concentração cada vez mais baixos aumentou o interesse na determinação de fármacos, de uma maneira geral, em amostras aquosas ambientais. Este crescimento tem sido significativo e pode ser observado em função do número de publicações cada vez maior com

relação a esse assunto. A figura 22 apresenta o resultado de publicações na base de dados *Scopus* para os últimos dez anos cruzando as palavras-chave *pharmaceutical x water x GC-MS*.

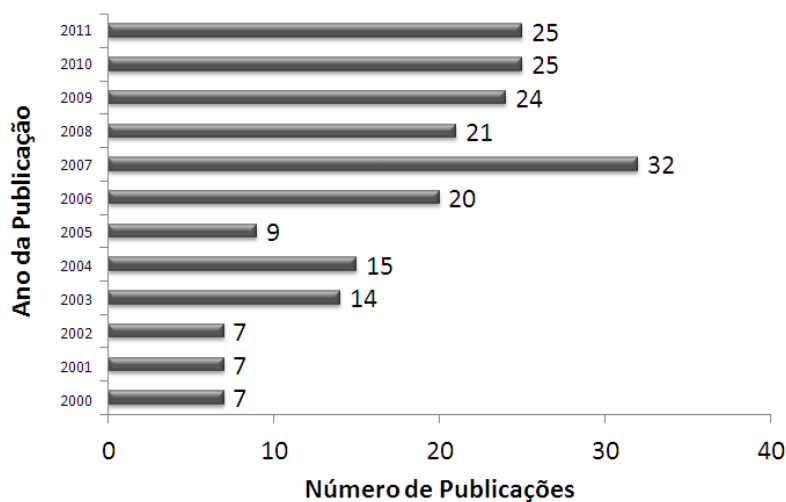


Figura 22. Publicações referentes às palavras-chave *pharmaceutical x water x GC-MS* dos últimos onze anos, pela base de dados *Scopus*.

\*A busca por artigos que resultou no gráfico acima foi realizada no site [www.scopus.com](http://www.scopus.com), no dia 26 de setembro de 2011.

Dentro do grupo dos fármacos, o número de artigos que retratam o estudo de resíduos de anti-inflamatórios também é grande e segue a mesma linha do gráfico anterior, o que é possível visualizar na figura 23, que apresenta um gráfico das publicações dos últimos dez anos, obtido através do cruzamento das palavras-chave *antiinflammatory x water x GC-MS*, utilizando a mesma base de dados.



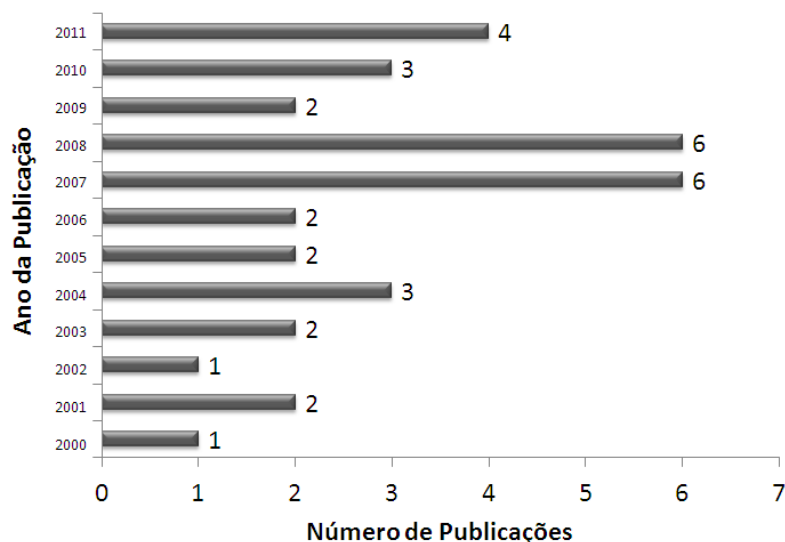


Figura 23. Publicações referentes às palavras-chave *antiinflamatory x water x GC-MS* dos últimos onze anos, pela base de dados *Scopus*.

\*A busca por artigos que resultou no gráfico acima foi realizada no site *www.scopus.com*, no dia 26 de setembro de 2011.

Ainda, buscou-se pelas publicações referentes ao assunto principal do trabalho, que é a ocorrência de AINEs em águas. O Anexo IV traz um apanhado de trabalhos publicados que trazem a análise de AINEs em amostras aquosas ambientais utilizando como método de preparo de amostras a SPE e análise por GC-MS.

### 3.6 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO MÉTODO DESENVOLVIDO

Em análises químicas, a obtenção de resultados totalmente livres de erros e incertezas é muito difícil. Cada operação ou conjunto de operações deve ser realizado de modo adequado e correto para que os resultados gerados tenham validade. Isso permite que, ao final de uma análise química, os resultados possam atender, por exemplo, às exigências de órgãos reguladores nacionais e internacionais. Para garantir, informações seguras e confiáveis realiza-se uma avaliação denominada validação de ensaio químico<sup>93</sup>.

Por validação, entendemos a comprovação, através do fornecimento de evidência objetiva, de que os requisitos para uma aplicação ou itens específicos foram atendidos. É fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para demonstrar, através da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida<sup>94</sup>.

A validação de todo e qualquer método de análise consiste em realizar uma série de testes analíticos e estudos estatísticos, comparando resultados com critérios pré-

estabelecidos<sup>93</sup>. Segundo o documento INMETRO DOQ-CGCRE-008, de 2010, a validação de um método analítico deve incluir especificidade e seletividade, faixa de trabalho e faixa linear de trabalho, linearidade, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e tendência, precisão, robustez e incerteza da medição<sup>94</sup>.

### **3.6.1 Parâmetros de Validação de Metodologia Analítica**

#### **3.6.1.1 Especificidade e Seletividade**

Além do analito que se pretende identificar e/ou quantificar em uma amostra, a matriz a ser analisada possui outros componentes que podem ter algum efeito na medição, mas que não se deseja quantificar. Um método específico produz resposta apenas para o analito, enquanto um método que é capaz de distinguir a resposta de um analito da de outros é chamado seletivo. Entretanto, os termos especificidade e seletividade são frequentemente utilizados indistintamente ou com diferentes interpretações<sup>94</sup>.

O conhecimento e a definição das interferências direcionam as etapas seguintes do método analítico. Normalmente, é o primeiro passo a ser dado no desenvolvimento da metodologia, cuja avaliação pode ser realizada a partir de amostras em branco com e sem adição de analitos sendo medidas para o teste de interferentes. O resultado dessas medições deve ser tratado e avaliado em bases matemáticas<sup>93</sup>.

#### **3.6.1.2 Faixa de Trabalho e Faixa de Trabalho Linear**

Para qualquer método quantitativo, existe uma faixa de concentrações do analito ou valores da propriedade no qual o método pode ser aplicado. A faixa de trabalho para um método é limitada inferiormente pelos limites de detecção e quantificação do método, e superiormente pela resposta do equipamento de medição<sup>94</sup>.

A faixa de trabalho linear de uma metodologia é o intervalo entre os níveis inferior e superior de concentração do analito onde se demonstra a determinação com precisão, exatidão e linearidade exigidas. É a faixa de concentração onde a sensibilidade (resposta do equipamento) pode ser considerada constante<sup>94</sup>.

A faixa de aplicação para a qual o ensaio vai ser utilizado deve estar dentro da faixa de trabalho. A concentração mais provável da amostra deve situar-se preferencialmente no centro da faixa de trabalho. O limite inferior do método deve ser, obrigatoriamente, maior que o limite de detecção, e maior ou igual ao limite de quantificação. Etapas como diluição e concentração devem ser cuidadosamente executadas a fim de evitar a introdução de erros sistemáticos<sup>94</sup>.

### 3.6.1.3 Linearidade

Se uma metodologia de análise é capaz de produzir respostas diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, diz-se que ele possui linearidade<sup>94</sup>.

A correlação linear entre o sinal medido e a concentração da espécie é expressa graficamente por meio da chamada curva analítica, onde a abscissa representa a concentração do analito e a ordenada apresenta o sinal do detector. Para a construção de uma curva analítica, sugere-se a utilização de, no mínimo, seis valores de concentração<sup>93</sup>.

A relação matemática utilizada para o cálculo da concentração dos analitos pode ser obtida usando o modelo conhecido como regressão linear, determinada pelo método dos mínimos quadrados, representada na equação da reta abaixo:

$$y = ax + b \quad (1)$$

onde:

y = resposta medida (absorbância, altura ou área do pico, etc.);

x = concentração;

a = inclinação da curva de calibração – sensibilidade;

b = interseção com o eixo y, quando x = 0.

A linearidade pode ser observada pelo gráfico. Utiliza-se normalmente o coeficiente de correlação linear (r) para indicar se a reta obtida por ser considerada adequada. Um valor maior que 0,90 é, usualmente, requerido<sup>94</sup>.

Pode-se obter a linearidade por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real<sup>94</sup>.

### 3.6.1.4 Padronização Interna

A padronização interna consiste no preparo de soluções padrão com diferentes concentrações conhecidas dos analitos (pontos da curva analítica), nas quais é adicionado uma quantidade conhecida de um composto chamado padrão interno (PI). A análise da curva analítica com a presença do PI permite a construção de um gráfico relacionando a razão das áreas (área do analito / área PI) com a concentração da substância. A amostra também é analisada após a adição da mesma quantidade conhecida do padrão interno<sup>95</sup>.

Idealmente, a substância usada como padrão interno deve ser similar ao analito a ser quantificado, possuir  $t_R$  próximo ao do analito, não reagir com os analitos ou outros

componentes da matriz, não fazer parte da amostra e não co-eluir com nenhuma substâncias presente na amostra. A padronização interna é extremamente útil, especialmente pelo fato de que independe de pequenas variações do sistema experimental e reduz o efeito de matriz<sup>95</sup>.

#### **3.6.1.5 Sensibilidade**

A sensibilidade demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito. É determinada simultaneamente aos testes de linearidade. Depende da natureza do analito e da técnica de detecção utilizada<sup>94</sup>.

#### **3.6.1.6 Limite de Detecção**

Em determinações de nível traço, é importante saber o menor valor de concentração do analito detectável no equipamento. Segundo a IUPAC, limite de detecção (LD) é o resultado único e simples que, associado a uma probabilidade, pode ser distinguido do valor de um branco adequado. Já para o INMETRO<sup>94</sup>, é a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95% ou 99% de confiança de que a concentração do analito é maior que zero. É determinado através de uma análise completa de uma dada matriz contendo o analito. Em cromatografia, normalmente se utiliza o ruído da linha de base para obter o LD, considerando-se que a razão sinal/ruído deve ser 3:1<sup>93</sup>.

#### **3.6.1.7 Limite de Quantificação**

O limite de quantificação é a menor concentração de analito capaz de ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade<sup>94</sup>. Pode ser determinado da mesma maneira que o LD, entretanto com uma razão sinal/ruído de 10:1<sup>93</sup>. Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco)<sup>94</sup>.

#### **3.6.1.8 Exatidão e Tendência**

A exatidão é a concordância entre o resultado encontrado e o valor de referência aceito como verdadeiro. Quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos (tendência)<sup>94</sup>.

Existem várias maneiras de se avaliar a exatidão de um método analítico; através da utilização de material de referência certificados que, quando disponíveis, são preferidos por exibirem relação direta com os padrões internacionais; comparação entre métodos analíticos,

para avaliar o grau de proximidade dos resultados obtidos entre dois métodos, e a avaliação pode ser intra e interlaboratoriais<sup>93</sup>.

#### **3.6.1.9 Precisão**

Precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas. As duas formas mais comuns de expressá-la são por meio da repetitividade e a reprodutibilidade, sendo usualmente expressa pelo desvio padrão<sup>94</sup>.

A repetitividade é a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo analito, efetuadas sob as mesmas condições (procedimento, analista, equipamento, local, em um curto espaço de tempo)<sup>94</sup>.

Já a reprodutibilidade é o grau de concordância de um mensurando sob diferentes condições de análise. Pode-se variar laboratório, operadores, equipamento. É interessante a verificação da reprodutibilidade de um método através de comparação interlaboratorial<sup>94</sup>.

#### **3.6.1.10 Robustez**

A robustez é a capacidade de um método se manter inalterado frente a pequenas variações. O teste de *Youden* é o mais utilizado para determinar se uma metodologia analítica é robusta<sup>94</sup>.

#### **3.6.1.11 Incerteza da Medição**

Estudos de validação geram dados que devem comprovar o desempenho adequado do método, além dos fatores que individualmente influenciam as possíveis variações a que o método é suscetível. Esses dados podem ser tratados de forma a gerarem uma estimativa da incerteza associada ao método, quando esse se encontra em rotina<sup>94</sup>.

### **3.7 TRATAMENTO DE EFLUENTES URBANOS NO BRASIL**

De um modo geral, no Brasil, em torno de 20% do efluente doméstico passa por uma ETE<sup>96</sup>. Em Porto Alegre este mesmo valor é o que se tem atualmente, sendo que a meta para 2015 é de que 70% do efluente urbano esteja totalmente canalizado e boa parte seja tratado<sup>97</sup>. Estes dados mostram a grande importância deste assunto, principalmente se compararmos com o cenário mundial, em que no caso da maioria dos países desenvolvidos, o tratamento de águas residuárias chega a 100%.

Em termos de processos utilizados para tratamento de águas residuárias estes são bastante conhecidos e amplamente descritos na literatura. Na tabela 7, estes processos são apresentados de forma resumida, pois o escopo deste trabalho não está centrado na abordagem dos mesmos, mas apenas na utilização das amostras geradas por eles.

Tabela 7. Níveis de tratamento, descrição e exemplos de processos utilizados para o tratamento de águas residuárias

Nível do Tratamento	Descrição <sup>98</sup>	Exemplos de Processos <sup>98; 99</sup>
Tratamento preliminar	Remoção de sólidos grosseiros, constituintes do efluente como trapos, pedaços de madeira, graxa e outros materiais flutuantes, que podem causar problemas operacionais e de manutenção. Realizado com filtros resistentes colocados na entrada da ETE.	Gradeamento, sedimentação, peneiramento, separação água-óleo.
Tratamento primário	Remoção através de operação física, geralmente sedimentação, de uma porção dos sólidos em suspensão e matéria orgânica.	Filtração, flotação, separação de partículas discretas, precipitação química, clarificação de efluentes.
Tratamento primário avançado	Remoção aprimorada de sólidos suspensos e matéria orgânica do efluente. Tipicamente, compostos químicos são adicionados ou é realizada filtração.	Lodos ativados convencionais e suas variantes: aeração prolongada, lagoas aeradas facultativas; processos anaeróbios, como lagoas e biodigestores anaeróbios.
Tratamento secundário	Remoção de matéria orgânica biodegradável (suspensa e em solução) e sólidos suspensos, através de processos biológicos e químicos. Desinfecção também está incluída na definição de tratamento secundário convencional.	Radiação ultravioleta, cloração, ozonização,
Tratamento terciário	Remoção de sólidos suspensos residuais (que restaram depois do tratamento secundário), usualmente por filtração granular média ou <i>microscreens</i> (filtros mecânicos com tamanho de poro de 10 – 100 µm). Desinfecção e remoção de nutrientes restantes também fazem parte desta etapa.	Osmose reversa
Tratamento avançado	Remoção de materiais sólidos e dissolvidos remanescentes depois do tratamento biológico normal quando necessário para várias aplicações de reutilização da água.	

O processo secundário mais utilizado é o de lodo ativado, que com frequência é empregado no tratamento biológico de águas residuárias domésticas e industriais<sup>98</sup>. A primeira referência que se tem do estudo desse processo remonta ao início dos anos 1880, quando a investigação de efluentes em tanques e a crescente oxidação da matéria orgânica nessa condição foi investigada por Angus Smith<sup>98</sup>.

Este processo de tratamento por lodo ativado consiste, por definição, dos seguintes componentes: um reator no qual os microrganismos responsáveis pelo tratamento são mantidos suspensos e aerados; separação sólido-líquido, geralmente por sedimentação, em um tanque, e reciclagem do sistema pelo retorno dos sólidos removidos na sedimentação ao reator<sup>98</sup>. Existem numerosas configurações possíveis para esses três componentes.

Geralmente, lodos ativados são usados conjuntamente com tratamentos preliminares e primários, tanto físicos quanto químicos, e pós-tratamento, como desinfecção. Historicamente, a maioria das plantas de lodos ativados possui um tanque de sedimentação anterior ao tanque de aeração<sup>98</sup>, o que não é observado no caso da ETE em estudo. Em locais que possuem períodos de clima quente, podem ocorrer problemas com odores no caso da utilização deste pré-tanque<sup>98</sup>, o que possivelmente justifica a supressão desta etapa.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS E SOLVENTES

Os seguintes reagentes, solventes e padrões foram utilizados neste trabalho:

- Reagentes: N-Metil-N-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (MSTFA, Sigma-Aldrich), em ampolas de 1 mL; MSTFA ativado III (~5% imidazol, Sigma-Aldrich) em frasco âmbar de 5 mL; ácido sulfúrico (Merck);

- Padrões de AINEs: acetoaminofeno, ácido salicílico, cetoprofeno, diclofenaco, dipirona, ibuprofeno, e naproxeno foram doados pela empresa *Multilab Indústria e Comércio de Produtos Farmacêuticos Ltda, Calabash Farmácia de Manipulação e Laboratório Industrial e Farmacêutico Lifar LTDA*;

- Solventes: acetonitrila (*Tedia Company*), isoctano (*Mallinckrodt Chemicals*); metanol (*Tedia Company*) todos grau cromatográfico e acetona comercial; acetona grau p.a. (*ALZ Laboratórios*); água destilada; hexano grau p.a. (*Mallinckrodt Chemicals*), e água ultra pura, com resistividade controlada em  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$  (*Milli-Q Plus, Millipore*);

- Cartuchos de SPE: Strata X (*Phenomenex*) de fase polimérica (33  $\mu\text{m}$ , 200 mg, 6 mL); Oasis HLB (*Waters*) com características hidrofílicas e lipofílicas (0,25  $\mu\text{m}$ , 200 mg, 6 mL).

### 4.2 SOLUÇÕES

As soluções padrão individuais de cada analito (acetoaminofeno, ácido salicílico, cetoprofeno, diclofenaco, dipirona, ibuprofeno, naproxeno e cafeína) foram preparadas pesando-se aproximadamente 5 mg de cada padrão (concentração em torno de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  em acetonitrila (ACN)). Contudo, para solubilizar os padrões de diclofenaco, dipirona, naproxeno e cafeína nesse solvente, foi necessário adicionar gotas de metanol. Essas soluções foram estocadas à 4 °C ao abrigo da luz.

As soluções padrão mistas de trabalho foram preparadas a partir da diluição das soluções padrão individuais. Para isso, foi transferida uma alíquota de cada solução padrão individual para um balão de 10 mL. O solvente foi evaporado com o uso de nitrogênio (99,999% de pureza) e a solução reconstituída no solvente desejado (ACN ou isoctano). A total evaporação dos solventes nesse processo mostrou-se uma etapa determinante por dois motivos: i) na troca do solvente, acetonitrila e isoctano não são miscíveis e ii) o metanol adicionado em algumas soluções padrão individuais, se não evaporado completamente, pode

reagir com o agente derivatizante competindo com o analito de interesse, na etapa de derivatização.

## **4.3 MÉTODOS**

### **4.3.1 Extração em Fase Sólida – SPE**

O método de SPE utilizando cartuchos contendo fase sólida polimérica reversa (Strata X, Phenomenex), passou pelo seguinte procedimento. Para o condicionamento utilizou-se 5 mL de metanol seguido de 5 mL de água ultra pura acidificada em pH 3 com solução de ácido sulfúrico  $1 \text{ mol L}^{-1}$ . A amostra, previamente acidificada (pH 3, também com ácido sulfúrico  $1 \text{ mol L}^{-1}$ ), foi percolada pela fase sólida com um fluxo de  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . A fase sólida foi seca sob vácuo por 5 minutos e os analitos eluídos com 5 mL de acetonitrila. Após a eluição, as amostras foram evaporadas com nitrogênio, transferidas para frascos, reconstituídas em solvente adequado e derivatizadas. Após a derivatização as amostras foram analisadas por GC-MS.

O método de SPE utilizando cartuchos contendo fase sólida lipofílica-hidrofílica (Oasis HLB, Waters), passou pelo procedimento de condicionamento com 5 mL de acetato de etila, seguidos de 5 mL de metanol e 5 mL de água ultra-pura. Foram percolados 100 mL de amostra pela fase sólida com um fluxo de  $3 \text{ mL min}^{-1}$ . A fase sólida foi seca sob vácuo por 5 minutos e os analitos eluídos com 2 X 4 mL de acetato de etila.

### **4.3.2 Derivatização**

Primeiramente, utilizou-se soluções individuais na concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , solvente isoctano, 100  $\mu\text{L}$  do derivatizante MSTFA ativado III e não ativado, 60 minutos de reação e  $70^\circ\text{C}$  de temperatura de reação. As reações foram realizadas em um sistema de aquecimento (Reacti-Therm\* Heating and Stirring Modules – Thermo Science), mantendo a temperatura constante em  $70^\circ\text{C}$ . As soluções resultantes foram analisadas por GC-MS, conforme condições de operação que serão abordadas posteriormente.

Com a finalidade de estabelecer as melhores condições para a reação de derivatização dos compostos em estudo neste trabalho, os seguintes parâmetros foram avaliados: tempos de reação (60 e 120 minutos), solventes (ACN e isoctano), reagentes (MSTFA e MSTFA ativado III) e volumes de reagente (10  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{L}$  e 300  $\mu\text{L}$ ).

### **4.3.3 Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS)**

Para a análise cromatográfica foi utilizado um Cromatógrafo a Gás Agilent 6890 Séries GC System acoplado a um espectrômetro de massas Agilent 5973 Network Mass Selective Detector, equipado com coluna DB 1 (100% dimetilpolisiloxano - 60 m × 0,25 µm × 0,25 µm), com rampa de aquecimento de 100 °C (5 min) – 10°C/min – 290 °C (10 min), temperatura do injetor e da linha de transferência em 290°C .

### **4.3.4 Desempenho do Método Proposto**

O desempenho do método proposto foi avaliado segundo a DOQ-CGCRE-008 do INMETRO<sup>94</sup>, considerando os seguintes parâmetros: linearidade, especificidade e seletividade, sensibilidade, precisão (repetibilidade e reprodutibilidade dos dados), limites de detecção e quantificação instrumental e do método, robustez. Na SPE, foi determinado o volume de quebra e a recuperação, estes últimos, conforme será discutido posteriormente.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DO GC-MS A PARTIR DAS SOLUÇÕES PADRÃO DERIVATIZADAS

A partir dos dados da literatura<sup>91</sup>, foi estabelecida a condição cromatográfica para a análise dos AINEs já derivatizados.

Paralelamente, solução destes compostos não derivatizados também foram analisados nas mesmas condições. O cromatograma no modo SCAN da solução mista contendo todos os analitos de interesse não derivatizados é apresentado na figura 24.

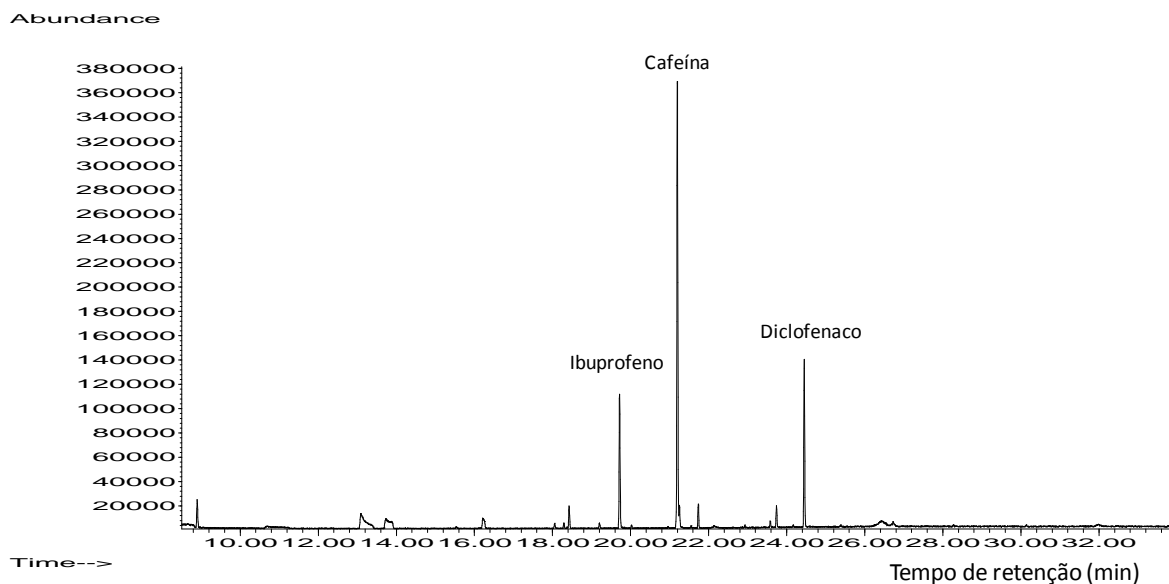


Figura 24. Cromatograma da solução mista de AINEs não derivatizados. Concentração  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , em solvente isoctano, coluna DB 1 ( $60 \text{ m} \times 0,25 \text{ } \mu\text{m} \times 0,25 \text{ } \mu\text{m}$ ), com rampa de aquecimento de  $100 \text{ } ^\circ\text{C}$  (5 min) –  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  –  $290 \text{ } ^\circ\text{C}$  (10 min). Temperatura do injetor e da linha de transferência em  $290^\circ\text{C}$ .

Observa-se que sem a derivatização, apenas três dos analitos de interesse aparecem no cromatograma quando analisados no solvente isoctano. Segundo dados da literatura, análises de AINEs já foram realizadas por GC-MS, sem o processo de derivatização<sup>63</sup> e se obtiveram resultados satisfatórios simultaneamente para os analitos ibuprofeno, cafeína, acetoaminofeno e diclofenaco, com limites de detecção e quantificação instrumentais de 20 a  $1600 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  e 70 a  $5500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente. Porém, os outros analitos de interesse foram analisados, segundo a literatura, somente após passarem pelo processo de derivatização<sup>65</sup>.

Como o objetivo é analisar os sete AINEs propostos, e nesse contexto quatro deles necessitam do processo de derivatização para análise por GC-MS e, sabendo que a literatura demonstra que alguns dos AINEs não precisam ser derivatizados, quando submetidos a esta reação possuem melhores respostas comparados aos não derivatizados<sup>66</sup>, optou-se por desenvolver um método que utiliza a reação de derivatização dos AINEs para análise por GC-MS.

Após verificar a efetividade da reação de cada composto, através de reações individuais de derivatização, associadas aos seus respectivos tempos de retenção, nas condições cromatográficas estabelecidas, analisou-se uma solução mista contendo todos os compostos de interesse, também derivatizada, para verificar a resolução entre os picos cromatográficos. Todos os picos se mostraram com resolução maior que 1,5 como pode ser evidenciado nas figuras 25 e 26.

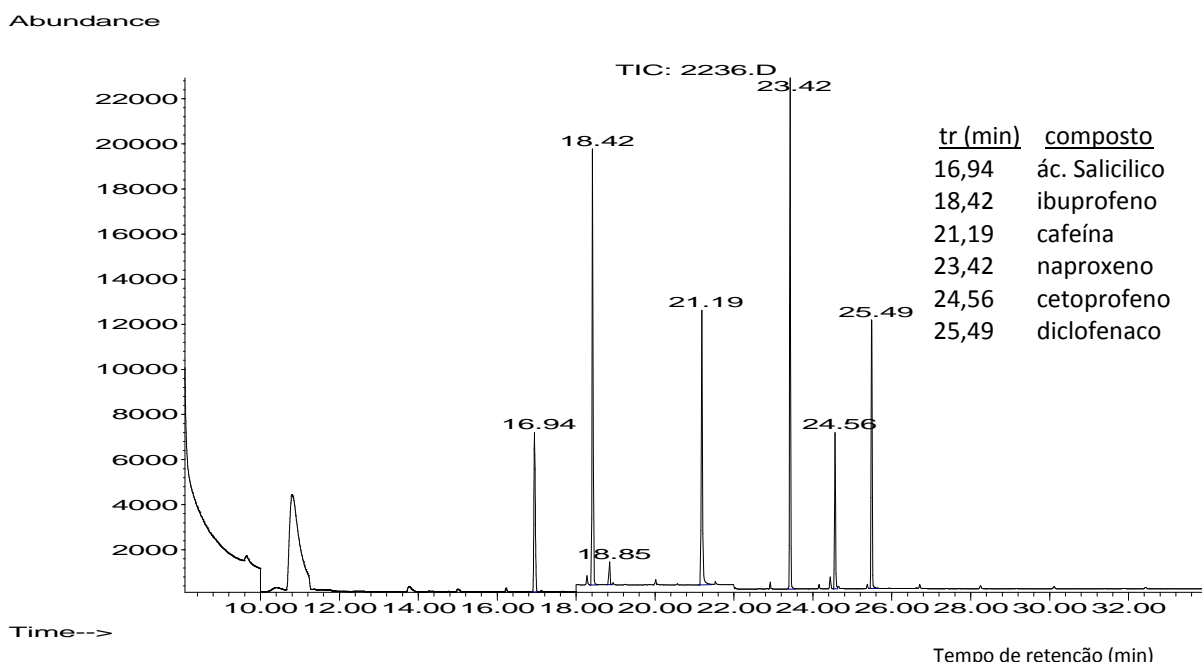


Figura 25. Cromatograma da solução de AINEs derivatizados no modo SIM. Concentração de 1 mg L<sup>-1</sup>, em solvente isoctano, coluna DB 1 (60 m × 0,25 μm × 0,25 μm), com rampa de aquecimento de 100 °C (5 min) – 10°C/min – 290 °C (10 min). Temperatura do injetor e da linha de transferência em 290°C.

Na figura 25, seis dos compostos de interesse são detectados no solvente isoctano, com boa separação entre os picos, indicando que as condições de operação do sistema proposto podem ser consideradas satisfatórias para análise dessas substâncias.

Para avaliar os outros dois analitos de interesse, foi realizada uma análise nas mesmas condições, porém, o solvente foi substituído por ACN. O resultado é mostrado na figura 26.

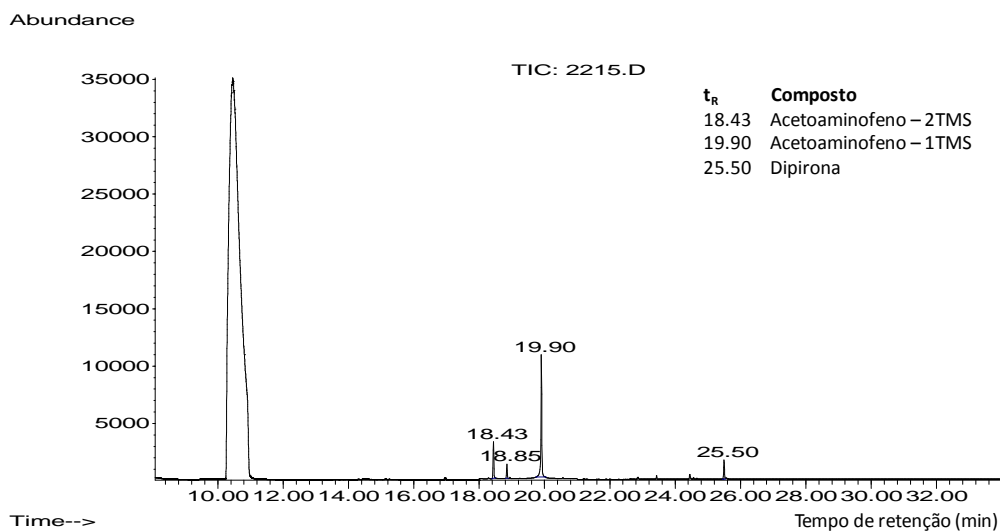


Figura 26. Cromatograma da solução de AINEs derivatizados, no modo SIM. Concentração de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ , em solvente ACN, em coluna do GC-MS DB 1 ( $60 \text{ m} \times 0,25 \text{ } \mu\text{m} \times 0,25 \text{ } \mu\text{m}$ ), com rampa de aquecimento  $100 \text{ } ^\circ\text{C}$  (5 min) –  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  –  $290 \text{ } ^\circ\text{C}$  (10 min). Temperatura do injetor e da linha de transferência em  $290 \text{ } ^\circ\text{C}$ .

Na figura 26, observa-se que os analitos estão bem separados, assim como observado na solução em isoctano, portanto sendo a condição de operação do sistema também considerada satisfatória para analisar esses compostos de interesse em ACN.

## 5.2 CONDIÇÕES DO GC-MS

Com base nos dois cromatogramas apresentados anteriormente, as melhores condições para a análise por GC-MS para os compostos em estudo estão apresentadas na tabela 8:

Tabela 8. Condição para análise dos AINEs por GC-MS no modo SIM e SCAN

INJETOR	<b>Temperatura do injetor</b>	<b>290 °C</b>
	<b>Volume de injeção</b>	1 µL
	<b>Modo de injeção</b>	Splitless
	<b>Coluna</b>	DB-1 (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
GC	<b>Gás de arraste</b>	Helio
	<b>Fluxo do gás de arraste</b>	1 mL minuto <sup>-1</sup>
	<b>Rampa de aquecimento</b>	100 °C (5 min) – 10°C/min – 290 °C (10 min)
MS	<b>Temperatura linha de transferência</b>	290°C
	<b>Analisador de massas</b>	Quadrupolo
	<b>Ionização por impacto eletrônico</b>	70 eV
	<b>Modo de registro dos íons</b>	SCAN e SIM

Primeiramente, as análises das soluções mistas nas condições citadas foram realizadas considerando a aquisição no modo SCAN. Com os resultados das análises individuais e também das soluções mistas, foram verificadas as duas razões massa/carga ( $m/z$ ) mais intensas de cada analito. O íon (razão  $m/z$ ) de maior intensidade foi utilizado como quantificador e o segundo mais intenso como qualificador. A partir desses dados, foi estabelecido o método para o monitoramento de íons (SIM). O método SIM é mais sensível e, conseqüentemente, podem ser atingidos limites de detecção e quantificação na ordem de ultratrazo ( $\text{ng L}^{-1}$ ) grandeza mais apropriada à análise de AINEs em amostras aquosas ambientais. As razões  $m/z$  mais intensas de cada analito poderão ser visualizadas na tabela 9. Os cromatogramas e os espectros de massas de todos os compostos derivatizados encontram-se no Anexo 5.

### 5.3 DETERMINAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE POR MONITORAMENTO DE ÍONS

As duas razões  $m/z$  mais intensas de cada composto de interesse escolhidos como íons quantificador e qualificador para a análise no modo SIM são dadas na Tabela 9.

Tabela 9. Tempo de retenção e íons a serem monitorados para cada analito (os íons sublinhados foram os escolhidos como quantificador por apresentarem maior abundância).

<b>Analito</b>	<b>t<sub>R</sub></b>	<b>Íons Monitorados</b>
<b>Acetoaminofeno 1TrMSi / 2TrMSi</b>	19,91 / 18,29	<u>181</u> , 166 / <u>206</u> , 280
<b>Ácido Salicílico</b>	16,79	<u>267</u> , 193
<b>Cafeína</b>	21,06	<u>194</u> , 109
<b>Cetoprofeno</b>	24,43	<u>282</u> , 311
<b>Diclofenaco</b>	25,34	<u>214</u> , 242
<b>Dipirona</b>	25,56	<u>123</u> , 215
<b>Ibuprofeno</b>	18,29	<u>160</u> , 263
<b>Naproxeno</b>	23,30	<u>185</u> , 302

\*As razões *m/z* destacadas são as utilizadas para quantificação e a outra como qualificadora

Determinado o modo SIM para os compostos de interesse, todas as análises passaram a ser feitas nestas condições.

#### 5.4 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DA REAÇÃO DE DERIVATIZAÇÃO

Segundo dados da literatura, a derivatização de AINEs para a análise por GC-MS, com o MSTFA tem se mostrado mais adequada do que com o N,O-Bis(trimetilsilil)acetamida (BSA) e o N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA). Além disso, o MSTFA pode ser utilizado também com o catalisador imidazol, sendo esse reativo chamado de MSTFA ativado III, segundo catálogo da Sigma-Aldrich. Portanto a avaliação da reação de derivatização foi realizada com o MSTFA com e sem o catalisador.

Em um primeiro momento, realizou-se a reação de sililação com cada um dos fármacos em estudo, a fim de verificar a efetividade da reação, o tempo de retenção dos compostos derivatizados e seus respectivos espectros de massas.

Inicialmente foi realizado planejamento fatorial para realizar estudos exploratórios das condições da reação. Posteriormente, utilizou-se o planejamento *Doehlert* como sistema de otimização de experimentos de segunda ordem.

##### 5.4.1 Avaliação Preliminar das Condições para a Reação de Derivatização

A otimização da reação de derivatização dos AINEs com MSTFA foi realizada a partir da análise pelo modo SIM estabelecido anteriormente. A efetividade da reação de



sililação é comprovada experimentalmente pela existência do fragmento  $m/z$  73 nos espectros de massas, sendo este fragmento referente ao grupo trimetilsilil (TrMSi). A reação de sililação, que ocorre com o MSTFA, é apresentada na figura 27.

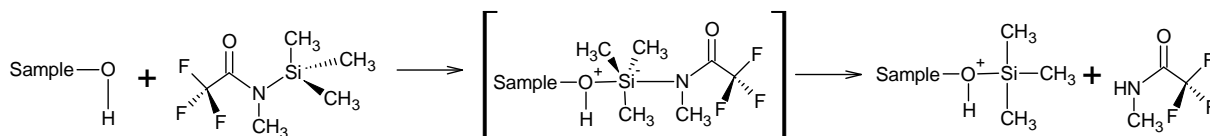


Figura 27. Reação do MSTFA com um hidrogênio ativo de um composto qualquer.

Inicialmente, para análise individual de cada composto, com a finalidade de verificar a efetividade da reação de sililação com o MSTFA, utilizaram-se soluções padrão individuais na concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , em solvente isoctano,  $100 \mu\text{L}$  do derivatizante MSTFA ativado III (que apresenta em sua composição aproximadamente 5% de imidazol), 60 minutos de reação e  $70^\circ\text{C}$  de temperatura de reação. Conforme já citado anteriormente alguns compostos foram detectados quando a reação foi realizada em solvente isoctano e outros quando em solvente ACN.

Como o objetivo em uma análise é sempre obter uma condição única, nos deparamos com uma problemática: analisar os compostos por dois sistemas com as mesmas condições exceto trocando o solvente (um em isoctano e outro em ACN) ou não seria realizada a análise dos compostos acetaminofeno e dipirona. Sabe-se que esses dois compostos são muito populares, sendo que seria muito provável encontrá-los nas amostras reais a serem analisadas. Com isso, foi realizada a análise pelos dois sistemas, onde os analitos dipirona e acetaminofeno foram analisados em solvente ACN e os analitos ácido salicílico, ibuprofeno, cafeína, naproxeno, cetoprofeno e diclofenaco seriam analisados em solvente isoctano.

Partindo destes resultados iniciais, realizou-se uma avaliação exploratória com os seguintes parâmetros: i) tempo de reação (60 e 120 minutos); ii) solvente utilizado (isoctano e ACN); iii) uso de catalizador (MSTFA e MSTFA ativado III); iv) volume de derivatizante (10, 50, 100, 200 e  $300 \mu\text{L}$ ). Como a literatura descreve a temperatura do sistema de derivatização das reações de sililação geralmente em  $70^\circ\text{C}$ <sup>10; 62</sup>, e especificamente para o MSTFA  $65^\circ\text{C}$ <sup>64</sup>, foi estabelecida a temperatura de reação em  $70^\circ\text{C}$ . Os resultados das avaliações realizadas são mostrados a seguir, nas seções 5.4.1.1 à 5.4.1.4.

### 5.4.1.1 Tempo de Reação

Nesta etapa do trabalho, o objetivo foi avaliar se o tempo de reação influenciaria na resposta obtida na análise por GC-MS, isto é, se o tempo de reação de 60 minutos, que foi o utilizado nas reações individuais, seria suficiente para derivatização dos analitos nas soluções mistas. Para tanto, a reação foi feita nos tempos de 60 e 120 minutos, com as demais condições experimentais mantidas constantes. Como variável de respostas utilizaram-se as áreas dos picos cromatográficos dos analitos. As condições reacionais foram: concentração dos analitos aproximada em  $1 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $10 \mu\text{L}$  MSTFA,  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ , nos solventes e tempos a serem avaliados. A descrição experimental é apresentada na tabela 10.

Tabela 10. Experimentos realizados para avaliar a influência do tempo de reação na sililação.

Experimento	Soluções mistas	Analitos	Solvente	Tempo de reação	Condições experimentais mantidas constantes	
1	Solução Mista ISOC	Ácido salicílico; cafeína; cetoprofeno; diclofenaco; ibuprofeno; naproxeno	Isoctano	1h	Temperatura	$70^\circ\text{C}$
2				2h	Concentração individual	$1 \text{ mg L}^{-1}$
3	Solução Mista ACN	Acetoaminofeno; dipirona	Acetonitrila	1h	Derivatizante	MSTFA
4				2h	Volume derivatizante	$10 \mu\text{L}$

Os resultados desses experimentos são apresentados nas tabelas 11 e 12 e figuras 28 e 29.

Tabela 11. Avaliação da variação do tempo de reação de derivatização na solução padrão mista em isoctano através da área dos picos cromatográficos.

Tempo de reação	Analitos (Área do pico)					
	Ácido Salicílico-TrMSi	Ibuprofeno - TrMSi	Cafeína	Naproxeno-TrMSi	Cetoprofeno-TrMSi	Diclofenaco-TrMSi
<b>1 h</b>	201929	2836481	630330	1459571	456368	1236688
	217052	2843328	658954	1428446	408551	1252421
<b>Média</b>	209490	2839904	644642	1444008	432459	1244554
<b>2 h</b>	202183	2943877	685133	1422352	476241	1241079
	205056	2915435	689132	1442185	497786	1292593
<b>Média</b>	203619	2929656	687132	1432268	487013	1266836
<b>Variação (%)</b>	-2,80	3,16	6,59	-0,81	12,61	1,79

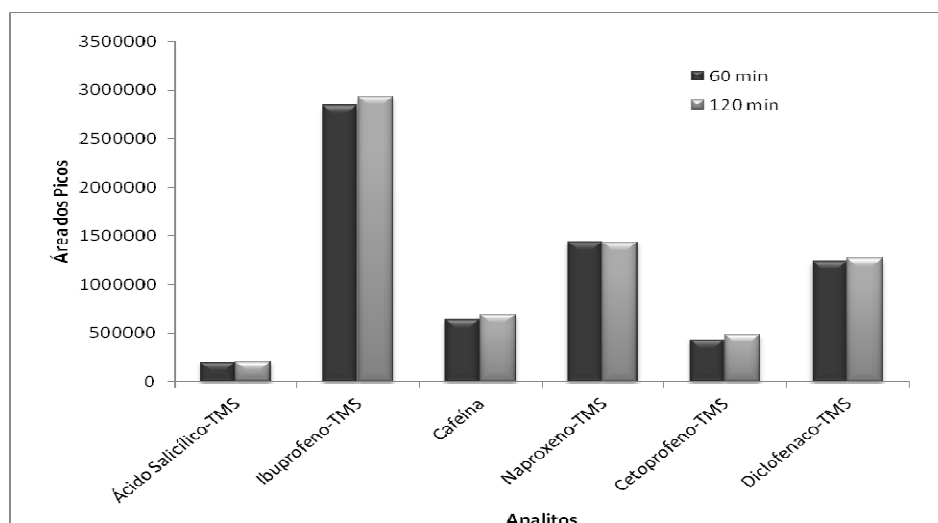


Figura 28. Área dos cromatogramas em função dos tempos da reação de sililação com o reagente MSTFA em isoctano.

Pela análise dos dados do grupo de fármacos cuja reação de sililação ocorre em isoctano (tabela 11 e figura 28), observa-se que o aumento na área foi muito pequeno (~12% para o cetoprofeno e ibuprofeno) com a duplicação do tempo de reação. Para os demais analitos, a diferença de área observada não é significativa. Pode-se afirmar que essas variações não justificam realizar um procedimento que demoraria o dobro do tempo e, portanto, o melhor tempo de reação para esse conjunto de analitos nessas condições é de 60 minutos.

Tabela 12. Variação da área dos picos cromatográficos em função do tempo de reação de sililação da solução padrão mista em ACN

Tempo de reação	Analitos (Área do pico)	
	Acetoaminofeno- TrMSi	Dipirona
<b>1 h</b>	23494	1002559
	28883	919852
	27640	902674
<b>Média</b>	26672	941695
<b>2 h</b>	27293	879856
	25943	878944
	25601	849605
<b>Média</b>	26279	869468
<b>Varição (%)</b>	-1,47	-7,67

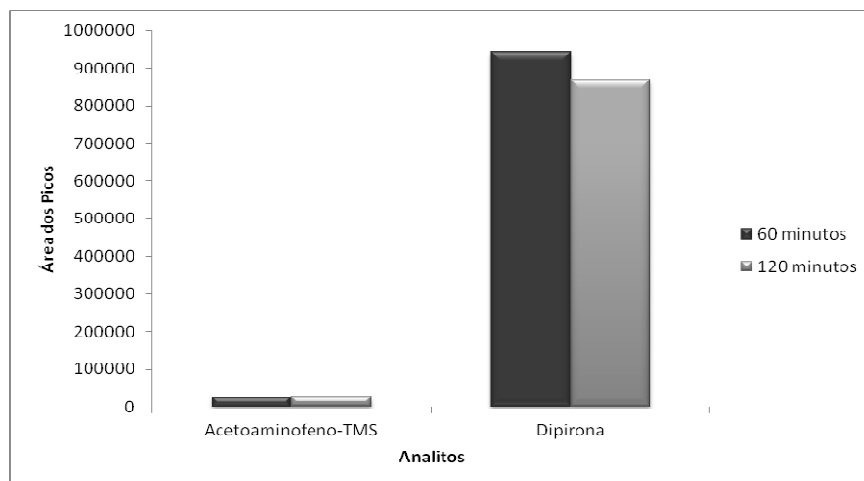


Figura 29. Áreas dos picos cromatográficos em função do tempo da reação de sililação com o reagente MSTFA em ACN.

A análise dos resultados dos experimentos submetidos à reação de sililação em ACN (tabela 12 e figura 29) evidencia que, ao elevar o tempo de reação, ocorreu um pequeno decréscimo nas respostas dos analitos. Portanto, a condição de reação de 120 minutos no solvente ACN não é interessante do ponto de vista quantitativo.

Em resumo, avaliando os resultados dos experimentos, observa-se que tanto para o grupo de compostos cuja reação ocorreu no solvente isoctano quanto para os que a reação foi desenvolvida em ACN, não ocorreu diferença significativa nas respostas quando duplicado o tempo de análise. Logo, conclui-se que, as reações de sililação podem ser realizadas com o tempo de duração de 60 minutos.

#### 5.4.1.2 Solvente e Uso de Catalisador no Reagente Derivatizante

Nessa etapa, realizaram-se quatro experimentos combinando dois solventes (isoctano e acetonitrila) com os reagentes derivatizantes MSTFA (sem a presença do catalisador) e com o MSTFA ativado III (que apresenta 5% de catalisador imidasol). A descrição dos experimentos, assim como os resultados obtidos, é apresentada na tabela 13 e na figura 30.

Tabela 13. Áreas dos picos cromatográficos dos experimentos de avaliação de diferentes condições de realização da reação de sililação em uma solução com concentração 0,5 mg L<sup>-1</sup> de cada analito. Condições mantidas constantes: T 70°C; volume de derivatizante 10 µL; t de reação de 1h.

Experimento	Derivatizante	Solvente	Solução mista 0,5 mg L <sup>-1</sup> (Área do pico)							
			Acetaminofeno-TrMSi	Ácido Salicílico-TrMSi	Cafeína	Cetoprofeno-TrMSi	Diclofenaco-TrMSi	Dipirona	Ibuprofeno-TrMSi	Naproxeno-TrMSi
1	MSTFA	ACN	833890	ND	825351	450408	ND	ND	57623	ND
			929994	ND	857979	274581	ND	ND	107328	ND
	Média		881942	-	841665	362495	-	-	82476	-
	DP		67955	-	23071	124328	-	-	35146	-
	CV (%)		7,71	-	2,74	34,30	-	-	42,61	-
2	MSTFA ativado III	ACN	4836814	ND	1008035	502254	ND	ND	ND	ND
			5920238	ND	1109401	389126	ND	ND	ND	ND
	Média		5378526	-	1058718	445690	-	-	-	-
	DP		766096	-	71676	79993	-	-	-	-
	CV (%)		14,24	-	6,77	17,95	-	-	-	-
3	MSTFA	ISOC	ND	127903	48667	91626	117749	ND	251861	186023
			ND	89740	58541	59322	61420	ND	199723	107093
	Média		-	108822	53604	75474	89585	-	225792	146558
	DP		-	26985	6981	22842	39830	-	36867	55811
	CV (%)		-	24,80	13,03	30,27	44,46	-	16,33	38,08
4	MSTFA ativado III	ISOC	ND	131220	49749	93531	117756	ND	252909	181413
			ND	130731	51378	74498	102738	ND	256539	172843
	Média		-	130976	50564	84015	110247	-	254724	177128
	DP		-	345,78	1151	13458	10619	-	2566	6059
	CV (%)		-	0,26	2,28	16,02	9,63	-	1,01	3,42

T= temperatura; t=tempo

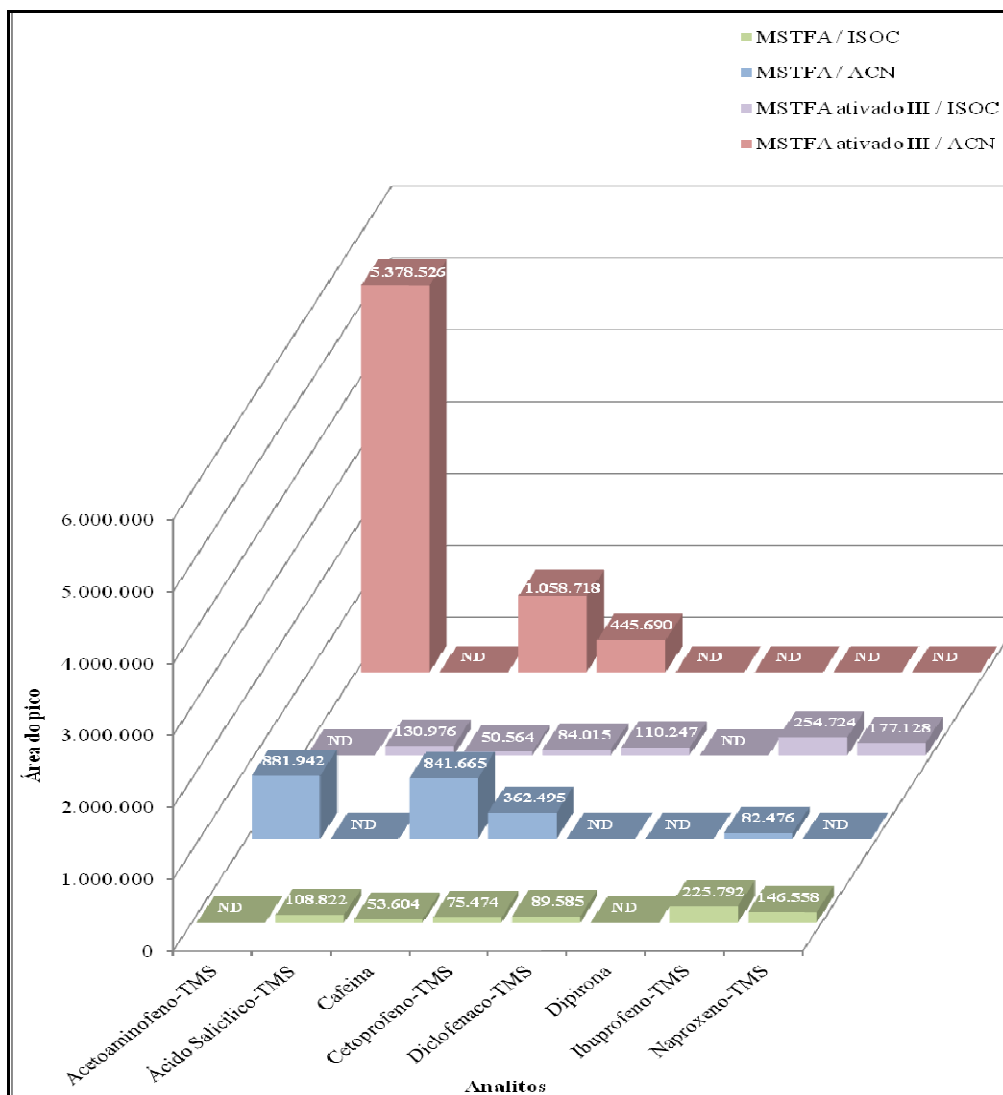


Figura 30. Média dos resultados dos experimentos da tabela 6. Concentração de  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$  de cada analito (60 minutos à  $70^\circ\text{C}$  com  $10 \mu\text{L}$  do reagente).

Através da avaliação desses experimentos, pode-se concluir que, de forma geral, quando se utilizou o derivatizante MSTFA ativado III (5% de imidazol), obtiveram-se as melhores respostas em módulo e com menores valores dos respectivos coeficientes de variação (CV), ou seja, são respostas com maior reprodutibilidade em comparação aos sistemas que utilizaram o MSTFA sem imidazol como derivatizante. Isso possivelmente deve-se ao fato de que ao catalisar a reação, o imidazol propicia uma rota preferencial para a reação de silição, facilitando a captura do hidrogênio ativo do sítio de reação. Isso contribui para que a reação seja completa e que necessite menor tempo para formação dos produtos de interesse.

Em nenhum dos sistemas avaliados a dipirona foi detectada. Contudo, tanto na solução individual em 10 mg L<sup>-1</sup> quanto na solução mista em 1 mg L<sup>-1</sup> ela foi detectada, sendo ambas preparadas em ACN. Como os experimentos realizados para avaliar a influência do solvente e do derivatizante na sililação foram realizados com soluções 0,5 mg L<sup>-1</sup> de cada fármaco, sugere-se que a não detecção da dipirona foi devido ao seu baixo fator de resposta em comparação com os demais fármacos.

Verifica-se também que o solvente empregado foi um fator importante a ser considerado, pois em ACN apenas três fármacos (acetoaminofeno, cafeína, cetoprofeno), além da dipirona, são detectados quando submetidos à reação com MSTFA ativado III, enquanto seis fármacos (ácido salicílico, cafeína, cetoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno) são detectados em isoctano com o mesmo derivatizante.

#### 5.4.1.3 Volume do Reagente Derivatizante

Ao estudar os resultados das reações tratadas na seção anterior constatou-se que a reação, quando contém o catalisador no meio reacional (imidazol), apresenta melhores respostas. Portanto, verificou-se a necessidade de avaliar a influência do volume do reativo MSTFA ativado III na reação de sililação dos compostos em estudo. Para isso, foram realizados cinco experimentos com adição de diferentes volumes de derivatizante (10 µL; 50 µL; 100 µL; 200 µL; 300 µL) em soluções com concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> de cada fármaco, à 70 °C durante 60 minutos, em isoctano. A descrição experimental e as áreas dos picos obtidas nos cromatogramas estão expressos na tabela 14 e graficamente na figura 31.

Tabela 14. Valores de área obtidos no modo SIM (ou SCAN) para os respectivos compostos derivatizados (Composto- TrMSi) em função de diferentes volumes de derivatizante.

Exp	MSTFA ativado III (µL)	Solução mista 0,5 mg L <sup>-1</sup> (Área do pico) *					
		Ác.Salicílico	Cafeína	Cetoprofeno	Diclofenaco	Ibuprofeno	Naproxeno
1	10	83599	64273	24025	41165	57842	64363
2	50	173856	80154	38702	45831	70040	104818
3	100	128544	79460	33090	37346	72771	92487
4	200	88709	83846	30062	29213	79834	85776
5	300	147419	76476	28117	28068	73565	97770

\* acetoaminofeno- TrMSi e dipirona não detectados

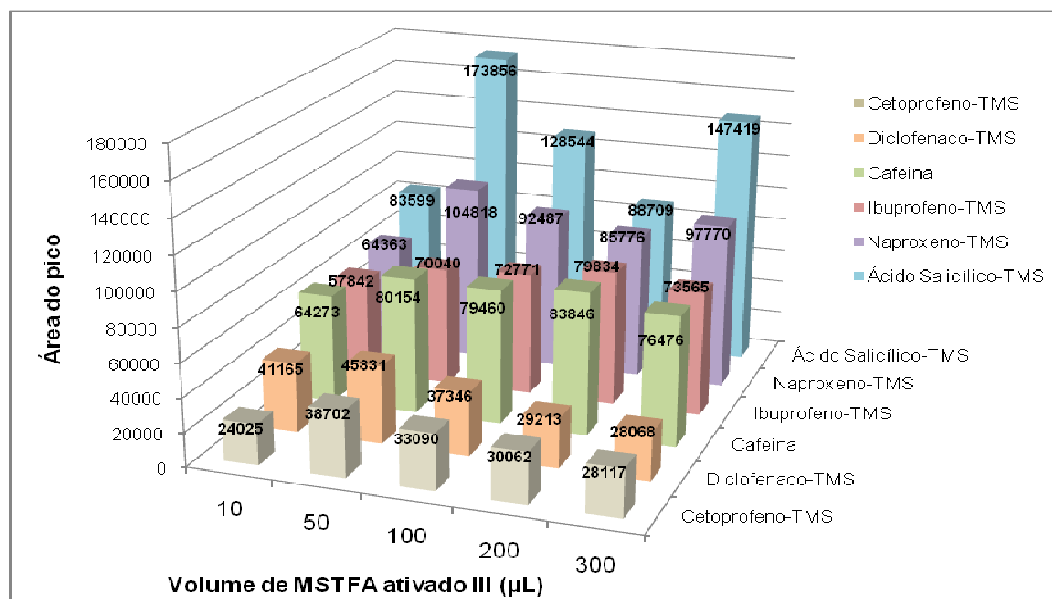


Figura 31. Avaliação do volume de derivatizante na resposta das áreas dos compostos. Solvente isoctano

Pela figura 31, observa-se que, as melhores respostas são obtidas quando a reação de sililação é realizada com 50 µL de MSTFA ativado III. Para o ibuprofeno- TrMSi e a cafeína, observa-se que os melhores resultados são com 200 µL do derivatizante. Contudo, o acréscimo de área do pico em relação à reação submetida a 50 µL não compensa o uso de um volume quatro vezes maior, somado ao fato de tratar-se de um método multirresíduo. Caso fosse escolhido o uso de 200 µL de derivatizante, ter-se-ia um decréscimo de aproximadamente 50% na resposta do ácido salicílico- TrMSi.

#### 5.4.1.4 Conclusões da Avaliação Preliminar da Reação de Derivatização

Considerando estes primeiros experimentos, a condição experimental mais adequada para reação de sililação dos compostos em estudo é apresentada na tabela 15.

Tabela 15. Condições experimentais definidas para reação de sililação.

Sistema	Analitos	Solvente	Reagente	Volume de derivatizante	Tempo de reação	T
<b>SOLUÇÃO MISTA ISOCTANO</b>	ácido salicílico; diclofenaco; ibuprofeno; naproxeno	Isoctano	MSTFA ativado III	50 µL	1 h	70°C
<b>SOLUÇÃO MISTA ACN</b>	acetoaminofeno; dipirona; cafeína; cetoprofeno	ACN	MSTFA ativado III	50 µL	1h	70°C



A partir destes dados iniciais, passou-se a trabalhar com o planejamento *Doehlert* com o objetivo de buscar alternativas para realizar a reação em uma única etapa.

#### 5.4.2 Utilização do Planejamento *Doehlert*

O estudo de planejamentos experimentais, permitem a otimização simultânea de mais de uma variável de forma mais rápida, econômica e efetiva<sup>100</sup>. Entre os planejamentos disponíveis, destacou-se a metodologia de superfície de resposta utilizando o planejamento *Doehlert*. Esta metodologia necessita de poucos experimentos para encontrar a condição ótima e, principalmente, possibilita a expansão do domínio do planejamento adicionando uma nova variável e aproveita dados anteriores<sup>100; 101</sup>.

Verificou-se, também, a possibilidade de uso do planejamento fatorial completo. Esse modelo, contudo, não permite indicar valores ótimos das variáveis independentes para uma determinada resposta analítica, por estas serem estudadas preferencialmente em dois níveis, e esses planejamentos descrevem somente linhas, e não curvas. Quando as medidas são realizadas em três ou mais níveis, é possível obter curvas e, portanto, calcular o ponto ótimo. Contudo, nesse caso, o número de experimentos é elevado, tornando-o desvantajoso em comparação com o planejamento *Doehlert*<sup>100</sup>.

O planejamento *Doehlert* é um sistema de otimização de experimentos de segunda ordem que possui seus pontos distribuídos uniformemente por todo o espaço experimental. Os pontos da matriz *Doehlert* correspondem aos vértices de um hexágono gerado a partir de um simplex regular, onde cada vértice corresponde uma condição a ser analisada e, cada eixo uma variável analisada, uma representação pode ser melhor visualizada na figura 32, sendo que o movimento do hexágono no espaço corresponde a novas condições analisadas. O número total de pontos experimentais no planejamento é igual a  $k^2+k+pc$ , onde  $k$  é o número de fatores e  $pc$  é o número de experimentos no ponto central, os quais são geralmente feitos em triplicata para estimar o erro experimental<sup>102</sup>. A obtenção da superfície de resposta pelos experimentos de uma matriz *Doehlert* permitem visualizar o sistema em forma 3D, realizando a análise da interação entre as variáveis.

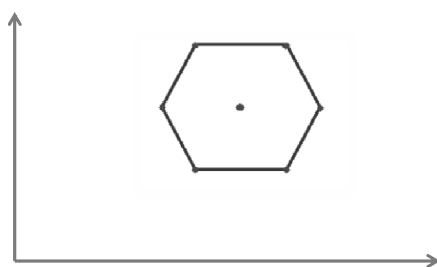


Figura 32. Vértices de um hexágono representando as condições experimentais de uma matriz *Doehlert*.

Neste trabalho, pela avaliação dos experimentos até então realizados, verifica-se que as variáveis tempo de reação e volume de derivatizante são os fatores mais importantes na variação das respostas e, portanto, serão as variáveis do planejamento de otimização.

Segundo a literatura<sup>102</sup>, com a premissa de serem utilizadas duas variáveis, o planejamento deve ser realizado com 9 experimentos ( $2^2 + 2 + 3 = 9$ ). Após, é necessário determinar o valor de máximo e de mínimo para as variáveis selecionadas. Esses dados aliados aos valores codificados da matriz *Doehlert* para um sistema com duas variáveis, constituem o planejamento experimental para otimização da reação de sililação.

Após definir que as variáveis que possuem efeito mais significativo no rendimento da reação de derivatização, foram delimitados os valores máximos e mínimos destas para que fosse construída a matriz *Doehlert* com os valores codificados e experimentais. Os valores estabelecidos são apresentados na tabela 16 e 17.

Tabela 16. Valores experimentais de máximos e mínimos para as variáveis V1 e V2.

Variável	$U_{m\acute{a}x.}$	$U_{m\acute{i}n.}$	$U_{oi}$	$\Delta U$
$V_1$ – Volume de derivatizante ( $\mu\text{L}$ )	100	10	55	45
$V_2$ – Tempo de reação (min.)	120	30	75	45

$U_{m\acute{a}x.}$ : valor máximo;  $U_{m\acute{i}n.}$ : valor mínimo;  $U_{oi}$ : valor médio

Tabela 17. Matriz *Doehlert* com os valores codificados e experimentais

Ensaio	Matriz <i>Doehlert</i> para duas variáveis		Condições experimentais	
	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>
1	1	0	100,0	75
2	0,5	0,866	77,5	114
3	-1	0	10,0	75
4	-0,5	-0,866	32,5	36
5	0,5	-0,866	77,5	36
6	-0,5	-0,866	32,5	114
7	0	0	55,0	75
8	0	0	55,0	75
9	0	0	55,0	75

Neste planejamento experimental, duas soluções com os solventes (isooctano e ACN) foram utilizados, a uma concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup>. Todos os experimentos foram realizados com o MSTFA ativado III na temperatura de 70 °C. O parâmetro da avaliação dos dados foi a área de cada pico cromatográfico dos compostos de interesse.

A partir dos dados obtidos nos experimentos foram feitos gráficos para determinar a superfície de resposta de cada analito nos diferentes sistemas testados (Anexo 5). Com isso verificou-se se a condição estabelecida pelos experimentos realizados, seria mesmo a condição ótima para a reação de derivatização.

A avaliação dos gráficos de superfície de resposta nos mostra que, dentro do sistema testado, todos os analitos foram detectados no solvente ACN, sendo possível a realização da análise em um único solvente. A partir deste momento, todos os experimentos foram realizados apenas em ACN.

Além disso, a análise dos dados nos mostra que a melhor condição de análise foi quando utilizados 10 µL de derivatizante e 120 minutos como tempo de reação. Contudo, mesmo essa condição apresentando respostas razoáveis para o sistema, uma análise mais criteriosa permite dizer que os gráficos de superfície de resposta não levam à uma condição ótima para todos os analitos. O que ocorre é uma tendência da condição ótima ser evidenciada em maiores tempo de reação e volume de derivatizante. Quando testada a condição de 10 µL de MSTFA e 120 min com uma solução padrão de AINEs, não se obtiveram respostas satisfatórias, pois não foram detectados analitos de interesse, conforme pode ser verificado na Figura 33.

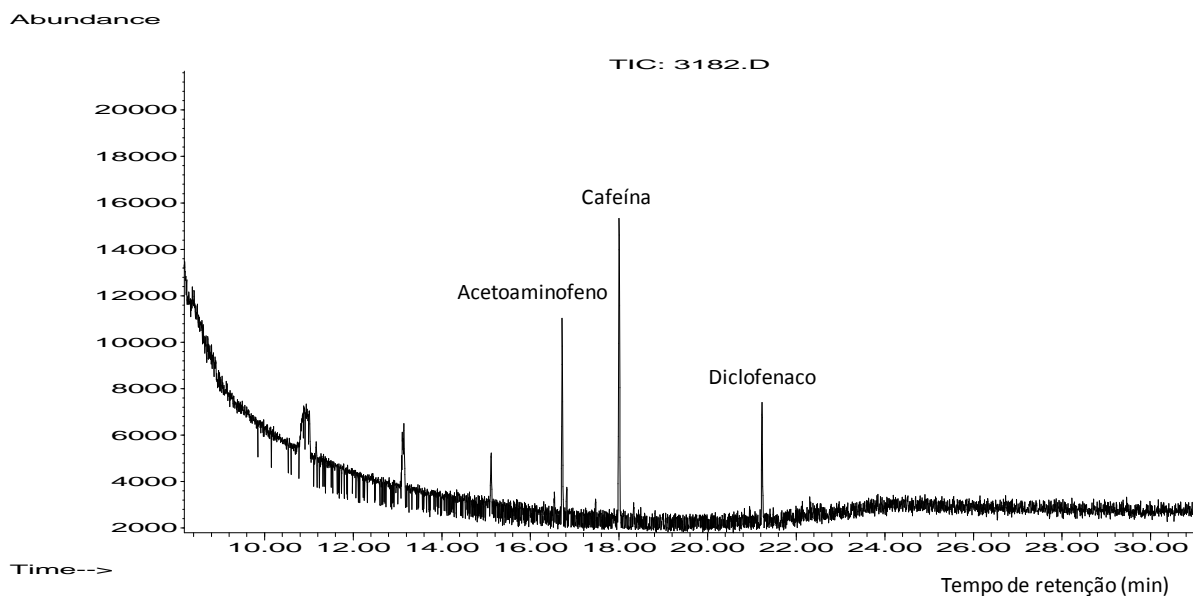


Figura 33. Cromatograma da solução de AINEs derivatizados com 10  $\mu\text{L}$  de MSTFA e 114 min de reação. Concentração de 0,5  $\text{mg L}^{-1}$ , em solvente ACN.

Uma das hipóteses do sistema ter falhado é que, para alguns analitos (ácido salicílico, diclofenaco, cetoprofeno e acetoaminofeno 2 TrMSi), em determinados experimentos, não se obtiveram respostas (Anexo 6) e isso pode ter distorcido a superfície de resposta, afetando o sistema de forma a nos mostrar um resultado equivocado, direcionando a condição ótima da superfície de resposta para um menor volume de derivatizante e maior tempo de reação, quando, para que a reação seja efetiva para todos os analitos, precisamos de um volume maior de derivatizante e também um maior tempo de reação.

Tendo em vista este contexto e, sabendo da tendência da condição ótima ocorrer em maiores tempo de reação e maiores volume de derivatizante, um novo planejamento experimental foi avaliado. A matriz *Doehlert* com os dados dos novos experimentos a serem desenvolvidos é apresentada na tabela 18.

Tabela 18. Matriz *Doehlert* com os valores codificados e experimentais

Ensaio	Matriz <i>Doehlert</i> para duas variáveis		Condições experimentais	
	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>
1	1	0	122,5	114
2	0,5	0,866	100	153
3	-1	0	32,5	114
4	-0,5	-0,866	55	75
5	0,5	-0,866	100	75
6	-0,5	-0,866	55	153
7	0	0	77,5	114
8	0	0	77,5	114
9	0	0	77,5	114

A análise das áreas obtidas com esse experimento (Anexo 6), nos mostra que para os analitos: ácido salicílico, acetoaminofeno – 2 TrMSi, cetoprofeno e diclofenaco alguns dos ensaios não deram resposta no nível de detecção do método estabelecido, o que não é desejável. Os dados nos mostram que os experimentos nos quais todos os analitos foram detectados são aqueles onde o volume de derivatizante é maior ou igual a 100 µL. Com isso, concluiu-se que para esse sistema é necessário um volume de derivatizante igual ou superior a 100 µL.

Após, foi realizado um terceiro planejamento *Doehlert*, onde o menor volume de derivatizante é 100 µL. Os valores codificados e experimentais da matriz *Doehlert* são apresentados na tabela 19.

Tabela 19. Matriz *Doehlert* com os valores codificados e experimentais

Ensaio	Matriz <i>Doehlert</i> para duas variáveis		Condições experimentais	
	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>
1	1	0	190,0	75
2	0,5	0,866	167,5	114
3	-1	0	100,0	75
4	-0,5	-0,866	122,5	36
5	0,5	-0,866	167,5	36
6	-0,5	0,866	122,5	114
7	0	0	145,0	75
8	0	0	145,0	75
9	0	0	145,0	75

Os gráficos da superfície de resposta para os novos valores do planejamento experimental avaliados são apresentados no Anexo 7. A análise dos gráficos nos mostra que, para os analitos ácido salicílico e acetoaminofeno-2 TrMSi, pode ser determinada a melhor condição experimental no máximo volume e no tempo máximo de reação. A cafeína se mostrou estável, sem maiores variações na resposta, conforme era esperado, uma vez que a mesma não sofre o processo de derivatização e, portanto, as condições desta reação não afetam a mesma. Mesmo tendo a melhor condição em 190  $\mu\text{L}$  e 114 min, podemos perceber que o aumento da resposta destes compostos nessa condição comparados as respostas quando utilizados 100  $\mu\text{L}$  e 114 min é muito baixo, logo, por questões econômicas é mais favorável o uso de 100  $\mu\text{L}$  de MSTFA.

Para os demais analitos (dipirona, diclofenaco, naproxeno, ibuprofeno e cetoprofeno) não foi possível determinar a condição ótima para a reação de derivatização dos mesmos. A análise, dos gráficos permite verificar a tendência desta estar em maiores volumes de MSTFA e menores tempos de reação. Uma explicação para tal ocorrido, conforme mencionado na revisão bibliográfica, é a preferência da siliilação na função fenol quando comparada a função ácido carboxílico, logo, o MSTFA reagiria preferencialmente com o ácido salicílico e o acetoaminofeno e, assim, para determinar as condições ótimas para a reação de derivatização dos demais compostos, haveria a necessidade de realizar um novo planejamento experimental com maiores volumes de reagente derivatizante.

Uma análise mais criteriosa, permite perceber que com o menor volume testado (100  $\mu\text{L}$ ) e maiores tempos de reação (114 min), a resposta começa a crescer para todos estes analitos, sendo que para alguns o ganho com 190  $\mu\text{L}$  não justifica o dobro do consumo de reagente, como no caso do naproxeno, porém, em outros casos, como o diclofenaco a perda na resposta chega a 67% para 100  $\mu\text{L}$ , logo, há necessidade de se verificar se o ganho em termos de sensibilidade é válido e se compensa o uso de maior volume de reagente derivatizante, levando em conta, também, questões econômicas.

Foram estudadas três matrizes *Doelhart* diferentes, sendo que uma melhor visualização das variações entre elas pode ser evidenciada na figura 34.

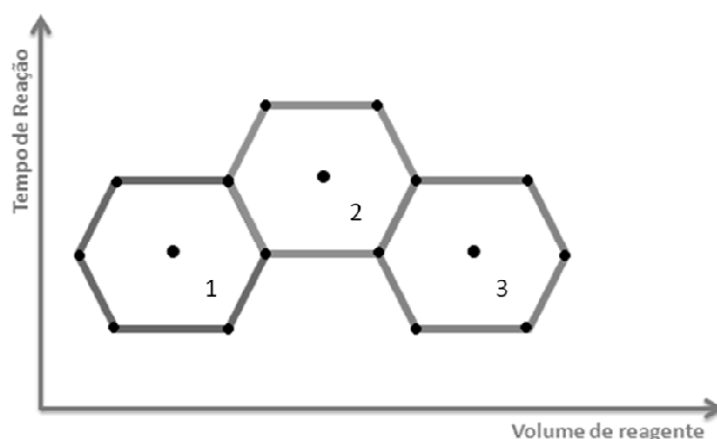


Figura 34. Variações das condições experimentais das matrizes *Doelhart* ao longo do estudo

Analisando todos os experimentos realizados com o planejamento Doelhart para o sistema de derivatização dos AINEs, não se obtiveram resultados satisfatórios para a definição das condições de reação. No último experimento houve um ganho na resposta para os analitos quando aumentado o volume de derivatizante, porém isso é uma tendência. Futuramente poderão vir a ser testadas novas condições com maiores volumes de MSTFA, porém, uma análise da quantidade de reagente deve ser estabelecida, pois este pode levar a um aumento muito significativo no custo de análise, deixando o método fora de padrões para ser implementado como rotina em laboratórios.

## 5.5 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

### 5.5.1 Escolha da Fase Sólida e do Procedimento de pré-concentração

Os resultados da extração nos cartuchos de fases sólidas OASIS HLB (*Waters*) e a Strata X (*Phenomenex*) são apresentados na figura 35 e na tabela 20. Para verificar o desempenho das fases sólidas foi realizado o procedimento de SPE indicado na literatura para cada cartucho (condicionamento e eluição)<sup>63; 69</sup>.

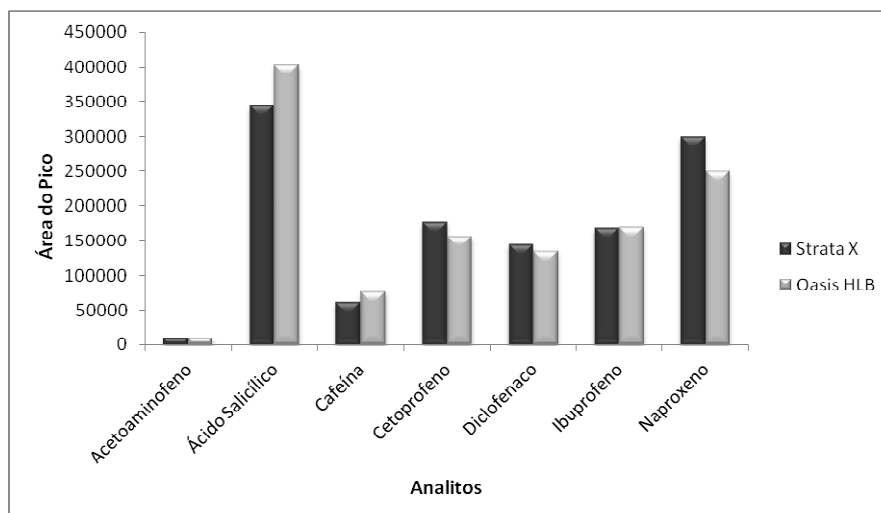


Figura 35. Comparação das áreas dos picos cromatográficos de cada para as duas fases sólidas empregadas.

Tabela 20. Valores de áreas dos picos cromatográficos de cada analito, nas duas fases sólidas avaliadas

Cartucho	Analitos						
	Acetaminofeno	Ácido Salicílico	Cafeína	Cetoprofeno	Diclofenaco	Ibuprofeno	Naproxeno
<b>Strata X</b>	9515	341431	60921	165798	123302	164543	291868
	9289	347735	60538	186855	163026	170844	307556
<b>Média</b>	<b>9402</b>	<b>344583</b>	<b>60730</b>	<b>176327</b>	<b>143164</b>	<b>167694</b>	<b>299712</b>
<b>Oasis</b>	9668	409190	74825	150436	104650	167783	247110
<b>HLB</b>	8890	395271	76758	161302	164720	171315	251024
<b>Média</b>	<b>9279</b>	<b>402231</b>	<b>75792</b>	<b>155869</b>	<b>134685</b>	<b>169549</b>	<b>249067</b>

Os resultados apresentados na tabela 20 e na figura 35 demonstram que não houve variações significativas com o uso da fase sólida Oasis HLB. Visto que a fase sólida Strata X proporcionou resultados mais satisfatórios para alguns analitos, esta foi escolhida para realização do processo de SPE na metodologia proposta. Para este processo, o cartucho Strata X foi condicionado com 5 mL de MeOH seguidos de 5 mL de água ultra-pura acidificada. A amostra foi percolada e a eluição ocorreu com 5 mL de ACN. Como o objetivo deste trabalho não é otimizar uma nova condição de SPE, testou-se uma condição modificada da literatura<sup>69</sup>. Devido ao sucesso dessa condição, a mesma foi adotada como a condição experimental de SPE.



### 5.5.2 Determinação do Volume de Quebra

O volume de quebra foi primeiramente determinado apenas em soluções dos analitos em água ultra-pura, para os volumes de 50, 100 e 250 mL. Os dados de recuperação apresentados na figura 36, correspondem às recuperações relativas que foram obtidas pela normalização com as áreas da curva no solvente, a fim de visualizar melhor os resultados, pois para alguns compostos, os valores de recuperação foram muito baixos.

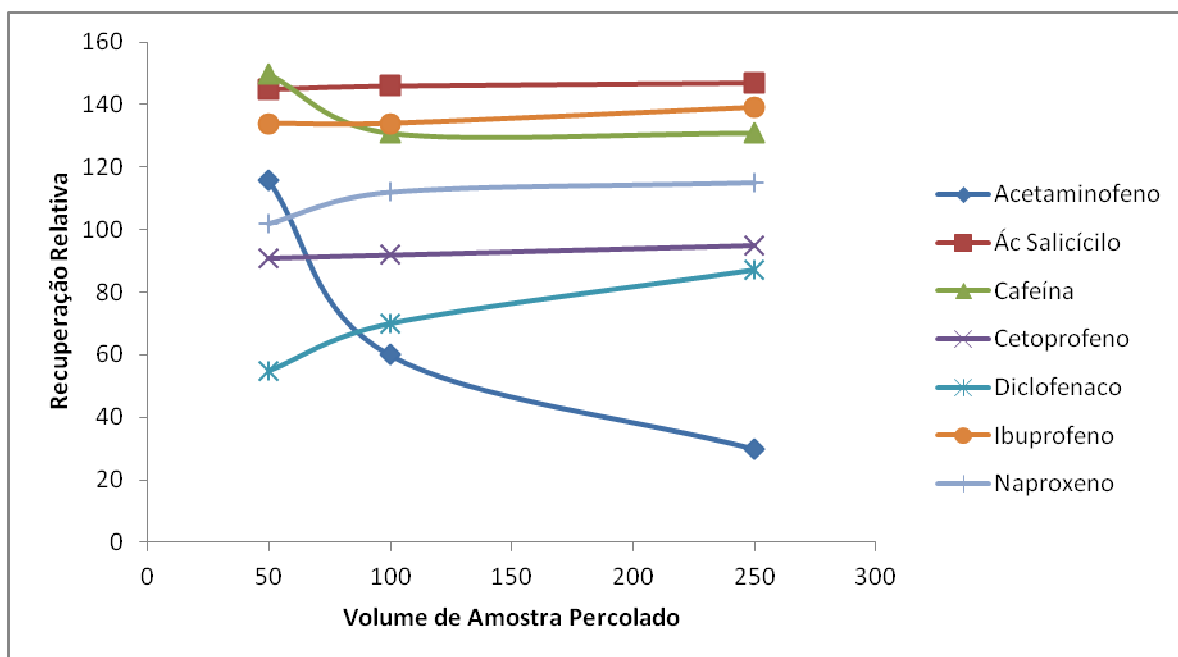


Figura 36. Determinação do volume de quebra em água ultra pura.

Houve pouca variação na recuperação nos volumes de água utilizados, com exceção do acetaminofeno que apresentou maior variação. O volume de 100 mL foi escolhido por apresentar um bom fator de concentração e não está tão vulnerável ao efeito causado pela matriz.

### 5.6 PARÂMETROS DE DESEMPENHO DO MÉTODO DE QUANTIFICAÇÃO: LINEARIDADE, LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO E PRECISÃO DOS DADOS

Os parâmetros de desempenho avaliados neste trabalho foram: linearidade, precisão apenas como repetitividade, limites de detecção e de quantificação e recuperação.

### 5.6.1 Linearidade

Para avaliar a linearidade do método, foram analisados as regressões lineares quadradas das retas ( $R^2$ ) das curvas analíticas em solvente. Todos os resultados foram considerados satisfatórios conforme pode ser evidenciado na Tabela 21, pois estão de acordo com a **RESOLUÇÃO-RE Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003**<sup>103</sup>, que estabelece o mínimo para o r como sendo 0,99 que corresponde a um  $r^2=0,98$ . Além disso, as inclinações das retas das curvas analíticas foram comparadas quando analisadas apenas as áreas dos analitos e quando foram utilizadas as razões área do analito/área do PI (padrão interno). Observa-se através da tabela 21 e das figuras 37 e 38 que, tanto a área quanto a razão área do analito/área PI não apresentaram diferenças significativas na linearidade do método.

Tabela 21. Estudo da linearidade dos compostos em solução padrão no solvente.

Composto	Considerando área do pico		Considerando razão área/PI	
	Equação da reta	$R^2$	Equação da reta	$R^2$
<b>Ac. Salicílico</b>	$y = 7131,9x + 330520$	0,998	$y = 0,0047x + 0,2479$	0,995
<b>Ibuprofeno</b>	$y = 3428,1x + 59914$	0,999	$y = 0,0023x + 0,0459$	0,999
<b>Cafeína</b>	$y = 3814x + 94843$	0,996	$y = 0,0025x + 0,0685$	0,997
<b>Naproxeno</b>	$y = 3601,3x + 48568$	0,999	$y = 0,0024x + 0,0395$	0,998
<b>Cetoprofeno</b>	$y = 1935,1x - 113553$	0,989	$y = 0,0013x - 0,0896$	0,979
<b>Diclofenaco</b>	$y = 297,94x + 5007,5$	0,995	$y = 0,0002x + 0,0028$	0,998
<b>Acetaminofeno-2 TrMSi</b>	$y = 4636,9x - 12049$	0,997	$y = 0,0028x - 0,0213$	0,996
<b>Acetaminofeno- TrMSi</b>	$y = 1212,6x + 19316$	0,975	$y = 0,0007x + 0,0056$	0,989
<b>Dipirona</b>	$y = 90,065x - 1663$	0,992	$y = 5E^{-05}x - 0,0011$	0,999

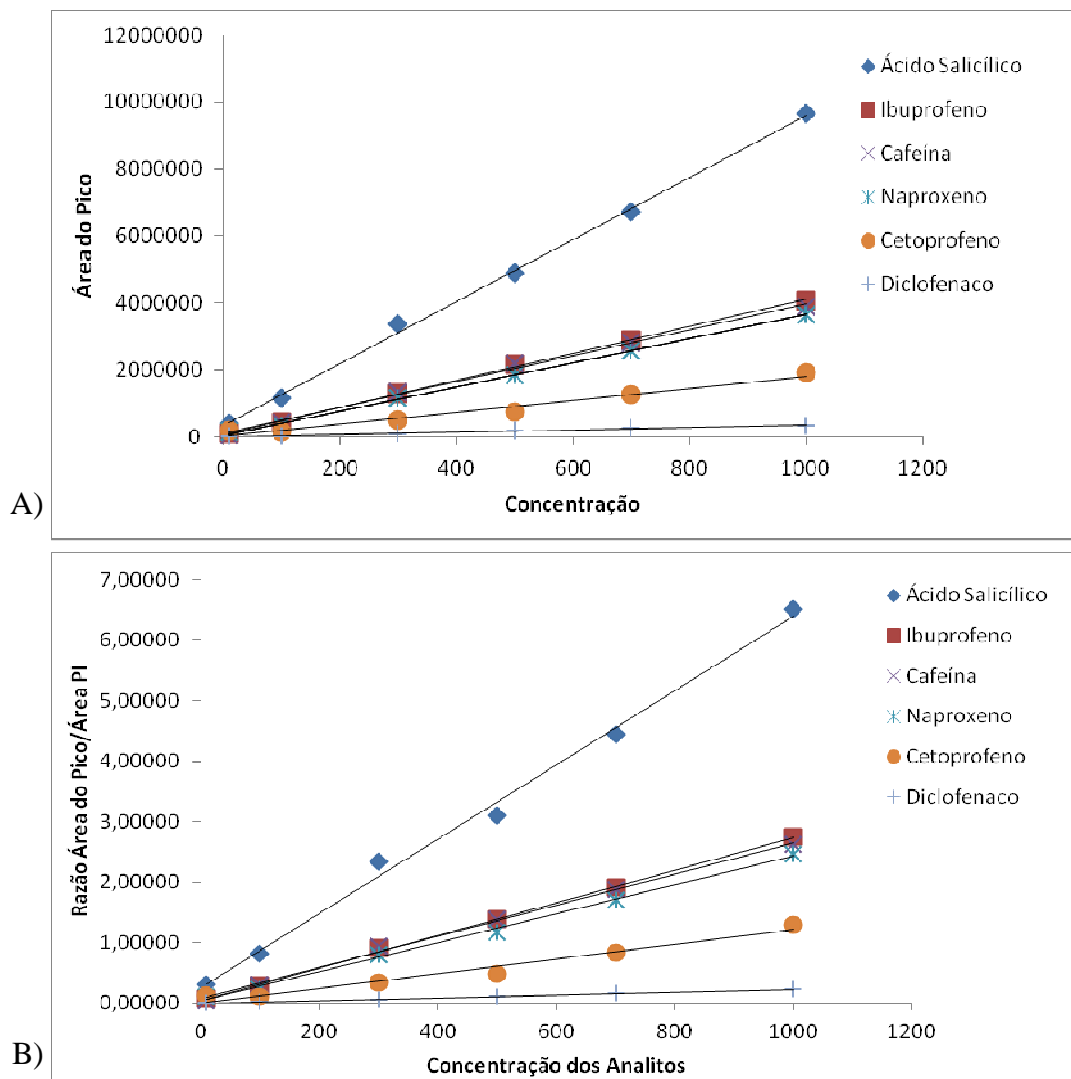


Figura 37. Comparação entre as retas das curvas analíticas obtidas para 6 analitos estudados considerando a área do analito (A); e considerando a razão área do analito/área PI (B).

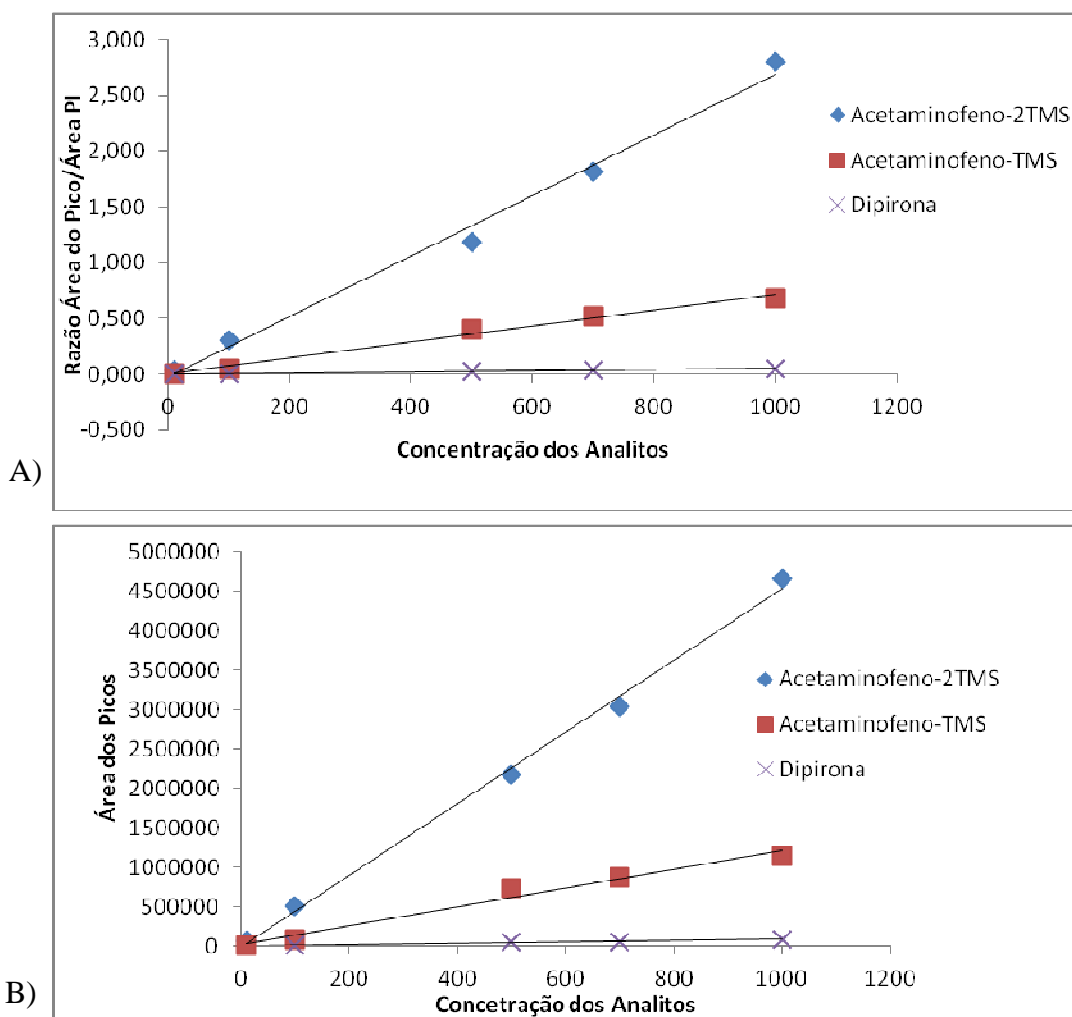


Figura 38. Comparação entre as retas das curvas analíticas obtidas para 6 analitos estudados considerando a área do analito (A); e considerando a razão área do analito/área PI (B).

Os valores das áreas obtidas para os diferentes pontos da curva analítica para cada composto, bem como a repetitividade expressa em termos de coeficiente de variação, são expressos na tabela 22.

Tabela 22. Valores de área dos picos cromatograficos para os diferentes pontos da curva analítica e seus respectivos coeficientes de variação percentual (CV%). Todas as concentrações são expressas em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Conc.	AS	Conc.	IB	Conc.	CA	Conc.	NA	Conc.	CE	Conc.	DC	Conc.	AC-2 TrMSi	Conc.	AC- TrMSi	Conc.	DP
1300	9291440 9810091 9844851	1180	4072576 4087881 4042028	1020	3882117 3905881 3880415	1000	3708538 3677733 3564784	1020	1912457 2011125 1832348	1140	353712 356426 290214	980	4692260 4674890 4622562	980	1173065 1124432 1114918	1000	91909 85095 85230
<b>Média</b>	<b>9648794 (3,2)</b>	<b>Média</b>	<b>4067495 (0,6)</b>	<b>Média</b>	<b>3889471 (0,4)</b>	<b>Média</b>	<b>3650352 (2,1)</b>	<b>Média</b>	<b>1918643 (4,7)</b>	<b>Média</b>	<b>333451 (11,2)</b>	<b>Média</b>	<b>4663237 (0,8)</b>	<b>Média</b>	<b>1137472 (2,7)</b>	<b>Média</b>	<b>87411 (4,5)</b>
910	6416689 6799064 6926862	826	2871085 2889446 2898019	714	2836866 2815761 2843670	700	2600204 2558646 2541870	714	1250533 1278706 1238477	798	280313 257744 220783	686	3029717 3035733 3035415	686	911547 849317 841409	700	63200 60716 59141
<b>Média</b>	<b>6714205 (4,0)</b>	<b>Média</b>	<b>2886183 (0,5)</b>	<b>Média</b>	<b>2832099 (0,5)</b>	<b>Média</b>	<b>2566907 (1,2)</b>	<b>Média</b>	<b>1255905 (1,6)</b>	<b>Média</b>	<b>252947 (11,9)</b>	<b>Média</b>	<b>3033622 (0,1)</b>	<b>Média</b>	<b>867424 (4,4)</b>	<b>Média</b>	<b>61019 (3,6)</b>
650	4719674 4912817 5052783	590	2157577 2149900 2196186	510	2173128 2181578 2182585	500	1876887 1830937 1868317	510	752552 756052 751431	570	203323 183963 167374	490	2130038 2172913 2219391	490	787940 709286 727574	500	46876 50635 47724
<b>Média</b>	<b>4895091 (3,4)</b>	<b>Média</b>	<b>2167888 (1,1)</b>	<b>Média</b>	<b>2179097 (0,2)</b>	<b>Média</b>	<b>1858714 (1,3)</b>	<b>Média</b>	<b>753345 (0,32)</b>	<b>Média</b>	<b>184887 (9,7)</b>	<b>Média</b>	<b>2174114 (2,1)</b>	<b>Média</b>	<b>741600 (5,6)</b>	<b>Média</b>	<b>48412 (4,1)</b>
390	3364805 3333677 3371867	354	1300953 1289165 1268118	306	1354922 1345535 1312198	300	1179820 1124927 1121507	306	511427 478824 487807	342	90652 66867 73995	294	1755500 1822886 1847525	294	194079 142568 139162	300	22050 22266 19178
<b>Média</b>	<b>3356783 (0,6)</b>	<b>Média</b>	<b>1286079 (1,3)</b>	<b>Média</b>	<b>1337552 (1,7)</b>	<b>Média</b>	<b>1142085 (2,9)</b>	<b>Média</b>	<b>492686 (3,4)</b>	<b>Média</b>	<b>77171 (15,8)</b>	<b>Média</b>	<b>1808637 (2,6)</b>	<b>Média</b>	<b>158603 (19,4)</b>	<b>Média</b>	<b>21165 (8,2)</b>
130	1147680 1159346 1160749	118	416215 413974 411837	102	426047 431740 424909	100	336530 325075 327368	102	141591 143585 145702	114	31457 28943 28136	98	500400 501997 512778	98	105971 79335 77658	100	7505 7369 6382
<b>Média</b>	<b>1155925 (0,6)</b>	<b>Média</b>	<b>414009 (0,5)</b>	<b>Média</b>	<b>427565 (0,9)</b>	<b>Média</b>	<b>329658 (1,8)</b>	<b>Média</b>	<b>143626 (1,4)</b>	<b>Média</b>	<b>29512 (5,9)</b>	<b>Média</b>	<b>505058 (1,3)</b>	<b>Média</b>	<b>87655 (18,1)</b>	<b>Média</b>	<b>7085 (8,7)</b>
13	421546 397616 413109	11,8	138533 76075 72806	10,2	57152 56719 56994	10	160137 137086 132254	10,2	134044 179002 204946	11,4	9824 7891 8814	9,8	56167 62682 63518	9,8	10638 5879 5866	10	0 0 0
<b>Média</b>	<b>410757 (3,0)</b>	<b>Média</b>	<b>95805 (38,7)</b>	<b>Média</b>	<b>56955 (0,4)</b>	<b>Média</b>	<b>143159 (10,4)</b>	<b>Média</b>	<b>172664 (20,8)</b>	<b>Média</b>	<b>8843 (10,9)</b>	<b>Média</b>	<b>60789 (6,6)</b>	<b>Média</b>	<b>7461 (36,9)</b>	<b>Média</b>	<b>0</b>

### 5.6.2 Precisão (repetitividade)

Os resultados de precisão foram determinados com relação à repetitividade para soluções padrão em solvente analisadas em triplicata no mesmo dia. A reprodutibilidade foram determinados pela análise de soluções padrão em solvente, em dias diferentes. Todos estes dados encontram-se no Anexo X. Na tabela 23, tem-se o CV% para a repe do primeiro dia e a reprô entre cinco dias consecutivos.

Tabela 23. Avaliação da Precisão

<b>Composto</b>	<b>Repê</b>	<b>Repro</b>
<b>Ácido Salicílico</b>	17,5	6,69
<b>Ibuprofeno</b>	3,5	2,15
<b>Cafeína</b>	1,1	0,38
<b>Naproxeno</b>	3,2	1,94
<b>Cetoprofeno</b>	14,5	7,04
<b>Diclofenaco</b>	2,8	5,71
<b>Acetaminofeno- TrMSi</b>	31,3	4,18
<b>Dipirona</b>	-	-

Todos estes valores são aceitos a um nível de confiança de 95%, segundo Leite, 2002<sup>104</sup>, demonstrando que para as soluções padrão no solvente, os compostos de mostraram estáveis após cinco dias de armazenamento.

A repetitividade dos dados para as amostras de efluente da estação piloto, em termos de média e CV%, são apresentadas na tabela 24.

Tabela 24. Repetitividade dos dados em amostras de efluente da estação piloto.

<b>Analito</b>	<b>CV%</b>
<b>Ácido Salicílico</b>	36,8
<b>Ibuprofeno</b>	34,9
<b>Cafeína</b>	5,2
<b>Naproxeno</b>	33,4
<b>Cetoprofeno</b>	33,5
<b>Diclofenaco</b>	20,9
<b>Acetaminofeno-2 TrMSi</b>	18,7
<b>Acetaminofeno- TrMSi</b>	20,4
<b>Dipirona</b>	2,2

### 5.6.3 Recuperação

As recuperações de cada composto foram determinadas em três diferentes matrizes: água HPLC; água de Rio e efluente. A comparação das áreas obtidas para os analitos nestas matrizes, foi realizada com a solução padrão dos analitos no solvente, a partir da equação 2.

$$\text{Recuperação Absoluta (\%)} = \left( \frac{A_i(\text{aq})}{A_i(\text{s})} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde:

$A_i(\text{aq})$  – área do composto na matriz aquosa, após passar pelo procedimento analítico;

$A_i(\text{s})$  – área do composto na solução padrão em solvente após a derivatização.

As recuperações obtidas para cada analito são apresentadas na Tabela 24.

Tabela 25. Recuperações dos analitos em diferentes matrizes

Analito	Recuperação Absoluta			Recuperação Relativa
	Água HPLC	Água de Rio	Efluente	Efluente
Ácido Salicílico	0,72	0,92	0,34	47
Ibuprofeno	7,76	4,77	4,54	58
Cafeína	132,06	177,81	133,97	101
Naproxeno	2,08	0,84	0,67	32
Cetoprofeno	180,85	179,81	137,56	76
Diclofenaco	5,63	12,05	6,10	108
AC-2 TrMSi	1,93	2,36	1,63	84
AC- TrMSi	4,76	3,54	8,69	182
Dipirona	24,50	79,83	26,84	109

AC - Acetaminofeno

Observa-se a baixíssima recuperação do ácido salicílico ( $pK_a=3,5$ ), que pode ser atribuída à elevada solubilidade deste composto em água. Apesar das soluções aquosas terem o pH ajustado em 3,0 para deslocar o equilíbrio deste ácido para a forma protonada, a retenção na fase sólida é muito baixa. De um modo geral todas as recuperações absolutas são muito baixas podendo indicar que o procedimento analítico proposto não seja adequado.

Entretanto, comparando-se os dados de recuperação absoluta nas três matrizes, observa-se que a variação é pequena evidenciando que a esta fica dentro de valores aceitáveis

(32 a 108 %) e que a quantificação deve ser realizada com a curva na matriz para que os resultados possam ser considerados satisfatórios.

As recuperações designadas como “recuperações absolutas” não levam em conta o efeito da matriz, ou seja, a comparação foi realizada com a solução padrão no solvente. Para que se tenha a recuperação relativa, que é uma representação mais adequada do que ocorre com o sistema, é necessário a curva analítica na matriz.

## **5.7 AMOSTRAGEM E ANÁLISE DE AMOSTRAS AQUOSAS AMBIENTAIS**

### **5.7.1 Amostragem**

As amostras ambientais coletadas para análise podem ser divididas em três grupos:

- Amostras de uma Planta Piloto de Tratamento de Efluente que utiliza processos de tratamento anaeróbio;
- Amostras do Arroio Dilúvio que corta a cidade de Porto Alegre.

As amostras de efluente e afluente da Planta Piloto, foram coletadas nos meses de janeiro e fevereiro de 2012.

As amostras do Arroio Dilúvio foram coletadas em quatro pontos desde a sua nascente até sua foz, assim distribuídas: i) Nascente do Arroio Dilúvio localizada no Parque Natural Saint-Hilaire (Viamão, RS); ii) Arroio Dilúvio na Avenida Ipiranga (Porto Alegre, RS), cruzamento com a Avenida Antonio de Carvalho; iii) Arroio Dilúvio na Avenida Ipiranga, cruzamento com a Rua Barão do Amazonas e, iv) Arroio Dilúvio na Avenida Ipiranga, cruzamento com a Avenida Praia de Belas. Os pontos de Coleta no Arroio Dilúvio podem ser visualizados na figura 39.



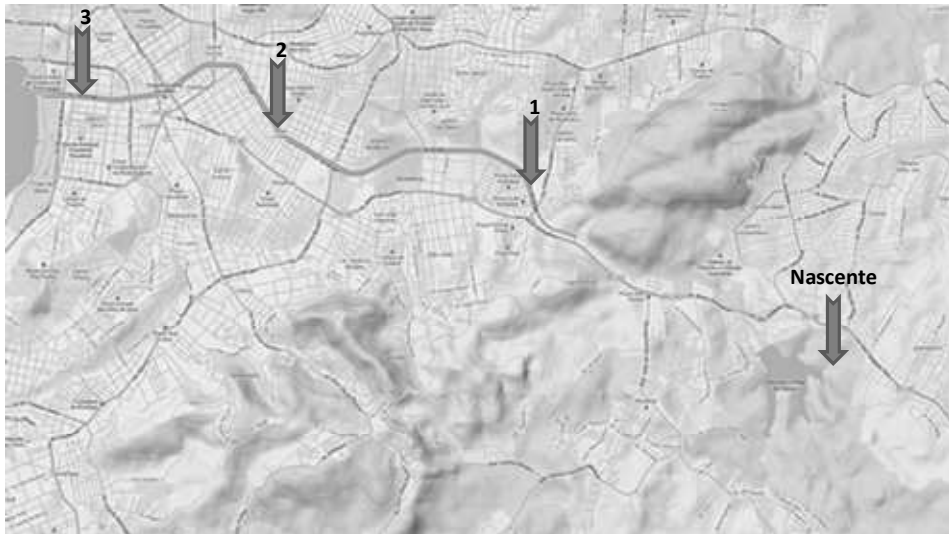


Figura 39. Localização geográfica dos pontos de coleta do Arroio Dilúvio

### 5.7.2 Quantificação das amostras aquosas ambientais

A quantificação das amostras ambientais foi realizada através da equação da reta para a curva analítica de cada analito. Os resultados são mostrados nas tabelas 26 e 27.

Na estação piloto, foram realizadas duas coletas e observa-se grande variação nos resultados obtidos. Diversos fatores podem ser relacionados a estes dados, dentre eles o fato de que a estação reiniciou seu funcionamento apenas à poucos meses e vários ajustes ainda estão sendo realizados.

As amostras do Arroio Dilúvio também mostraram grande variação nos dados, mas ressalta-se o fato de que todos os AINEs analisados terem sido quantificados nas amostras. É importante enfatizar que o Arroio Dilúvio, além de receber efluente hospitalar e doméstico, também recebe água da chuva e muitos outros despejos desconhecidos.

Tabela 26. Linearidade, Limites de Detecção e de Quantificação para as Curvas na Matriz

Composto	Equação da reta	R2	Instrumental ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Do método - Efluente ( $\text{ng L}^{-1}$ )		Do método – Afluente/Dilúvio ( $\text{ng L}^{-1}$ )	
			LD	LQ	LD	LQ	LD	LQ
<b>Ibuprofeno</b>	$y = 26,342x + 3261,5$	0,9937	11,68	38,94	194,70	649,01	58,41	194,70
<b>Cafeína</b>	$y = 2987,9x + 184053$	0,9991	0,22	0,73	3,63	12,09	1,09	3,63
<b>Naproxeno</b>	$y = 9,2004x + 997,79$	0,9918	64,75	215,83	1079,14	3597,12	323,74	1079,14
<b>Cetoprofeno</b>	$y = 1251,1x + 39585$	0,9998	7,04	23,47	117,37	391,24	35,21	117,37
<b>AC-2 TrMSi</b>	$y = 43,799x - 4312,1$	0,9938	12,30	40,98	204,92	683,06	61,48	204,92
<b>AC- TrMSi</b>	$y = 69,664x + 41236$	0,9889	5,62	18,73	93,63	312,11	28,09	93,63
<b>Dipirona</b>	$y = 31,53x - 6659,7$	0,9996	50,28	167,60	837,99	2793,30	251,40	837,99

AC- Acetaminofeno

Tabela 27. Concentrações dos analitos nas amostras da Estação Piloto e do Arroio Dilúvio em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , valores entre parênteses correspondem ao CV%.

Amostra		Ibuprofeno	Cafeína	Naproxeno	Cetoprofeno	AC-2 TrMSi	AC- TrMSi	Dipirona
<b>Estação Piloto 01/12</b>	<b>Efluente</b>	10,48 (12,0)	0,66 (52,4)	nd	<LOQ	nd	<LOQ	nd
	<b>Afluente</b>	4,08 (40,2)	6,59 (5,4)	1,87 (51,8)	<LOQ	4,42 (20,7)	<LOQ	7,14 (1,9)
<b>Estação Piloto 02/12</b>	<b>Efluente</b>	<LOQ	0,21 (55,0)	<LOQ	nd	nd	<LOQ	nd
	<b>Afluente</b>	3,49 (1,2)	1,32 (17,0)	1,66 (49,0)	<LOQ	2,02 (19,4)	<LOQ	1,64 (6,8)
<b>Dilúvio Nascente</b>		<LOQ	<LOQ	nd	nd	nd	nd	nd
<b>Dilúvio 1 01/12</b>		20,62 (18,5)	0,09 (52,9)	6,04 (45,6)	0,25 (120)	nd	<LOQ	nd
<b>Dilúvio 2 01/12</b>		23,16 (50,6)	1,24 (21,1)	12,60 (67,1)	<LOQ	nd	<LOQ	1,38 (8,5)
<b>Dilúvio 3 01/12</b>		<LOQ	0,44 (18,9)	nd	nd	nd	<LOQ	1,16 (5,9)
<b>Dilúvio 1 02/12</b>		nd	<LOQ	nd	nd	nd	nd	nd
<b>Dilúvio 2 02/12</b>		<LOQ	0,21 (17,9)	nd	nd	nd	nd	nd
<b>Dilúvio 3 02/12</b>		<LOQ	0,47 (6,4)	nd	nd	nd	nd	nd

AC- Acetaminofeno

A análise dos dados obtidos das amostras reais, nos mostra que em pelo menos duas delas todos os AINEs estudados foram detectados. Em relação as amostras de efluente e afluente da Estação Piloto, houve um aumento na concentração dos AINEs, isso se deve ao fato de que, nas duas coletas realizadas choveu na noite anterior a coleta e, como se trata de uma estação piloto em fase de implementação, não funcionava todo o tempo e assim, as amostras coletadas no efluente estavam diluídas pelo volume de chuva resultando em concentrações menores do que aquelas encontradas no afluente. Serão necessárias mais coletas ao longo de um período maior de tempo para que se possa ter condições de análise da taxa de remoção destes compostos pelo processo de tratamento utilizado na estação.

Em relação às amostras do Arroio Dilúvio, não foram quantificados AINEs na nascente, o que era de se esperar e demonstra que esta não sujeita a interferências antropogênicas. Nos diferentes pontos de coleta, ocorrem concentrações muito variadas, isso se deve ao fato da grande diversidade de efluentes que o Arroio Dilúvio recebe ao longo de seu percurso.

Tabela 28. Comparação entre as concentrações de AINEs encontradas em diferentes países e as concentrações encontradas neste trabalho para efluente e afluente e águas superficiais, concentrações em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

AINE	Efluente*		Afluente*		Águas Superficiais*	
	Encontrado	Encontrado	Encontrado	Encontrado	Encontrado	Encontrado
<b>Acetaminofeno</b>	ND - 246	<LOQ	ND - 20	<LOQ 4,42	ND - 72,3	ND - <LOQ
<b>Diclofenaco</b>	ND- 4,11	Não Quant.	ND - 6,36	Não Quant.	ND - 0,19	Não Quant.
<b>Ibuprofeno</b>	ND - 168	<LOQ- 10,48	ND - 28	3,49 - 4,08	ND - 2,2	ND - 23,11
<b>Naproxeno</b>	N - 11,61	ND - <LOQ	ND - 7,62	1,66 - 1,87	ND -0,551	ND - 12,6
<b>Cetoprofeno</b>	<LOQ- 5,70	ND - <LOQ	ND - 1,39	<LOQ	ND -0,142	ND - 0,25
<b>Ácido Salicílico</b>	0,11 -874	Não Quant.	<LOQ- 59,60	Não Quant.	ND - 9,60	Não Quant.
<b>Dipirona</b>	4,7 - 24	ND	2,4 - 7,5	1,67 - 7,14		ND - 1,38

(\*) – Concentrações de anti-inflamatórios encontrados em diversas publicações do ano de 2001 até 2011.

Os valores encontrados nas análises de amostras reais da Estação Piloto e também do Arroio Dilúvio estão dentro da faixa de concentração em que estes compostos já foram encontrados em diferentes países, sendo a grande maioria até mesmo abaixo desta faixa de concentração encontrada no mundo.

### 5.7.3 Análise de AINEs em amostras aquosas no Brasil

Uma pesquisa realizada na base de dados *web of science* e também no banco de teses e dissertações da Capes, revelou que existem poucas pesquisas que analisam AINEs em amostras aquosas aqui no Brasil. O que encontrou-se referente aos AINEs foi um estudo Sodré et al. (2007)<sup>105</sup>, com amostras de água superficial no estado de São Paulo, em 2006, por SPE e HPLC com detectores DAD e fluorescência, onde foi detectada a presença de acetaminofeno, cafeína e ácido acetilsalicílico, além de outros fármacos como di-*n*-butilftalato, bisfenol A, 17 -estradiol e 17 -etinilestradiol nas faixas de concentra o entre 0,005 até 41,7  $\mu\text{g L}^{-1}$ <sup>105</sup>. A compara o entre as concentra es encontradas pelo autor no estudo e os valores de concentra o encontrados no presente trabalho são mostradas na tabela 29.

Tabela 29. Compara o entre as concentra es de AINEs encontradas por Sodré et al. (2007)<sup>105</sup> e as concentra es encontradas neste trabalho em águas superficiais em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

AINE	Sodré et al, 2007	Amostras analisadas neste trabalho
Paracetamol	ND – 0,84	ND - <LOQ
Cafeína	<LQ – 32,4	<LOQ – 1,24
Diclofenaco	ND	Não foi quantificado
Ibuprofeno	ND	ND – 23,16

As concentra es encontradas mostram-se semelhantes àquelas encontradas no trabalho realizado em 2007 em São Paulo. Além deste, em termos de AINEs no Brasil, foi encontrado outro estudo realizado por Stumpf et al. (1999)<sup>26</sup> no qual foi detectada a presença de 13 resíduos de drogas como diclofenaco, ácido clofíbrico e naproxeno em amostras de rio do Rio de Janeiro e também em amostras de efluente e afluentes do Rio de Janeiro. Uma

comparação entre os dados obtidos pelos autores e os dados que se obtiveram neste estudo são apresentados na tabela 30 e 31.

Tabela 30. Comparação entre concentrações encontradas em efluente e afluente por Stumpf et al (1999) no Rio de Janeiro e concentrações encontradas neste trabalho em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

AINE	Stumpf et al (1999)		Neste trabalho	
	Efluente*	Afluente	Efluente	Afluente
<b>Diclofenaco</b>	0,85	0,18	Não Quant.	Não Quant.
<b>Ibuprofeno</b>	0,35	0,10	<LOQ – 10,48	3,49 – 4,08
<b>Naproxeno</b>	0,55	0,10	ND - <LOQ	1,66 – 1,87
<b>Cetoprofeno</b>	0,50	0,15	ND - <LOQ	<LOQ

Tabela 31. Comparação entre concentrações encontradas em Águas Superficiais por Stumpf et al (1999) no Rio de Janeiro e concentrações encontradas neste trabalho em  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Análito	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Stumpf et al (1999)								Neste Trabalho
		Resende	Vargem -Alegre	Barra do Pirai	Três Rios	Além Paraíba	Itaocara	Cambuci	Campos	Arroio Dilúvio
<b>Ibuprofeno</b>	0,01	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	ND – 23,16
<b>Diclofenaco</b>	0,01	0,02	0,06	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02	<LOD	Não quantificado
<b>Naproxeno</b>	0,01	0,03	0,05	<LOD	<LOD	0,03	0,02	<LOD	0,02	ND – 12,60

A comparação entre as concentrações encontradas neste trabalho e as encontradas por Stumpf et al (1999) tanto em águas superficiais como em afluente e efluente, mostra que há uma variação maior nas concentrações. Isso se deve a grande heterogeneidade de fontes de contaminação próximo aos locais de coleta das amostras.

Além destes dois trabalhos, outros trabalhos foram encontrados, porém, analisavam fármacos de outras classes, principalmente estrógenos. Estudo realizado por Sodré et al (2010)<sup>106</sup> com amostras de água superficial da de São Paulo além de efluente da cidade de Campinas utilizando HPLC com detecção por MS em série encontrou valores de estrogênios e

xenoestrogênios, estrona,  $17\beta$ -estradiol, estriol,  $17\alpha$ -etinilestradiol, bisfenol A, 4-n-octilfenol e 4-n-nonilfenol, nas faixas de 2,2 até 39 ng L<sup>-1</sup>, sendo os maiores valores foram encontrados para bisfenol A, que apresentou concentrações que variaram entre 25 até 84 ng L<sup>-1</sup>.

Outro estudo com fármacos no Brasil, desenvolvido por Kuster et al (2009)<sup>107</sup> com água de rio da cidade do Rio de Janeiro, determinou 19 interferentes endócrinos como estrógeno, progesterona, estrona, estradiol, etc., através de SPE e HPLC acoplada ao detector de MS em série. Os resultados revelaram níveis mais elevados para os fitoestrogênios com valores de até 366 ng L<sup>-1</sup>, progesterona com 47 ng L<sup>-1</sup> e de estrogênios com até 7 ng L<sup>-1</sup>. Um último com fármacos no Brasil encontrado, foi o realizado por Ternes et al. (1999)<sup>108</sup>, no qual detectaram estrogênios naturais e contraceptivos sintéticos na estação de tratamento de efluentes (ETE) da Penha, Rio de Janeiro.

Há poucos estudos referentes aos níveis de concentração de AINEs em amostras aquosas ambientais aqui no Brasil, o que comprova a necessidade desses compostos serem estudados em diferentes matrizes para que se tenham dados mais sólidos quanto aos níveis de concentração dos mesmos no ambiente aquático brasileiro.

## 6. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi realizada a otimização da reação de derivatização para determinação simultânea de 7 AINEs, utilizando o planejamento Doehlert. Este planejamento mostrou-se mais adequado que o tradicional planejamento fatorial devido ao menor número de experimentos necessários, bem como pelo fato de que os dados são dispostos em uma superfície de resposta que facilita a interpretação dos mesmos.

O processo de silição se mostrou efetivo como processo de derivatização dos compostos que apresentam em sua estrutura hidrogênios ativos, permitindo que os mesmos fossem analisados por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC/MS).

O procedimento de SPE, mostrou-se adequado para a maioria dos compostos no entanto apresentou recuperações muito baixas principalmente para o ácido salicílico, acetaminofeno e naproxeno.

Os parâmetros de validação avaliados atenderam às normas seguidas neste trabalho para estudos em nível de traços.

A análise das amostras reais mostrou que o sistema de tratamento de efluentes utilizado na estação piloto remove parcialmente os fármacos. Deve-se salientar que o processo utilizado é anaeróbio e a estação ainda está em fase de finalização. Com relação ao Arroio Dilúvio, observa-se que todos os compostos analisados estão presentes nas amostras coletadas.



## **7. TRABALHOS FUTUROS**

A partir dos dados obtidos durante a realização deste trabalho, os seguintes trabalhos futuros podem ser sugeridos:

- otimização das etapas de extração em fase sólida para melhorar a recuperação de alguns analitos;
- analisar maior número de amostras do Arroio Diluvio (monitoramento);
- realizar monitoramento na estação piloto a fim de avaliar os processos que estão sendo desenvolvidos na mesma;
- avaliar a taxa de degradação dos compostos em estudo, bem como os produtos de degradação dos mesmos;
- verificar a toxicidade dos compostos e, de seus produtos de degradação.

## 8. REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> PALMA, P. et al. *Environment International*, v. 35, n. 3, p. 545-551, 2009.
- <sup>2</sup> BILA, D. M.; DEZOTTI, M. *Química Nova*. São Paulo: SBQ. v. 26, p. 523-530, 2003.
- <sup>3</sup> HEBERER, T. *Toxicology Letters*, v. 131, n. 1-2, p. 5-17, 2002
- <sup>4</sup> ZIYLAN, A.; INCE, N. H. *Journal of Hazardous Materials*, v. 187, n. 1-3, p. 24-36, 2011.
- <sup>5</sup> LUZ, T. C. B. et al. *Revista Brasileira de Epidemiologia*. v.9, p. 514 - 526, 2006.
- <sup>6</sup> BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RDC nº 138, de 29 de maio de 2003*. Brasília, DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil 2003.
- <sup>7</sup> \_\_\_\_\_. *A experiência do Programa Despoluição de Bacias Hidrográficas – Prodes*. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente. Agência Nacional de Águas 2009.
- <sup>8</sup> BLAU, K.; HALKET, J. M. *Handbook of Derivatives for Chromatography*. 2ed. Chichester: John Wiley & Sons, 1993.
- <sup>9</sup> LEE, H. B. et al *Journal of Chromatography A*, v. 1094, n. 1-2, p. 122-129, 2005.
- <sup>10</sup> AZZOUZ, A. et al. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, n. 17, p. 2956-2963, 2010.
- <sup>11</sup> TOGOLA, A.; BUDZINSKI, H. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 388, n. 3, p. 627-635, 2007.
- <sup>12</sup> XU, J. et al. *Journal of Health Science*, v. 55, n. 2, p. 306-310, 2009.
- <sup>13</sup> MURRAY, K. E. et al *Environmental Pollution*, v. 158, n. 12, p. 3462-3471, 2010.
- <sup>14</sup> BARCELO, D. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, v. 22, n. 10, p. XIV-XVI, 2003.
- <sup>15</sup> ALDA, M. J. L. et al. *Water Pollution: Emerging organic pollution in waste waters and sludge*. Barcelona: Springer-Verlag Heidelberg, 2004. 181
- <sup>16</sup> BABIC, S. et al. *Talanta*, v. 70, n. 4, p. 732-738, 2006.
- <sup>17</sup> SIRTORI, C. *Evaluación Analítica de Procesos de Transformación Biológica, Fotoquímica y Fotocatalítica de Fármacos en Agua*. 2010. 276 (Tese de Doutorado). Departamento de Hidrogeología y Química Analítica, Universidad de Almería, Almería.

- 18 E., S.-Z.; G.M., F. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, v. 37, 1965.
- 19 H.H., T.; R.L., B. *Developments in Industrial Microbiology*, v. 11, 1970.
- 20 AHERNE, G. W.; BRIGGS, R. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 41, n. 10,  
p. 735-736, 1989.
- 21 H.E., B. et al. *Water-Resources Investigations Report*, v. 96, 1996.
- 22 A.W., G.; J.D., P.; F.R., A. *Identification and analysis of organic pollutants in water*.  
Ann Arbor: Ann Arbor Science Publishers 1976. p.517-556.
- 23 A., W. In: ANN ARBOR, M. (Ed.). *Chemical Water Reuse*. Ann Arbor Sci, 1981.  
p.55-99.
- 24 BUERGE, I. J. et al. *Environmental Science & Technology*, v. 37, n. 4, p. 691-700,  
2003.
- 25 GROS, M. et al. *Environment International*, v. 36, n. 1, p. 15-26, 2010.
- 26 STUMPF, M. et al. *Science of the Total Environment*, v. 225, n. 1-2, p. 135-141,  
1999.
- 27 NIKOLAOU, A.; MERIC, S.; FATTA, D. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.  
387, n. 4, p. 1225-1234, 2007.
- 28 FATTA-KASSINOS, D.; MERIC, S.; NIKOLAOU, A. *Analytical and Bioanalytical  
Chemistry*, v. 399, n. 1, p. 251-275, 2011.
- 29 NAKATA, H. et al. *Chemosphere*, v. 58, n. 6, p. 759-766, 2005.
- 30 TIXIER, C. et al. *Environmental Science & Technology*, v. 37, n. 6, p. 1061-1068,  
2003.
- 31 KOLPIN, D. W. et al. *Environmental Science & Technology*, v. 36, n. 6, p. 1202-  
1211, 2002.
- 32 TERNES, T. A. *Water Research*, v. 32, n. 11, p. 3245-3260, 1998.
- 33 BOYD, G. R. et al. *Science of the Total Environment*, v. 333, n. 1-3, p. 137-148,  
2004.
- 34 ZHANG, S. et al. *Chemosphere*, v. 66, n. 6, p. 1057-1069, 2007.
- 35 THOMAS, K. V.; HILTON, M. J. *Marine Pollution Bulletin*, v. 49, n. 5-6, p. 436-444,  
2004.
- 36 HEBERER, T. et al.. In: C.G, D. e JONES-LEPP (Ed.). *Pharmaceuticals and  
Personal Care Products in the Environment*. T.L. ACS symposium series, 2001.

- 37 GROS, M.; PETROVIC, M.; BARCELO, D. *Talanta*, v. 70, n. 4, p. 678-690, 2006.
- 38 KIM, S. D. et al. *Water Research*, v. 41, n. 5, p. 1013-1021, 2007.
- 39 ZUCCATO, E. et al *Journal of Hazardous Materials*, v. 122, n. 3, p. 205-209, 2005.
- 40 NAKADA, N. et al.. *Water Science and Technology*, v. 56, n. 12, p. 133-140, 2007.
- 41 WIEGEL, S. et al. *Chemosphere*, v. 57, n. 2, p. 107-126, 2004.
- 42 SACHER, F. et al. *Journal of Chromatography A*, v. 938, n. 1-2, p. 199-210, 2001.
- 43 SNYDER, S. A. et al. In: DAUGHTON, C. G. e JONES-LEPP, T. L. (Ed.). *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment*. ACS symposium series 2001.
- 44 MOLDOVAN, Z. *Chemosphere*, v. 64, n. 11, p. 1808-1817, 2006.
- 45 TERNES, T. A. et al. *Chemosphere*, v. 66, n. 5, p. 894-904, 2007.
- 46 OVERACRE, R. et al. *Reclaimed water aquifer storage and recovery: potential changes in water quality*. Proceedings WEFTEC. Dalas 2006.
- 47 WEIGEL, S. et al. *Science of the Total Environment*, v. 295, n. 1-3, p. 131-141, 2002.
- 48 HERNANDO, M. D. et al. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, v. 26, n. 6, p. 581-594, 2007.
- 49 BRASIL. *Resolução CONAMA 357/2005*. AMBIENTE, C. N. D. M. 2005.
- 50 \_\_\_\_\_. *Portaria MS nº 518/2004* SAÚDE, M. D. Brasilia 2005.
- 51 EMA. European Medicines Agency. [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu), Acesso em: 11/02/2012.
- 52 BILA, D. M.; DEZOTTI, M. *Química Nova*, v. 30, n. 3, p. 651 - 666, 2007.
- 53 HARDMAN, J. G.; GILMAN, L. *Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 10ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005.
- 54 KHAN, S. J.; ONGERTH, J. E. *Chemosphere*, v. 54, n. 3, p. 355-367, 2004.
- 55 KEPP, D. R.; SIDELMANN, U. G.; HANSEN, S. H. *Pharmaceutical Research*, v. 14, n. 5, p. 676-680, 1997.
- 56 VREE, T. B. et al. *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 35, n. 5, p. 467-472, 1993.
- 57 VIENO, N. (Tese de doutorado). Tampere University of Technology, Tampere, 2007.

- 58 BRASIL. *Sinopse do Censo Demográfico 2010*. MINISTÉRIO DO PLANEJAMENTO, Rio de Janeiro 2011.
- 59 RANG, H. P. et al. *Farmacologia*. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.
- 60 SMITH, R. M. *Journal of Chromatography A*, v. 1000, n. 1-2, p. 3-27, 2003.
- 61 PEDROSO, R. C. R. et al. *Quimica Nova*, v. 34, n. 2, p. 206-255, 2011.
- 62 BISCEGLIA, K. J. et al. *Journal of Chromatography A*, v. 1217, n. 4, p. 558-564, 2010.
- 63 GOMEZ, M. J. et al. *Talanta*, v. 73, n. 2, p. 314-320, 2007.
- 64 TOGOLA, A.; BUDZINSKI, H. *Journal of Chromatography A*, v. 1177, n. 1, p. 150-158, 2008.
- 65 LEE, R. B. et al. *Water Quality Research Journal of Canada*, v. 38, n. 4, p. 667-682, 2003.
- 66 RODRIGUEZ, I. et al. *Journal of Chromatography A*, v. 985, n. 1-2, p. 265-274, 2003.
- 67 MCARDELL, C. S. et al. In: TERNES, T. A. e JOSS, A. (Ed.). *Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances- The challenge of micropollutants in urban water management: IWA publishing*, 2006. cap. 3, p.55-105.
- 68 GOMEZ, M. J. et al. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 86, n. 1-2, p. 3-13, 2006.
- 69 KOSJEK, T.; HEATH, E.; KRBAVCIC, A. *Environment International*, v. 31, n. 5, p. 679-685, 2005.
- 70 HILTON, M. J.; THOMAS, K. V. *Journal of Chromatography A*, v. 1015, n. 1-2, p. 129-141, 2003.
- 71 GENTILI, A. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 387, n. 4, p. 1185-1202, 2007.
- 72 SCHUMMER, C. et al. *Talanta*, v. 77, n. 4, p. 1473-1482, 2009.
- 73 COLLINS, C. H.; BRAGA, G.; BONATO, P. S. *Fundamentos de Cromatografia. 1*. Campinas: UNICAMP, 2006.
- 74 LIN, D.-L. et al. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2008.
- 75 SEGURA, J.; VENTURA, R.; JURADO, C. *Journal of Chromatography B*, v. 713, n. 1, p. 61-90, 1998.
- 76 KARCH, S. B. *Drug Abuse Handbook*. CRC Press, 1998. 1138

- 77 SHAREEF, A. et al *Journal of Chromatography A*, v. 1108, n. 1, p. 121-128, 2006.
- 78 HALKET, J. M.; ZAIKIN, V. G. *European Journal of Mass Spectrometry*, v. 9, n. 1, p. 1-21, 2003. ISSN 1469-0667. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000182966800001 >.
- 79 KNAPP, D. R. *Handbook of Analytical Derivatization Reactions*. New York: John Wiley & Sons, 1979.
- 80 GREENE, T. W.; WUTS, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*. 3 ed. New York: John Wiley & Sons, 1999.
- 81 MCNAIR, H. M.; MILLER, J. M. *Basic Gas Chromatography*. 2 ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009.
- 82 POOLE, C. F. Chromatography. In: (Ed.). *Encyclopedia of Separation Science*, v.1, 2000. p.40-64.
- 83 W., G. *Micropol and Ecohazard*. Frankfurt/Main, Germany: p. 3-9, 2007.
- 84 FATTA, D. et al. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, v. 26, n. 6, p. 515-533, 2007.
- 85 SCHWARZENBACH, R. P. et al *Environmental Organic Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, 1993.
- 86 MATAMOROS, V.; GARCIA, J.; BAYONA, J. M. *Water Research*, v. 42, n. 3, p. 653-660, 2008.
- 87 LIN, W. C.; CHEN, H. C.; DING, W. H. *Journal of Chromatography A*, v. 1065, n. 2, p. 279-285, 2005.
- 88 BOYD, G. R. et al. *Science of the Total Environment*, v. 311, n. 1-3, p. 135-149, 2003.
- 89 WEIGEL, S.; KALLENBORN, R.; HUHNERFUSS, H. *Journal of Chromatography A*, v. 1023, n. 2, p. 183-195, 2004.
- 90 SEBOK, A. et al. *Talanta*, v. 76, n. 3, p. 642-650, 2008.
- 91 \_\_\_\_\_. *Journal of Chromatography A*, v. 1216, n. 12, p. 2288-2301, 2009.
- 92 GOMEZ, M. J. et al. *Chemosphere*, v. 66, n. 6, p. 993-1002, 2007.
- 93 MORACCI, L. F. S. 2008. (Dissertação de Mestrado). Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo.
- 94 INMETRO. *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos - DOQ-CGCRE-008*: INMETRO 2003.

- 95 RIBANI, M. et al. *Química Nova*. v.27, p. 771-780, 2004.
- 96 BRASIL. [www.ana.gov.br](http://www.ana.gov.br). 2012. Acesso em: 20/01/2012.
- 97 DEMAË. *Plano Diretor de Esgotos*. Prefeitura Municipal de Porto Alegre. Porto Alegre. 2009
- 98 TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D. *Wastewater engineering: treatment, disposal, and reuse*. 4 ed. Boston: McGraw-Hill, 2003.
- 99 CHAVES, E. S. *Esgotos*. Florianópolis 2008.
- 100 VIANA, R. D. 2005. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Sergipe, São Cristóvão.
- 101 SOUZA, K. R. 2005. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- 102 TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. *Química Nova*. v.29, p. 338 - 350, 2006.
- 103 ANVISA. Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003. 2003. Acesso em: 20/03/2012.
- 104 LEITE, F. *Validação em análise química*. 4 ed. Campinas-SP: Editora Átomo, 2002.
- 105 SODRÉ, F. F. et al. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*. v.2, p. 187-196, 2007.
- 106 SODRE, F. F. et al. *Microchemical Journal*, v. 96, n. 1, p. 92-98, 2010.
- 107 KUSTER, M. et al. *Environment International*, v. 35, n. 7, p. 997-1003, 2009.
- 108 TERNES, T. A. et al. *Science of the Total Environment*, v. 225, n. 1-2, p. 81-90, 1999.
- 109 LORAINE, G. A.; PETTIGROVE, M. E. *Environmental Science & Technology*, v. 40, n. 3, p. 687-695, 2006.
- 110 HIJOSA-VALSERO, M. et al. *Water Research*, v. 44, n. 12, p. 3669-3678, 2010.
- 111 VERENITCH, S. S. et al. *Journal of Chromatography A*, v. 1116, n. 1-2, p. 193-203, 2006.
- 112 AL-RIFAI, J. H.; GABEFISH, C. L.; SCHAEFER, A. I. *Chemosphere*, v. 69, n. 5, p. 803-815, 2007.
- 113 COMEAU, F. et al. *Science of the Total Environment*, v. 396, n. 2-3, p. 132-146, 2008.
- 114 CLARA, M. et al. *Water Research*, v. 39, n. 19, p. 4797-4807, 2005.

- 115 GIBSON, R. et al. *Journal of Chromatography A*, v. 1169, n. 1-2, p. 31-39, 2007.
- 116 KOUTSOUBA, V. et al. *Chemosphere*, v. 51, n. 2, p. 69-75, 2003.
- 117 OLLERS, S. et al.. *Journal of Chromatography A*, v. 911, n. 2, p. 225-234, 2001.
- 118 YU, C.-P.; CHU, K.-H. *Chemosphere*, v. 75, n. 10, p. 1281-1286, 2009.
- 119 TERNES, T.; BONERZ, M.; SCHMIDT, T. *Journal of Chromatography A*, v. 938, n. 1-2, p. 175-185, 2001.
- 120 DURAN-ALVAREZ, J. C. et al. *Talanta*, v. 78, n. 3, p. 1159-1166, 2009.
- 121 BENDZ, D. et al. *Journal of Hazardous Materials*, v. 122, n. 3, p. 195-204, 2005.
- 122 YU, Z.; et al *Journal of Chromatography A*, v. 1148, n. 1, p. 65-77, 2007.
- 123 BOUND, J. P.; VOULVOULIS, N. *Water Research*, v. 40, n. 15, p. 2885-2892, 2006.
- 124 KOSMA, C. I.; et al *Journal of Hazardous Materials*, v. 179, n. 1-3, p. 804-817, 2010.
- 125 METCALFE, C. D. et al. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 22, n. 12, p. 2872-2880, 2003.
- 126 \_\_\_\_\_. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 22, n. 12, p. 2881-2889, 2003.
- 127 SAMARAS, V. G. et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 399, n. 7, p. 2549-2561, 2011.
- 128 ZHAO, J.-L. et al. *Science of the Total Environment*, v. 407, n. 2, p. 962-974, 2009.
- 129 FERRARI, B. et al. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 55, n. 3, p. 359-370, 2003.



## 9. ANEXOS

### ANEXO I

Tabela de padrões de lançamento de efluente segundo Resolução CONAMA

TABELA X - LANÇAMENTO DE EFLUENTES	
PADRÕES	
Parâmetros inorgânicos	Valor máximo
Arsênio total	0,5 mg/L As
Bário total	5,0 mg/L Ba
Boro total	5,0 mg/L B
Cádmio total	0,2 mg/L Cd
Chumbo total	0,5 mg/L Pb
Cianeto total <i>(novo valor dado pela Resolução nº 397/08)</i>	0,2 mg/L CN 1,0 mg/L CN
Cianeto livre (destilável por ácidos fracos) <i>(nova redação e valor dados pela Resolução nº 397/08)</i>	0,2 mg/L CN
Cobre dissolvido	1,0 mg/L Cu
Cromo total hexavalente <i>(nova redação e valor dados pela Resolução nº 397/08)</i>	0,5 mg/L Cr 0,1 mg/L Cr <sup>6+</sup>
Cromo trivalente <i>(nova redação e valor dados pela Resolução nº 397/08)</i>	1,0 mg/L Cr <sup>3+</sup>
Estanho total	4,0 mg/L Sn
Ferro dissolvido	15,0 mg/L Fe <sup>78</sup>
Fluoreto total	10,0 mg/L F
Manganês dissolvido	1,0 mg/L Mn
Mercúrio total	0,01 mg/L Hg
Níquel total	2,0 mg/L Ni
Nitrogênio amoniacal total	20,0 mg/L N
Prata total	0,1 mg/L Ag
Selênio total	0,30 mg/L Se
Sulfeto	1,0 mg/L S
Zinco total	5,0 mg/L Zn
Parâmetros orgânicos	Valor máximo
Clorofórmio	1,0 mg/L
Dicloroetano (somatório de 1,1 + 1,2 cis + 1,2 trans) <i>(nova redação dada pela Resolução nº 397/08)</i>	1,0 mg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	0,5 mg/L C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
Tetracloroeto de Carbono	1,0 mg/L
Tricloroetano	1,0 mg/L

## ANEXO II

### Revisão da literatura quando a diferentes metodologias de SPE para AINEs.

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
<b>Ibuprofeno</b>	1,2 µm / pH 3	Oasis MAX (150 mg, 6 mL)	4 mL MeOH + 10 mL H2O pH 3	10 mL MeOH 2% ac fórmico	9
	0,7 µL/ acida	3M Empore SDB - RPS disk	5 mL MeOH + 5 mL sol MeOH 20%	3 mL acetona + 5 mL AcOEt	109
	filtrado pH 4	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	90
		Strata X (100 mg)		10 mL hexano / AcOEt (50/50)	86 110
	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	63
	5 µm / pH 2 - 2,5	Oasis HLB (60 mg)	3 mL acet et + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2,5	2 mL AcOEt	66
	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H2O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44
	pH 2 - 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL MeOH + 3 mL H2O	2 mL MeOH	87
	1,2 µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	pH 4	Oasis HLB e Strata X (200 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	91
	0,45 µm / pH 2	Supelco LC 18 (500 mg, 6 mL)	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL DCM + 2 mL H2O pH 2	3 X 3 mL MeOH	111
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	92
	0,45 µm / pH 7	Oasis HLB (60 mg)	1 mL acet et + 1 mL H2O	400 µL AcOEt	10
	pH 3	RP 18 (3 g, 6 mL)		AcOEt	114
1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 x 5 mL acetona + 5 mL H2O	5 mL acetona / 0,10 M carbonato hidrogenado de Na (40:60)	115	

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
	0,45 µm / pH < 2	C18	10 mL acetona + 10 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2,5 mL MeOH	116
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H2O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44
	0,45 µm / pH 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	2 mL solvente eluição + 2 mL MeOH + 3 mL H2O	6 mL AcOEt / Acetona (50/50)	117
	0,7 µm / pH 2	Oasis HLB		Eluido com MeOH	118
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
	1,2 µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	LLE	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL ácido acético/ H2O (10/90)	5,5 mL acetona / hidrogenocarbonato de sódio 0,10M (40/60)	120
	1,2 µm / pH < 3	RP-C18 (1 g, 6 ml)		10 mL acetona	121
	1,0-0,2 µm / pH < 2	SDB-XC Empore disk	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH + 10 mL H2O	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH	88
	0,45 µm	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL AcOEt + 3 mL acetona + 3 mL H2O pH 2	6 mL AcOEt/acetona (50/50)	122
		500 mg de LiChrolut ENV+		3 mL MeOH	123
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	125
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18		3 X 3 mL MeOH	126
	pH 2,5	C18 (500 mg, 6 mL)	3 X 2 mL AcOEt + 3 X 2 mL MeOH + 3 X 2 mL H2O + 4 mL H2O pH 2,5	3 X 2 mL AcOEt	127
	pH 2	Oasis HLB (60 mg)	3 mL AcOEt /acetona (50/50) + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2	9 mL AcOEt/acetona (50/50)	11
	pH 3	C18 (500 mg, 6 mL)		AcOEt	12
	0,7 µm	Oasis HLB (500 mg, 6 mL)	10 mL MeOH + 10 mL H2O	7 mL MeOH + 5 mL DCM	128
<b>Ácido Salicílico</b>	1,2 µm / pH 3	Oasis MAX (150 mg, 6 mL)	4 mL MeOH + 10 mL H2O pH 3	10 mL MeOH 2% ac fórmico	9
	pH 4	Oasis HLB e Strata X (200 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	91
	0,45 µm / pH 2	Supelco LC 18 (500 mg, 6 mL)	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL DCM + 2 mL H2O pH 2	3 X 3 mL MeOH	111

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 x 5 mL acetona + 5 mL H2O	5 mL acetona / 0,10 M carbonato hidrogenado de Na (40:60)	115
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
	0,45 µm	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL AcOEt + 3 mL acetona + 3 mL H2O pH 2	6 mL AcOEt/acetona (50/50)	122
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL de H2O	5 mL de acetona/0,10M hidrogenocarbonato de sódio (40/60) pH 10	115
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	125
	pH 2	Oasis HLB (60 mg)	3 mL AcOEt /acetona (50/50) + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2	9 mL AcOEt/acetona (50/50)	11
	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
		Strata X (100 mg)		10 mL hexano / AcOEt (50/50)	110
	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H2O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44
<b>Gemfibrozil</b>	1,2 µm / pH 3	Oasis MAX (150 mg, 6 mL)	4 mL MeOH + 10 mL H2O pH 3	10 mL MeOH 2% ac fórmico	9
	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	0,45 µm / pH 2	Supelco LC 18 (500 mg, 6 mL)	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL DCM + 2 mL H2O pH 2	3 X 3 mL MeOH	111
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 x 5 mL acetona + 5 mL H2O	5 mL acetona / 0,10 M carbonato hidrogenado de Na (40:60)	115
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
	LLE	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL ácido acético/ H2O (10/90)	5,5 mL acetona / hidrogenocarbonato de sódio 0,10M (40/60)	120

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
	1,2 µm / pH < 3	RP-C18 (1 g, 6 ml)		10 mL acetona	121
	0,45 µm	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL AcOEt + 3 mL acetona + 3 mL H2O pH 2	6 mL AcOEt/acetona (50/50)	122
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL de H2O	5 mL de acetona/0,10M hidrogenocarbonato de sódio (40/60) pH 10	115
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	125
	pH 2	Oasis HLB (60 mg)	3 mL AcOEt /acetona (50/50) + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2	9 mL AcOEt/acetona (50/50)	11
	0,7 µm	Oasis HLB (500 mg, 6 mL)	10 mL MeOH + 10 mL H2O	7 mL MeOH + 5 mL DCM	128
Naproxeno	1,2 µm / pH 3	Oasis MAX (150 mg, 6 mL)	4 mL MeOH + 10 mL H2O pH 3	10 mL MeOH 2% ac fórmico	9
	0,7 µL/ acidificado	3M Empore SDB - RPS disk	5 mL MeOH + 5 mL sol MeOH 20%	3 mL acetona + 5 mL AcOEt	109
	filtrado pH 4	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	90
		Strata X (100 mg)		10 mL hexano / AcOEt (50/50)	86
		Strata X (100 mg)		10 mL hexano / AcOEt (50/50)	110
	0,45 µm / pH 2,6	Strata X (60 mg, 3 mL)	1,5 mL MeOH + 1,5 mL matriz/solvente pH 2,6	3 X 0,5 mL MeOH	69
	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL AcOEt + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	5 µm / pH 2 - 2,5	Oasis HLB (60 mg)	3 mL acet et + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2,5	2 mL AcOEt	66
	pH 2 - 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL MeOH + 3 mL H2O	2 mL MeOH	87
	pH 4	Oasis HLB e Strata X (200 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	91
	0,45 µm / pH 2	Supelco LC 18 (500 mg, 6 mL)	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL DCM + 2 mL H2O pH 2		111
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	0,45 µm / pH 7	Oasis HLB (60 mg)	1 mL AcOEt + 1 mL H2O	400 µL AcOEt	10
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 x 5 mL acetona + 5 mL H2O	5 mL acetona / 0,10 M carbonato hidrogenado de Na (40:60)	115
1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65	

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
	0,45 µm / pH 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	2 mL solvente eluição + 2 mL MeOH + 3 mL H2O	6 mL AcOEt / Acetona (50/50)	117
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
	LLE	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL ácido acético/ H2O (10/90)	5,5 mL acetona / hidrogenocarbonato de sódio 0,10M (40/60)	120
	1,2 µm / pH < 3	RP-C18 (1 g, 6 ml)		10 mL acetona	121
	1,0 - 0,2 µm / pH < 2	SDB-XC Empore disk	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH + 10 mL H2O	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH	88
	0,45 µm	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL AcOEt + 3 mL acetona + 3 mL H2O pH 2	6 mL AcOEt/acetona (50/50)	122
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL de H2O	5 mL de acetona/0,10M hidrogenocarbonato de sódio (40/60) pH 10	115
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	125
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18		3 X 3 mL MeOH	126
	pH 2,5	C18 (500 mg, 6 mL)	3 X 2 mL AcOEt + 3 X 2 mL MeOH + 3 X 2 mL H2O + 4 mL H2O pH 2,5	3 x 2 mL AcOEt	127
	pH 2	Oasis HLB (60 mg)	3 mL AcOEt /acetona (50/50) + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2	9 mL AcOEt/acetona (50/50)	11
	pH 3	C18 (500 mg, 6 mL)		AcOEt	12
	0,7 µm	Oasis HLB (500 mg, 6 mL)	10 mL MeOH + 10 mL H2O	7 mL MeOH + 5 mL DCM	128
<b>Cetoprofeno</b>	1,2 µm / pH 3	Oasis MAX (150 mg, 6 mL)	4 mL MeOH + 10 mL H2O pH 3	10 mL MeOH 2% ac fórmico	9
	filtrado pH 4	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	90
	0,7 µL/ pH 2,5	C-18 sep-park (500 mg, 6 mL)	3 x 2 mL AcOEt + 3 x 2mL MeOH + 3 x 2 mL H2O	3 x 2 mL AcOEt	127
		Strata X (100 mg)		10 mL hexano / AcOEt (50/50)	86
					110
	0,45 µm / pH 2,6	Strata X (60 mg, 3 mL)	1,5 mL MeOH + 1,5 mL matriz/solvente pH 2,6	3 X 0,5 mL MeOH	69
	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL AcOEt + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	pH 2 - 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL MeOH + 3 mL H2O	2 mL MeOH	87
pH 4	Oasis HLB e Strata X (200 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	91	

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
	0,45 µm / pH 2	Supelco LC 18 (500 mg, 6 mL)	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL DCM + 2 mL H2O pH 2	3 X 3 mL MeOH	111
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	0,45 µm / pH 7	Oasis HLB (60 mg)	1 mL AcOEt + 1 mL H2O	400 µL AcOEt	10
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 x 5 mL acetona + 5 mL H2O	5 mL acetona / 0,10 M carbonato hidrogenado de Na (40:60)	115
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	0,45 µm / pH 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	2 mL solvente eluição + 2 mL MeOH + 3 mL H2O	6 mL AcOEt / Acetona (50/50)	117
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
	LLE	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL ácido acético/ H2O (10/90)	5,5 mL acetona / hidrogenocarbonato de sódio 0,10M (40/60)	120
	1,2 µm / pH < 3	RP-C18 (1 g, 6 ml)		10 mL acetona	121
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL de H2O	5 mL de acetona/0,10M hidrogenocarbonato de sódio (40/60) pH 10	115
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	125
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18		3 X 3 mL MeOH	126
	pH 2,5	C18 (500 mg, 6 mL)	3 X 2 mL AcOEt + 3 X 2 mL MeOH + 3 X 2 mL H2O + 4 mL H2O pH 2,5	3 x 2 mL AcOEt	127
	pH 2	Oasis HLB (60 mg)	3 mL AcOEt /acetona (50/50) + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2	9 mL AcOEt/acetona (50/50)	11
	pH 3	C18 (500 mg, 6 mL)		AcOEt	12
<b>Diclofenaco</b>	1,2 µm / pH 3	Oasis MAX (150 mg, 6 mL)	4 mL MeOH + 10 mL H2O pH 3	10 mL MeOH 2% ac fórmico	9
	Sem filtração	Insolute non-encapped C-18 (6 mL)		3 X 4 mL MeOH/DCM (50/50) com 2% trietilamina	129
	filtrado pH 4	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	90
	0,7 µL/ pH 2,5	C-18 sep-park (500 mg, 6 mL)	3 x 2 mL AcOEt + 3 x 2mL MeOH + 3 x 2 mL H2O	3 x 2 mL AcOEt	127
		Strata X (100 mg)		10 mL hexano / AcOEt (50/50)	86 110

<b>Analito</b>	<b>Filtração/pH</b>	<b>Fase Sólida</b>	<b>Condicionamento</b>	<b>Eluição</b>	<b>Ref</b>
	0,45 µm / pH 2,6	Strata X (60 mg, 3 mL)	1,5 mL MeOH + 1,5 mL matriz/solvente pH 2,6	3 X 0,5 mL MeOH	69
	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	63
	pH 2 - 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL MeOH + 3 mL H2O	2 mL MeOH	87
	1,2µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	pH 4	Oasis HLB e Strata X (200 mg)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	91
	0,45 µm / pH 2	Supelco LC 18 (500 mg, 6 mL)	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL DCM + 2 mL H2O pH 2	3 X 3 mL MeOH	111
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	92
	0,45 µm / pH 7	Oasis HLB (60 mg)	1 mL acet et + 1 mL H2O	400 µL AcOEt	10
	pH 3	RP 18 (3 g, 6 mL)		AcOEt	114
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 x 5 mL acetona + 5 mL H2O	5 mL acetona / 0,10 M carbonato hidrogenado de Na (40:60)	115
	0,45 µm / pH < 2	C18	10 mL acetona + 10 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2,5 mL MeOH	116
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	0,45 µm / pH 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	2 mL solvente eluição + 2 mL MeOH + 3 mL H2O	6 mL AcOEt / Acetona (50/50)	117
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
	1,2 µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	LLE	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL ácido acético/ H2O (10/90)	5,5 mL acetona / hidrogenocarbonato de sódio 0,10M (40/60)	120
	1,2 µm / pH < 3	RP-C18 (1 g, 6 ml)		10 mL acetona	121
	0,45 µm	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL AcOEt + 3 mL acetona + 3 mL H2O pH 2	6 mL AcOEt/acetona (50/50)	122
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL de H2O	5 mL de acetona/0,10M hidrogenocarbonato de sódio (40/60) pH 10	115
	0,7 µm / pH 7	Oasis HLB (200 mg, 6mL)	5 mL de AcOEt + 5 mL MeOH e 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	63



Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	1,2 µm / acidificada	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	125
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18		3 X 3 mL MeOH	126
	pH 2,5	C18 (500 mg, 6 mL)	3 X 2 mL AcOEt + 3 X 2 mL MeOH + 3 X 2 mL H2O + 4 mL H2O pH 2,5	3 x 2 mL AcOEt	127
	pH 2	Oasis HLB (60 mg)	3 mL AcOEt /acetona (50/50) + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2	9 mL AcOEt/acetona (50/50)	11
	pH 3	C18 (500 mg, 6 mL)		AcOEt	12
	0,7 µm	Oasis HLB (500 mg, 6 mL)	10 mL MeOH + 10 mL H2O	7 mL MeOH + 5 mL DCM	128
<b>Indometacin</b>	1,2 µm / pH 3	Oasis MAX (150 mg, 6 mL)	4 mL MeOH + 10 mL H2O pH 3	10 mL MeOH 2% ac fórmico	9
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
<b>Amitriptilina</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
<b>Cafeína</b>		SDB-1 (2 g)		50 mL MeOH	47
	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	63
	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H2O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44
	1,2µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	pH 4	Oasis HLB e Strata X (200 mg)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	91
	0,45 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	1 mL MeOH + 6 mL de MeOH/MTBE (10:90)	111
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	92

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
	1,2 µm	Oasis HLB (200 mg)	10 mL MeOH + 10 mL H2O pH 10	7 mL MeOH	62
	0,7 µm / pH 2	Oasis HLB		Eluido com MeOH	118
	1,2 µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	1,2 µm / pH < 3	RP-C18 (1 g, 6 ml)		10 mL acetona	121
	1,0 - 0,2 µm / pH < 2	SDB-XC Empore disk	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH + 10 mL H2O	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH	88
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	pH 2	Oasis HLB (60 mg)	3 mL AcOEt /acetona (50/50) + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2	9 mL AcOEt/acetona (50/50)	11
Carbamazepina	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	Sem filtração	Insolute non-encapped C-18 (6 mL)		3 X 4 mL MeOH/DCM (50/50) com 2% trietilamina	129
		Strata X (100 mg)		10 mL hexano / AcOEt (50/50)	86
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	63
	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H2O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44
	pH 2 - 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL MeOH + 3 mL H2O	2 mL MeOH	87
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL AcOEt + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	92
	0,45 µm / pH 7	Oasis HLB (60 mg)	1 mL acet et + 1 mL H2O	400 µL AcOEt	10
	1,2 µm	Oasis HLB (200 mg)	10 mL MeOH + 10 mL H2O pH 10	7 mL MeOH	62
	pH 3	RP 18 (3 g, 6 mL)		AcOEt	114
	0,45 µm / pH 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	2 mL solvente eluição + 2 mL MeOH + 3 mL H2O	6 mL AcOEt / Acetona (50/50)	117
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	LLE	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL ácido acético/ H2O (10/90)	5,5 mL acetona / hidrogenocarbonato de sódio 0,10M (40/60)	120
1,2 µm / pH < 3	RP-C18 (1 g, 6 ml)		10 mL acetona	121	
0,45 µm	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL AcOEt + 3 mL acetona + 3 mL H2O pH 2	6 mL AcOEt/acetona (50/50)	122	

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	pH 2	Oasis HLB (60 mg)	3 mL AcOEt /acetona (50/50) + 3 mL MeOH + 3 mL H2O pH 2	9 mL AcOEt/acetona (50/50)	11
<b>Clenbuterol</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
<b>Diazepam</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H2O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44
	1,2 µm	Oasis HLB (200 mg)	10 mL MeOH + 10 mL H2O pH 10	7 mL MeOH	62
	pH 3	RP 18 (3 g, 6 mL)		AcOEt	114
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
<b>Doxepine</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
<b>Imipramine</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
<b>Nordiazepam</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
<b>Acetaminofeno</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	63
	pH 4	Oasis HLB e Strata X (200 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	91
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	92
	1,2 µm	Oasis HLB (200 mg)	10 mL MeOH + 10 mL H2O pH 10	7 mL MeOH	62
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	1,0 - 0,2 µm / pH < 2	SDB-XC Empore disk	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH + 10 mL H2O	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH	88
		500 mg de LiChrolut ENV+		3 mL MeOH	123
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
<b>Salbutamol</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
		500 mg de LiChrolut ENV+		3 mL MeOH	123

<b>Analito</b>	<b>Filtração/pH</b>	<b>Fase Sólida</b>	<b>Condicionamento</b>	<b>Eluição</b>	<b>Ref</b>
<b>Terbutaline</b>	0,7 µm / pH 2	Oasis MCX	3 mL acet et + 3 mL H2O pH 2	3 mL AcOEt + 3 mL AcOEt/acetona (50/50) + 3 mL AcOEt/acetona/NH4OH (48/48/2)	64
<b>Triclosan</b>	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	63
	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H2O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44
	1,2µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	92
	0,45 µm / pH 7	Oasis HLB (60 mg)	1 mL acet et + 1 mL H2O	400 µL AcOEt	10
	1,2 µm / acidificada	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	0,7 µm / pH 2	Oasis HLB		Eluido com MeOH	118
	1,2 µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	1,0 - 0,2 µm / pH < 2	SDB-XC Empore disk	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH + 10 mL H2O	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH	88
	0,45 µm	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL AcOEt + 3 mL acetona + 3 mL H2O pH 2	6 mL AcOEt/acetona (50/50)	122
0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124	
pH 2,5	C18 (500 mg, 6 mL)	3 X 2 mL AcOEt + 3 X 2 mL MeOH + 3 X 2 mL H2O + 4 mL H2O pH 2,5	3 x 2 mL AcOEt	127	
pH 3	C18 (500 mg, 6 mL)		AcOEt	12	
<b>Bisfenol A</b>	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	63
	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL acet et + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	92
	0,7 µm / pH 2	Oasis HLB		Eluido com MeOH	118
	1,0-0,2 µm / pH < 2	SDB-XC Empore disk	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH + 10 mL H2O	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH	88
	pH 2,5	C18 (500 mg, 6 mL)	3 X 2 mL AcOEt + 3 X 2 mL MeOH + 3 X 2 mL H2O + 4 mL H2O pH 2,5	3 x 2 mL AcOEt	127
pH 3	C18 (500 mg, 6 mL)		AcOEt	12	
<b>Codeína</b>	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL AcOEt + 5 mL MeOH + 5 mL H2O	2 X 4 mL AcOEt	92
	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H2O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44

Analito	Filtração/pH	Fase Sólida	Condicionamento	Eluição	Ref
<b>Ácido Clofibrico</b>	Sem filtração	SDB-1 (2 g)		50 mL MeOH	47
		Insolute non-encapped C-18 (6 mL)		3 X 4 mL MeOH/DCM (50/50) com 2% trietilamina	129
	pH 2 - 3	Strata X (100 mg)		10 mL hexano / AcOEt (50/50)	86
		Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	3 mL MeOH + 3 mL H2O	2 mL MeOH	87
	1,2 µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL acet et + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	0,48 µm / pH 2-3	Oasis HLB (60 mg)	3 mL MTBE + 3 mL MeOH + 3 mL H2O	5 mL 10% MeOH em MTBE	112
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H2O pH 2	10 mL AcOEt	113
	0,45 µm / pH 7	Oasis HLB (60 mg)	1 mL AcOEt + 1 mL H2O	400 µL AcOEt	10
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 x 5 mL acetona + 5 mL H2O	5 mL acetona / 0,10 M carbonato hidrogenado de Na (40:60)	115
	0,45 µm / pH < 2	C18	10 mL acetona + 10 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2,5 mL MeOH	116
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H2O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	0,45 µm / pH 3	Oasis HLB (60 mg, 3 mL)	2 mL solvente eluição + 2 mL MeOH + 3 mL H2O	6 mL AcOEt / Acetona (50/50)	117
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
	1,2 µm / pH 7	Oasis HLB (500 mg)	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 10 mL MeOH + 10 mL H2O	5 mL hexano + 5 mL AcOEt + 14 mL MeOH	89
	LLE	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL ácido acético/ H2O (10/90)	5,5 mL acetona / hidrogenocarbonato de sódio 0,10M (40/60)	120
	1,0-0,2 µm / pH < 2	SDB-XC Empore disk	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH + 10 mL H2O	50 mL de MeOH + 50 mL DCM + 50 mL MeOH	88
	1,2 µm / pH 2	Oasis HLB (200 mg)	2 X 5 mL de acetona + 5 mL de H2O	5 mL de acetona/0,10M hidrogenocarbonato de sódio (40/60) pH 10	115
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H2O pH 2	125
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18		3 X 3 mL MeOH	126
pH 3	C18 (500 mg, 6 mL)		AcOEt	12	
0,7 µm	Oasis HLB (500 mg, 6 mL)	10 mL MeOH + 10 mL H2O	7 mL MeOH + 5 mL DCM	128	
<b>Fenoprofeno</b>	0,45 µm / pH 2	Supelco LC 18 (500 mg, 6 mL)	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL DCM + 2 mL H2O pH 2	3 X 3 mL MeOH	111

<b>Analito</b>	<b>Filtração/pH</b>	<b>Fase Sólida</b>	<b>Condicionamento</b>	<b>Eluição</b>	<b>Ref</b>
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H <sub>2</sub> O pH 2	10 mL AcOEt	113
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H <sub>2</sub> O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H <sub>2</sub> O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H <sub>2</sub> O pH 2	125
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18		3 X 3 mL MeOH	126
<b>Ácido Meclofenamico</b>	0,45 µm / pH 2	Supelco LC 18 (500 mg, 6 mL)	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL DCM + 2 mL H <sub>2</sub> O pH 2	3 X 3 mL MeOH	111
<b>Dipirona</b>	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL AcOEt + 5 mL MeOH + 5 mL H <sub>2</sub> O	2 X 4 mL AcOEt	92
<b>Permetrin</b>	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL AcOEt + 5 mL MeOH + 5 mL H <sub>2</sub> O	2 X 4 mL AcOEt	92
<b>Chlorfenvinfos</b>	0,7 µm	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL AcOEt + 5 mL MeOH + 5 mL H <sub>2</sub> O	2 X 4 mL AcOEt	92
	1,2 µm	Oasis HLB (200 mg)	10 mL MeOH + 10 mL H <sub>2</sub> O pH 10	7 mL MeOH	62
	1,2 µm / acida	Oasis HLB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 10 mL H <sub>2</sub> O pH 2	2 X 2,5 mL MeOH	65
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H <sub>2</sub> O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124
	pH 3	RP 18 (3 g, 6 mL)		AcOEt	114
	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H <sub>2</sub> O pH 2	6 mL hexano + 3 mL acetona + 6 mL MeOH + 2 mL H <sub>2</sub> O pH 2	125
	1,0 µm / pH 2	500 mg de LiChrolut 100 RP-18		3 X 3 mL MeOH	126
	pH 2	Oasis HB (200 mg, 6 mL)	5 mL MeOH + 5 mL H <sub>2</sub> O pH 2	10 mL AcOEt	113
<b>Iopromide</b>	pH 3	RP 18 (3 g, 6 mL)		AcOEt	114
<b>Phenazon</b>	0,45 µm / pH < 2	C18	10 mL acetona + 10 mL MeOH + 10 mL H <sub>2</sub> O pH 2	2,5 mL MeOH	116
<b>Ác Acetilsalicílico</b>	0,45 µm / pH 2	Oasis (60 mg)	6 mL DCM + 6 mL ACN + 6 mL H <sub>2</sub> O	2,5 mL ACN/DCM (50/50) + 3,2 mL DCM	44

<b>Analito</b>	<b>Filtração/pH</b>	<b>Fase Sólida</b>	<b>Condicionamento</b>	<b>Eluição</b>	<b>Ref</b>
<b>Etofibrato</b>	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
<b>Ácido Fenofibrico</b>	pH 3	RP C18		4 mL acetona	42
	< 1 µm / pH 2	RP C18		3 X 1 mL MeOH	119
<b>Ácido Mefenamico</b>	0,7 µm	500 mg de LiChrolut ENV+	10 mL MeOH + 10 mL H2O	3 mL MeOH	123
		Oasis HLB (500 mg, 6 mL)		7 mL MeOH + 5 mL DCM	128
<b>Fenazona</b>	0,7 µm / pH 3		6 mL AcOEt + 6 mL MeOH + 6 mL H2O pH 3	2 mL X 5 mL AcOEt	124

### ANEXO III

#### Diferentes metodologias de reação de derivatização de AINEs descritas na literatura

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
<b>Ibuprofeno</b>	75 µL MTBSTFA com 1% TBDMSCI	30 min à 75°C, extrai com 3/3/2 mL de DCM/Hexano (10/90), reconstitui em 1mL isoctano	RTX - 5 Sil MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 190°C; 5°C/min - 260°C; 15°C/min - 300°C (5 min)	9
	Sem derivatização		RTX - MS5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	40°C (2 min); 10°C/min - 250°C (14 min); 25°C/min - 290°C (2 min)	109
	Piridina / HMDS + TFA	30 min à 70 °C	SGE forte capillary	100°C (1 min); 20°C/min - 300°C (5,5 min)	90
	10 µL TMSH	Derivatização online no injetor aquecido	DB-5MS (30 m X 0,32 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 15°C/min - 120°C; 4°C/min - 160°C; 7°C/min - 220°C; 5°C/min - 290°C; 15°C/min - 320°C (5 min);	86
	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	110
	Sem derivatização		VF-5MS	70°C (2 min); 30°C/min - 200°C; 2°C/min - 220°C (6 min); 10°C/min - 300°C (5 min)	64
	200 µL MTBSTFA	60 min à 60°C	BP-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 10°C/min - 180°C (7 min); 10°C/min - 230°C (25 min); 20°C/min - 250°C (5 min)	63
	TBA-HSO4	Derivatização online	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (4 min); 10°C/min - 300°C (4 min)	66
	Metil clorometanoato	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H2O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	87
	125 µL piridina, 225 µL HMDS, 25 µL TFA	Piridina 30 min à 70°C seguido por HMDS + TFA 90 min à 70°C	SGE (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 10°C/min - 300°C (10 min)	89
	BF3	10 µL de MCF (IS) em MeOH (2.64 g/mL) reduz a 0,2 mL, adiciona 2 mL de 14% BF3/MeOH, 120 min à 85°C. Extrai com PE e evapora a 0,1 mL	CP SIL 8CB-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	91



Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
	70 µL BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 14°C/min - 150°C; 6°C/min - 290°C	10
	Diazometano				114
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
	200 µL PFBBR (2% em Tolueno) + 5 µL trietilamina	60 min à 110°C reconstitui em 100 µL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 30°C/min - 150°C (1 min); 3°C/min - 205°C; 10°C/min - 260°C (23 min)	116
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
			HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 10°C/min - 120°C; 3,5°C/min - 200°C; 5°C/min - 315°C (11 min)	44
	800 µL diazometano	30 min, reduz volume a 150 - 200 µL	RTX-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 15°C/min - 150°C (15 min); 5°C/min - 200°C (5 min); 15°C/min - 290°C (6 min)	117
	50 µL BSTFA	Over night	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 5°C/min - 170°C; 10°C/min - 310°C (10 min)	118
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	7 µL clorometanoato de metila	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H <sub>2</sub> O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89
	50 µL MTBSTFA	30 min à 60°C, dilui à 1 mL AcOEt, fortifica amostras	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	120
	methyl chloroformate		RP-C18 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	121
	1 mL de BSTFA	Reduz volume adiciona o BSTFA a 80 °C por 20 min	DB-5MS (25 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	88
	200 µL MTBSTFA+ 1% TBDMSC	90 min à 60°C	DB 1701 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	45°C (3 min); 20°C/min - 200°C (5 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	122
	MSTFA	Dissolvido em 1 mL de Hexano		50°C (7,5 min); 30°C/min - 270°C (10 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	123
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C, dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
			DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, reconstitui em isoctano	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	126
	50 µL de BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70 °C	DB-5MS (60m X 0,32 mm X 0,25 µm)	80°C (1 min); 15°C/min - 248°C (1 min); 3°C/min - 280°C	127
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	11

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	100 µL de MTBSTFA	Ajusta 1 mL AcOEt, 60 min à 70°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 20°C/min - 120°C; 10°C/min - 280°C (11 min)	12
	40 µL de tolueno + 40 µL de 10% TEA em tolueno + 20 µL de 10% PFBBr em tolueno	100 µL do eluído, evapora e adiciona os derivatizantes, reage 60 min à 100°C, reconstitui em 100 µL de tolueno	DB-35MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 150°C (2 min); 3°C/min - 205°C (1 min); 10°C/min - 260°C (5 min); 10°C/min - 280°C (3 min); 15°C/min - 310°C (10 min)	128
Ácido Salicílico	75 µL MTBSTFA com 1% TBDMSCI	30 min à 75°C, extrai com 3/3/2 mL de DCM/Hexano (10/90), reconstitui em 1 mL isotano	RTX - 5 Sil MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 190°C; 5°C/min - 260°C; 15°C/min - 300°C (5 min)	9
	125 µL piridina, 225 µL HMDS, 25 µL TFA	Piridina 30 min à 70°C seguido por HMDS + TFA 90 min à 70°C	SGE (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 10°C/min - 300°C (10 min)	91
	BF3	10 µL de MCF (IS) em MeOH (2.64 g/mL) reduz a 0,2 mL, adiciona 2 mL de 14% BF3/MeOH, 120 min à 85°C. Extrai com PE e evapora a 0,1 mL	CP SIL 8CB-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	111
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H2O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isotano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
	200 µL MTBSTFA+ 1% TBDMSC	90 min à 60°C	DB 1701 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	45°C (3 min); 20°C/min - 200°C (5 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	122
50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C, dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115	

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125
	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	11
	10 µL TMSH	Derivatização online no injetor aquecido	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
				DB-5MS (30 m X 0,32 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 15°C/min - 120°C; 4°C/min - 160°C; 7°C/min - 220°C; 5°C/min - 290°C; 15°C/min - 320°C (5 min);
<b>Gemfibrozil</b>	75 µL MTBSTFA com 1% TBDMSCI	30 min à 75°C, extrai com 3/3/2 mL de DCM/Hexano (10/90), reconstitui em 1mL isoctano	RTX - 5 Sil MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 190°C; 5°C/min - 260°C; 15°C/min - 300°C (5 min)	9
	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
	BF <sub>3</sub>	10 µL de MCF (IS) em MeOH (2.64 g/mL) reduz a 0,2 mL, adiciona 2 mL de 14% BF <sub>3</sub> /MeOH, 120 min à 85°C. Extrai com PE e evapora a 0,1 mL	CP SIL 8CB-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	111
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
	50 µL MTBSTFA	30 min à 60°C, dilui à 1 mL AcOEt, fortifica amostras	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	120
	methyl chloroformate		RP-C18 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	121
	200 µL MTBSTFA+ 1% TBDMSC	90 min à 60°C	DB 1701 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	45°C (3 min); 20°C/min - 200°C (5 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	122
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C, dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	125
			DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	11
	40 µL de tolueno + 40 µL de 10% TEA em tolueno + 20 µL de 10% PFBBR em tolueno	100 µL do eluído, evapora e adiciona os derivatizantes, reage 60 min à 100°C, reconstitui em 100 µL de tolueno	DB-35MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 150°C (2 min); 3°C/min - 205°C (1 min); 10°C/min - 260°C (5 min); 10°C/min - 280°C (3 min); 15°C/min - 310°C (10 min)	128

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
Naproxeno	75 µL MTBSTFA com 1% TBDMSCI	30 min à 75°C, extrai com 3/3/2 mL de DCM/Hexano (10/90), reconstitui em 1mL isoctano	RTX - 5 Sil MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 190°C; 5°C/min - 260°C; 15°C/min - 300°C (5 min)	9
	Sem derivatização		RTX - MS5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	40°C (2 min); 10°C/min - 250°C (14 min); 25°C/min - 290°C (2 min)	109
	Piridina / HMDS + TFA	30 min à 70 °C	SGE forte capillary	100°C (1 min); 20°C/min - 300°C (5,5 min)	90
	10 µL TMSH	Derivatização online no injetor aquecido	DB-5MS (30 m X 0,32 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 15°C/min - 120°C; 4°C/min - 160°C; 7°C/min - 220°C; 5°C/min - 290°C; 15°C/min - 320°C (5 min);	86
	10 µL TMSH	Derivatização online no injetor aquecido	DB-5MS (30 m X 0,32 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 15°C/min - 120°C; 4°C/min - 160°C; 7°C/min - 220°C; 5°C/min - 290°C; 15°C/min - 320°C (5 min);	110
	30 µL MSTFA	12 hr no shaker na ausência de luz	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (2 min); 4°C/min - 180°C; 10°C/min - 230°C (20 min); 20°C/min - 270°C (7 min)	69
	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
	200 µL MTBSTFA	60 min à 60°C	BP-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 10°C/min - 180°C (7 min); 10°C/min - 230°C (25 min); 20°C/min - 250°C (5 min)	66
	TBA-HSO4	Derivatização online	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (4 min); 10°C/min - 300°C (4 min)	87
	125 µL piridina, 225 µL HMDS, 25 µL TFA	Piridina 30 min à 70°C seguido por HMDS + TFA 90 min à 70°C	SGE (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 10°C/min - 300°C (10 min)	91
	BF3	10 µL de MCF (IS) em MeOH (2.64 g/mL) reduz a 0,2 mL, adiciona 2 mL de 14% BF3/MeOH, 120 min à 85°C. Extrai com PE e evapora a 0,1 mL	CP SIL 8CB-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	111
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	70 µL BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 14°C/min - 150°C; 6°C/min - 290°C	10
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H2O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	800 µL diazometano	30 min, reduz volume a 150 - 200 µL	RTX-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 15°C/min - 150°C (15 min); 5°C/min - 200°C (5 min); 15°C/min - 290°C (6 min)	117
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
	50 µL MTBSTFA	30 min à 60°C, dilui à 1 mL AcOEt, fortifica amostras	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	120
	methyl chloroformate		RP-C18 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	121
	1 mL de BSTFA	Reduz volume adiciona o BSTFA a 80 °C por 20 min	DB-5MS (25 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	88
	200 µL MTBSTFA+ 1% TBDMSC	90 min à 60°C	DB 1701 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	45°C (3 min); 20°C/min - 200°C (5 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	122
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C, dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
			DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, reconstitui em isoctano	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	126
	50 µL de BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70 °C	DB-5MS (60m X 0,32 mm X 0,25 µm)	80°C (1 min); 15°C/min - 248°C (1 min); 3°C/min - 280°C	127
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	11
	100 µL de MTBSTFA	Ajusta 1 mL AcOEt, 60 min à 70°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 20°C/min - 120°C; 10°C/min - 280°C (11 min)	12
	40 µL de tolueno + 40 µL de 10% TEA em tolueno + 20 µL de 10% PFBBr em tolueno	100 µL do eluído, evapora e adiciona os derivatizantes, reage 60 min à 100°C, reconstitui em 100 µL de tolueno	DB-35MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 150°C (2 min); 3°C/min - 205°C (1 min); 10°C/min - 260°C (5 min); 10°C/min - 280°C (3 min); 15°C/min - 310°C (10 min)	128
<b>Cetoprofeno</b>	75 µL MTBSTFA com 1% TBDMSCI	30 min à 75°C, extrai com 3/3/2 mL de DCM/Hexano (10/90), reconstitui em 1mL isoctano	RTX - 5 Sil MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 190°C; 5°C/min - 260°C; 15°C/min - 300°C (5 min)	9
	Piridina / HMDS + TFA	30 min à 70 °C	SGE forte capillary	100°C (1 min); 20°C/min - 300°C (5,5 min)	90
	10 µL TMSH	Derivatização online no injetor aquecido	DB-5MS (30 m X 0,32 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 15°C/min - 120°C; 4°C/min - 160°C; 7°C/min - 220°C; 5°C/min - 290°C; 15°C/min - 320°C (5 min);	86 110
	30 µL MSTFA	12 hr no shaker na ausência de luz	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (2 min); 4°C/min - 180°C; 10°C/min - 230°C (20 min); 20°C/min - 270°C (7 min)	69
	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64



Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	TBA-HSO4	Derivatização online	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (4 min); 10°C/min - 300°C (4 min)	87
	125 µL piridina, 225 µL HMDS, 25 µL TFA	Piridina 30 min à 70°C seguido por HMDS + TFA 90 min à 70°C	SGE (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 10°C/min - 300°C (10 min)	91
	BF3	10 µL de MCF (IS) em MeOH (2.64 g/mL) reduz a 0,2 mL, adiciona 2 mL de 14% BF3/MeOH, 120 min à 85°C. Extraí com PE e evapora a 0,1 mL	CP SIL 8CB-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	111
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	70 µL BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 14°C/min - 150°C; 6°C/min - 290°C	10
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H2O, extraí com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	800 µL diazometano	30 min, reduz volume a 150 - 200 µL	RTX-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 15°C/min - 150°C (15 min); 5°C/min - 200°C (5 min); 15°C/min - 290°C (6 min)	117
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
	50 µL MTBSTFA	30 min à 60°C, dilui à 1 mL AcOEt, fortifica amostras	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	120
	methyl chloroformate		RP-C18 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	121

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C, dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, reconstitui em isoctano	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	126
	50 µL de BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70 °C	DB-5MS (60m X 0,32 mm X 0,25 µm)	80°C (1 min); 15°C/min - 248°C (1 min); 3°C/min - 280°C	127
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	11
	100 µL de MTBSTFA	Ajusta 1 mL AcOEt, 60 min à 70°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 20°C/min - 120°C; 10°C/min - 280°C (11 min)	12
<b>Diclofenaco</b>	75 µL MTBSTFA com 1% TBDMSCI	30 min à 75°C, extrai com 3/3/2 mL de DCM/Hexano (10/90), reconstitui em 1mL isoctano	RTX - 5 Sil MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 190°C; 5°C/min - 260°C; 15°C/min - 300°C (5 min)	9
	Diazometano em excesso		HP-5MS (60 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (8 min); 5°C/min - 280°C; 3°C/min - 300°C (5 min)	129
	Piridina / HMDS + TFA	30 min à 70 °C	SGE forte capillary	100°C (1 min); 20°C/min - 300°C (5,5 min)	90
	10 µL TMSH	Derivatização online no injetor aquecido	DB-5MS (30 m X 0,32 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 15°C/min - 120°C; 4°C/min - 160°C; 7°C/min - 220°C; 5°C/min - 290°C; 15°C/min - 320°C (5 min);	86 110
	30 µL MSTFA	12 hr no shaker na ausência de luz	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (2 min); 4°C/min - 180°C; 10°C/min - 230°C (20 min); 20°C/min - 270°C (7 min)	69
	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	Sem derivatização		VF-5MS	70°C (2 min); 30°C/min - 200°C; 2°C/min - 220°C (6 min); 10°C/min - 300°C (5 min)	63
	TBA-HSO4	Derivatização online	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (4 min); 10°C/min - 300°C (4 min)	87
	Metil clorometanoato	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H2O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89
	125 µL piridina, 225 µL HMDS, 25 µL TFA	Piridina 30 min à 70°C seguido por HMDS + TFA 90 min à 70°C	SGE (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 10°C/min - 300°C (10 min)	91
	BF3	10 µL de MCF (IS) em MeOH (2.64 g/mL) reduz a 0,2 mL, adiciona 2 mL de 14% BF3/MeOH, 120 min à 85°C. Extrai com PE e evapora a 0,1 mL	CP SIL 8CB-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	111
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e reconstitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
	70 µL BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 14°C/min - 150°C; 6°C/min - 290°C	10
	Diazometano				114
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
	200 µL PFBBR (2% em Tolueno) + 5 µL trietilamina	60 min à 110°C reconstitui em 100 µL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 30°C/min - 150°C (1 min); 3°C/min - 205°C; 10°C/min - 260°C (23 min)	116
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H2O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	800 µL diazometano	30 min, reduz volume a 150 - 200 µL	RTX-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 15°C/min - 150°C (15 min); 5°C/min - 200°C (5 min); 15°C/min - 290°C (6 min)	117
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
	7 µL clorometanoato de metila	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H <sub>2</sub> O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89
	50 µL MTBSTFA	30 min à 60°C, dilui à 1 mL AcOEt, fortifica amostras	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	120
	methyl chloroformate		RP-C18 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	122
	200 µL MTBSTFA+ 1% TBDMSC	90 min à 60°C	DB 1701 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	45°C (3 min); 20°C/min - 200°C (5 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	123
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C, dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
			DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, reconstitui em isoctano	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	126
	50 µL de BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70 °C	DB-5MS (60m X 0,32 mm X 0,25 µm)	80°C (1 min); 15°C/min - 248°C (1 min); 3°C/min - 280°C	127

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	11
	100 µL de MTBSTFA	Ajusta 1 mL AcOEt, 60 min à 70°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 20°C/min - 120°C; 10°C/min - 280°C (11 min)	12
	40 µL de tolueno + 40 µL de 10% TEA em tolueno + 20 µL de 10% PFBBr em tolueno	100 µL do eluído, evapora e adiciona os derivatizantes, reage 60 min à 100°C, reconstitui em 100 µL de tolueno	DB-35MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 150°C (2 min); 3°C/min - 205°C (1 min); 10°C/min - 260°C (5 min); 10°C/min - 280°C (3 min); 15°C/min - 310°C (10 min)	128
<b>Indometacin</b>	75 µL MTBSTFA com 1% TBDMSCI	30 min à 75°C, extrai com 3/3/2 mL de DCM/Hexano (10/90), reconstitui em 1 mL isoctano	RTX - 5 Sil MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 190°C; 5°C/min - 260°C; 15°C/min - 300°C (5 min)	9
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H2O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H2O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
<b>Amitriptilina</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
<b>Cafeína</b>	7 µL clorometanoato de metila	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H2O e reduz extrato a 100 µL	DB-5MS (60m X 0,32 mm X 0,25 µm)	60°C (2 min); 7°C/min - 260°C (20 min)	47
	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	Sem derivatização		VF-5MS	70°C (2 min); 30°C/min - 200°C; 2°C/min - 220°C (6 min); 10°C/min - 300°C (5 min)	63
	Metil clorometanoato	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H2O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89
	125 µL piridina, 225 µL HMDS, 25 µL TFA	Piridina 30 min à 70°C seguido por HMDS + TFA 90 min à 70°C	SGE (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 10°C/min - 300°C (10 min)	91
				50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	111
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
	100 µL BSTFA (33% TMCS) / 100 µL MBTFA	60 min à 60°C / 20 min à 50 - 60°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 8°C/min - 285°C (10 min)	62
			HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 10°C/min - 120°C; 3,5°C/min - 200°C; 5°C/min - 315°C (11 min)	44
	50 µL BSTFA	Over night	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 5°C/min - 170°C; 10°C/min - 310°C (10 min)	118
	7 µL clorometanoato de metila	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H2O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89
	methyl chloroformate		RP-C18 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	121
	1 mL de BSTFA	Reduz volume adiciona o BSTFA a 80 °C por 20 min	DB-5MS (25 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	88
			DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	11

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.	
Carbamazepina	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64	
	Diazometano em excesso		HP-5MS (60 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (8 min); 5°C/min - 280°C; 3°C/min - 300°C (5 min)	129	
	10 µL TMSH	Derivatização online no injetor aquecido	DB-5MS (30 m X 0,32 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 15°C/min - 120°C; 4°C/min - 160°C; 7°C/min - 220°C; 5°C/min - 290°C; 15°C/min - 320°C (5 min);	86	
	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64	
	Sem derivatização		VF-5MS	70°C (2 min); 30°C/min - 200°C; 2°C/min - 220°C (6 min); 10°C/min - 300°C (5 min)	63	
	TBA-HSO4	Derivatização online	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (4 min); 10°C/min - 300°C (4 min)	87	
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112	
	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92	
	70 µL BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 14°C/min - 150°C; 6°C/min - 290°C	10	
	100 µL BSTFA (33% TMCS) / 100 µL MBTFA	60 min à 60°C / 20 min à 50 - 60°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 8°C/min - 285°C (10 min)	62	
	Diazometano				114	
				HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 10°C/min - 120°C; 3,5°C/min - 200°C; 5°C/min - 315°C (11 min)	44
	800 µL diazometano	30 min, reduz volume a 150 - 200 µL		RTX-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 15°C/min - 150°C (15 min); 5°C/min - 200°C (5 min); 15°C/min - 290°C (6 min)	117
200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C		DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42	

<b>Analito</b>	<b>Derivatizante</b>	<b>Processo de Derivatização</b>	<b>Coluna</b>	<b>Rampa de temperatura</b>	<b>Ref.</b>
	50 µL MTBSTFA	30 min à 60°C, diluí à 1 mL AcOEt, fortifica amostras	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	120
	methyl chloroformate		RP-C18 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	121
	200 µL MTBSTFA+ 1% TBDMSC	90 min à 60°C	DB 1701 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	45°C (3 min); 20°C/min - 200°C (5 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	122
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
	30 µL de MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	11
<b>Clenbuterol</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
<b>Diazepan</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
	100 µL BSTFA (33%TMCS) / 100 µL MBTFA	60 min à 60°C / 20 min à 50 - 60°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 8°C/min - 285°C (10 min)	62
	Diazometano		HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 10°C/min - 120°C; 3,5°C/min - 200°C; 5°C/min - 315°C (11 min)	44
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
<b>Doxepine</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
<b>Imipramine</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
<b>Nordiazepam</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
<b>Acetoaminofeno</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
	Sem derivatização		VF-5MS	70°C (2 min); 30°C/min - 200°C; 2°C/min - 220°C (6 min); 10°C/min - 300°C (5 min)	63



Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	125 µL piridina, 225 µL HMDS, 25 µL TFA	Piridina 30 min à 70°C seguido por HMDS + TFA 90 min à 70°C	SGE (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 10°C/min - 300°C (10 min)	91
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112
	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
	100 µL BSTFA (33% TMCS) / 100 µL MBTFA	60 min à 60°C / 20 min à 50 - 60°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 8°C/min - 285°C (10 min)	62
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H2O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isotano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	1 mL de BSTFA	Reduz volume adiciona o BSTFA a 80 °C por 20 min	DB-5MS (25 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	88
	MSTFA	Dissolvido em 1 mL de Hexano	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (7,5 min); 30°C/min - 270°C (10 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	123
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H2O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isotano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H2O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isotano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
<b>Salbutamol</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
	MSTFA	Dissolvido em 1 mL de Hexano		50°C (7,5 min); 30°C/min - 270°C (10 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	123
<b>Terbutaline</b>	30 µL MSTFA	35 min à 65°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min)	64
<b>Triclosan</b>	Sem derivatização		VF-5MS	70°C (2 min); 30°C/min - 200°C; 2°C/min - 220°C (6 min); 10°C/min - 300°C (5 min)	63

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	Metil clorometanoato	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H <sub>2</sub> O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89
	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
	70 µL BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 14°C/min - 150°C; 6°C/min - 290°C	10
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
			HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 10°C/min - 120°C; 3,5°C/min - 200°C; 5°C/min - 315°C (11 min)	44
	50 µL BSTFA	Over night	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 5°C/min - 170°C; 10°C/min - 310°C (10 min)	118
	7 µL clorometanoato de metila	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H <sub>2</sub> O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89
	1 mL de BSTFA	Reduz volume adiciona o BSTFA a 80 °C por 20 min	DB-5MS (25 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	88
	200 µL MTBSTFA+ 1% TBDMSC	90 min à 60°C	DB 1701 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	45°C (3 min); 20°C/min - 200°C (5 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	122
			DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	50 µL de BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70 °C	DB-5MS (60m X 0,32 mm X 0,25 µm)	80°C (1 min); 15°C/min - 248°C (1 min); 3°C/min - 280°C	127
	100 µL de MTBSTFA	Ajusta 1 mL AcOEt, 60 min à 70°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 20°C/min - 120°C; 10°C/min - 280°C (11 min)	12

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
<b>Bisfenol A</b>	Sem derivatização		VF-5MS	70°C (2 min); 30°C/min - 200°C; 2°C/min - 220°C (6 min); 10°C/min - 300°C (5 min)	63
	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
	50 µL BSTFA	Over night	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 5°C/min - 170°C; 10°C/min - 310°C (10 min)	118
	1 mL de BSTFA	Reduz volume adiciona o BSTFA a 80 °C por 20 min	DB-5MS (25 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (11,5 min); 4°C/min - 180°C; 3°C/min - 240°C; 4°C/min - 300°C (5 min)	88
	50 µL de BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70 °C	DB-5MS (60m X 0,32 mm X 0,25 µm)	80°C (1 min); 15°C/min - 248°C (1 min); 3°C/min - 280°C	127
	100 µL de MTBSTFA	Ajusta 1 mL AcOEt, 60 min à 70°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 20°C/min - 120°C; 10°C/min - 280°C (11 min)	12
	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
			HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 10°C/min - 120°C; 3,5°C/min - 200°C; 5°C/min - 315°C (11 min)	44
<b>Ácido Clofibrico</b>	7 µL clorometanoato de metila	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H2O e reduz extrato a 100 µL	DB-5MS (60m X 0,32 mm X 0,25 µm)	60°C (2 min); 7°C/min - 260°C (20 min)	47
	Diazometano em excesso		HP-5MS (60 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (8 min); 5°C/min - 280°C; 3°C/min - 300°C (5 min)	129
	10 µL TMSH	Derivatização online no injetor aquecido	DB-5MS (30 m X 0,32 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 15°C/min - 120°C; 4°C/min - 160°C; 7°C/min - 220°C; 5°C/min - 290°C; 15°C/min - 320°C (5 min);	86
	TBA-HSO4	Derivatização online	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (4 min); 10°C/min - 300°C (4 min)	87
	Metil clorometanoato	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H2O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	100 µL N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida / trimetilclorosilano (99/1)	60 min à 70°C	ZB-5	100°C; 30°C/min - 150°C (4 min); 3°C/min - 195°C; 1°C/min - 205°C (5 min); 30°C/min - 250°C (3 min)	112
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e reconstitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	70 µL BSTFA + 1% TMCS	20 min à 70°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 14°C/min - 150°C; 6°C/min - 290°C	10
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
	200 µL PFBBr (2% em Tolueno) + 5 µL trietilamina	60 min à 110°C reconstitui em 100 µL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 30°C/min - 150°C (1 min); 3°C/min - 205°C; 10°C/min - 260°C (23 min)	116
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H2O, extrai com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	800 µL diazometano	30 min, reduz volume a 150 - 200 µL	RTX-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 15°C/min - 150°C (15 min); 5°C/min - 200°C (5 min); 15°C/min - 290°C (6 min)	117
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
	7 µL clorometanoato de metila	Adiciona 500 µL hexano, evapora a 100 µL, lava com H2O e reduz extrato a 100 µL	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	80°C (2 min); 7°C/min - 260°C (10 min)	89
	50 µL MTBSTFA	30 min à 60°C, dilui à 1 mL AcOEt, fortifica amostras	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	120
	50 µL MSBSTFA	30 min à 60°C, dilui a 1 mL AcOEt	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 280°C (10 min)	115
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H2O, extrai com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, reconstitui em isoctano	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	126
	100 µL de MTBSTFA	Ajusta 1 mL AcOEt, 60 min à 70°C	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (1 min); 20°C/min - 120°C; 10°C/min - 280°C (11 min)	12
	40 µL de tolueno + 40 µL de 10% TEA em tolueno + 20 µL de 10% PFBBR em tolueno	100 µL do eluído, evapora e adiciona os derivatizantes, reage 60 min à 100°C, reconstitui em 100 µL de tolueno	DB-35MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 150°C (2 min); 3°C/min - 205°C (1 min); 10°C/min - 260°C (5 min); 10°C/min - 280°C (3 min); 15°C/min - 310°C (10 min)	128
<b>Fenoprofeno</b>	BF <sub>3</sub>	10 µL de MCF (IS) em MeOH (2.64 g/mL) reduz a 0,2 mL, adiciona 2 mL de 14% BF <sub>3</sub> /MeOH, 120 min à 85°C. Extraí com PE e evapora a 0,1 mL	CP SIL 8CB-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	111
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H <sub>2</sub> O, extraí com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extraí com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	HP5-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125

Analito	Derivatizante	Processo de Derivatização	Coluna	Rampa de temperatura	Ref.
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, reconstitui em isoctano	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	126
Ácido Meclofenamico	BF <sub>3</sub>	10 µL de MCF (IS) em MeOH (2.64 g/mL) reduz a 0,2 mL, adiciona 2 mL de 14% BF <sub>3</sub> /MeOH, 120 min à 85°C. Extraí com PE e evapora a 0,1 mL	CP SIL 8CB-MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	111
Dipirona	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
Permetrin	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
Chlorfeninfos	Sem derivatização		ZB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 17°C/min - 200°C (1 min); 2°C/min - 220°C (2 min); 5°C/min - 290°C (1 min)	92
Fenofibrato	100 µL BSTFA (33% TMCS) / 100 µL MBTFA	60 min à 60°C / 20 min à 50 - 60°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	105°C (1 min); 8°C/min - 285°C (10 min)	62
	100 µL BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, adiciona 3mL H <sub>2</sub> O, extraí com 2 mL EP + 3 X 2mL DCM/EP (10/90) reconstitui em 1 mL isoctano	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	65
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	100 µL de BSTFA com 1% TMCS	20 min à 60°C, 3 mL de H <sub>2</sub> O, extraí com 2 mL de EP + 3 X 2 mL DCM/EP (10/90), reconstitui em 1 mL de isoctano	DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124
Benzafibrato	Diazometano				114
	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42

<b>Analito</b>	<b>Derivatizante</b>	<b>Processo de Derivatização</b>	<b>Coluna</b>	<b>Rampa de temperatura</b>	<b>Ref.</b>
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, evapora a 500 - 750 µL + 3mL KCO <sub>3</sub> + 2mL EP, vortex 1 min, remove fase orgânica (repete 2 X), evapora a 0,1 mL	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	125
	2 mL de 14% BF <sub>3</sub> em MeOH	120 min à 80°C, reconstitui em isoctano	DB-5MS (30 m)	50°C (0,75 min); 20°C/min - 120°C; 2°C/min - 200°C; 9°C/min - 290°C (10 min)	126
	Diazometano	Derivatização utilizando gerador de diazometano e recostitui em 1 mL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (1 min); 30°C/min - 150°C; 10°C/min - 285°C (6 min)	113
<b>Iopromide</b>	Diazometano				114
<b>Phenazon</b>	200 µL PFBBR (2% em Tolueno) + 5 µL trietilamina	60 min à 110°C reconstitui em 100 µL de tolueno	HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 30°C/min - 150°C (1 min); 3°C/min - 205°C; 10°C/min - 260°C (23 min)	116
<b>Ác Acetilsalicílico</b>			HP-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	90°C (1 min); 10°C/min - 120°C; 3,5°C/min - 200°C; 5°C/min - 315°C (11 min)	44
<b>Etofibrato</b>	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
<b>Ácido Fenofibrico</b>	200 µL de 2% pentafluorobenzilbromide em ciclohexano + 2 µL de trietilamina	120 min à 100°C	DB-5 (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	65°C (2 min); 30°C/min - 180°C; 5°C/min - 300°C (12 min)	42
	Diazometano	15°C negativos	TERNER 1998		119
<b>Ácido Mefenamico</b>	MSTFA	Dissolvido em 1 mL de Hexano		50°C (7,5 min); 30°C/min - 270°C (10 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 5°C/min - 300°C (5 min)	123
	40 µL de tolueno + 40 µL de 10% TEA em tolueno + 20 µL de 10% PFBBR em tolueno	100 µL do eluído, evapora e adiciona os derivatizantes, reage 60 min à 100°C, reconstitui em 100 µL de tolueno	DB-35MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	100°C (1 min); 20°C/min - 150°C (2 min); 3°C/min - 205°C (1 min); 10°C/min - 260°C (5 min); 10°C/min - 280°C (3 min); 15°C/min - 310°C (10 min)	128
<b>Fenazona</b>			DB-5MS (30 m X 0,25 mm X 0,25 µm)	70°C (2 min); 10°C/min - 250°C (5 min); 6°C/min - 280°C (10 min)	124

## ANEXO IV

### Determinação e quantificação de AINEs em amostras aquosas ambientais por SPE, derivatização e GC-MS.

Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
<b>Ibuprofeno</b>	Canadá	320, 264, 263	6770	310				9
	EUA		15100	2925				109
	Hungria	278, 161, 263, 234, 278	2010	580				90
				40				127
	Espanha	161, 177, 220						86
				24190				110
	França	160, 263	17,7 - 219			ND - 4,5		64
	Espanha	161: 105, 119, 206					921 - 4572	63
	Espanha	263	2,81 - 5,77	0,91 - 2,10				66
	China	161, 262, 206			ND	ND		87
	Alemanha	128, 228				5,1 - 32		89
	Rio Danubio	278, 263, 160, 234	580 - 3840	< LQ - 600				91
	Canadá	220: 161			2235,2 - 6718,3	ND - 9,5		111
	Austrália				ND - 100			112
	Canadá							113
	Espanha	206, 161, 163	34000 - 168000	240 - 28000				92
	Espanha	160, 263, 234, 278		1555 - 1895	36,6 - 96,6		ND	10
	Austria		1200 - 2670	ND - 2400				114
	México	263, 264		4380 - 5090	800 - 2200			115
	Grécia	161, 343, 386	ND	ND				116
	Canadá	263, 234, 278	2740 - 9210	40 - 970				65
	Transilvânia	163, 161, 206, 91, 119				< LQ - 115,2		44
	Suíça	177, 220			5 - 1500	ND - 80		117
	EUA	263, 278	710 - 1654	ND - 341				118
Alemanha	91, 117, 118, 161, 181					ND	42	
Alemanha				370 - 3400			119	
Noruega			600	150 - 680		380	89	



Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
	México	263, 264			< LQ - 0,25			120
	Suécia			150 - 780				121
	Canadá	263, 278, 234			ND			88
	Canadá	161, 263			11,3 - 142,6		3,4	122
	Londres			213 - 268	1810 - 2100			123
	México	263, 264		4380 - 5090	0,8 - 2,2			115
	Grécia	161, 163, 107	2800 - 25400	500 - 2600		500 - 8900		124
	Canadá	263, 234, 278	2740 - 9210	40 - 970				65
	Canadá	161, 119	38700 - 75800	4000 - 24600				125
	Canadá	161, 119			ND - 790			126
	Grécia	160, 161, 263	302	< LQ				127
	França	160		< 5,8 - 197,6	< 2,0 - 610,6			11
	EUA	263, 161, 264			1154			12
	China				ND - 490			128
<b>Ácido Salicílico</b>	Canadá	366, 351, 310, 309	6860	140				9
	Rio Danubio	282, 267, 105, 135, 193	2360 - 3160	< LQ				91
	Canadá	152: 120		554,3 - 2178,2	130,4 - 371,5			111
	Austrália			ND - 38000				112
	Canadá							113
	México	195, 309, 310		620 - 29060	7800 - 9600			115
	Canadá	282, 267, 268	110 - 16100	20 - 1030				65
	Alemanha			< LQ - 140				119
	Canadá	195, 251, 309			8 - 19,3		4,2	122
	México	195, 309, 310		620 - 29060	7,8 - 9,6			115
	Grécia	92, 120, 138	34000 - 164400	2900 - 10100		4900 - 70100		124
	Canadá	267, 268	110 - 16100	20 - 1030				65
	Canadá	152, 120	330000 - 874000	3600 - 59600				125
	França	195		< 2,6 - 211,65	< 1,6 - 85,8			11
	França	195		23,5 - 51,5	ND		ND	64
Espanha			9930				110	

Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
<b>Gemfibrozil</b>	Canadá	364, 307, 244, 243	260	190				9
	França	201		13,3 - 17,2	ND - 2,3		ND	64
	Canadá	143; 83		80,1 - 478200	ND - 35,3			111
	Austrália			ND - 1500				112
	Canadá							113
	México	179, 243, 307		640 - 680	< LQ			115
	Canadá	201, 194, 322	100 - 750	20 - 540				65
	Alemanha	83, 122, 161, 181, 309					ND	42
	Alemanha			400 - 1500				119
	México	179, 243, 307			< LQ			120
	Suécia			180 - 260				121
	Canadá	243, 307, 364				2,5 - 11,9	< LQ	122
	México	179, 243, 307		640 - 680	< LQ			115
	Grécia	122, 107, 129	700 - 3300	ND - 1300			500 - 7300	124
	Canadá	201, 194, 322	100 - 750	20 - 540				65
	Canadá	143, 83	700 - 2100	1300				125
	França	201		< 3,3 - 108,8	< 2,2 - 85,8			11
China					ND - 17,4		128	
<b>Naproxeno</b>	Canadá	344, 288, 287, 185	2760	820				9
	EUA		11605	ND				109
	Hungria	302, 185, 243, 287,	2330	1190				90
	Espanha	185, 244, 170	340					86
	Espanha	185, 244, 170	3530					110
	Eslovênia	185, 73, 302, 287			< LQ - 313			69
	França	185, 302		42,1 - 289,1	ND - 9,1		ND - 0,2	64
	Espanha	287	3,5 - 4,5	1,87 - 2,56				66
	China	185		ND	30		ND - 170	87
	Rio Danubio	302, 287, 185, 243	1710 - 2590	280 - 880				91
	Canadá	244: 185		633,1 - 7962,3	ND - 271,4			111

Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
	Australia			ND - 2000				112
	Canadá							113
	Espanha	185, 243, 302		34,9 - 56,5	ND - 14,5		ND	10
	México	185, 287, 344		15220 - 16650	800 - 900			115
	Canadá	243, 185, 302	1100 - 6060	210 - 1110				65
	Suíça	185, 244		100 - 3500	ND - 400			117
	Alemanha	115, 141, 153, 170, 185			ND			42
	Alemanha			300 - 520				119
	México	185, 287, 344			0,55 - 0,73			120
	Suécia			250 - 850				121
	Canadá	243, 302, 185			22 - 107			88
	Canadá	185, 287			35,1 - 83,1		ND	122
	México	185, 287, 344		15220 - 16650	0,8 - 0,9			115
	Grécia	185, 230	ND - 2000	ND - 700		ND - 21800		124
	Canadá	243, 185, 302	1100 - 6060	210 - 1110				65
	Canadá	185, 141	12500 - 33900	40700 - 611000				125
	Canadá	185, 141			ND - 551			126
	Grécia	185, 243, 302	504	32				127
	França	185		< 4,2 - 2666,8	< 2,6 - 274,6			11
	EUA	287, 185, 288			146			12
	China				ND - 118			128
<b>Cetoprofeno</b>	Canadá	368, 312, 311, 295	80	50				9
	Hungria	414, 207, 324, 398, 413	1750	1120				90
			2100					86
	Espanha	209, 268, 191	1790					110
	Eslovênia	282, 73, 311			< LQ			69
	França	282, 311		21,8 - 1080,6	ND - 14,5		ND - 3	64
	China	105, 310, 209		ND	ND		ND	87
	Rio Danubio	326, 311, 282	< LQ - 1750	< LQ - 1390				91
Canadá	209: 194		8 - 351	ND			111	

Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
	Australia			ND - 1000				112
	Canadá							113
	Espanha	282, 311,73	VER	410 - 1440	VER	VER	VER	10
	México	295, 311, 312		260 - 480	< LQ			115
	Canadá	311, 282, 283, 326	30 - 700	30 - 150				65
	Suíça	209, 268		ND - 200	ND - 5			117
	Alemanha	105, 181, 194, 209, 210			ND			42
	Alemanha			200 - 380				119
	México	295, 311, 312			< LQ			120
	Suécia			80 - 330				121
	México	295, 311, 312		260 - 480	< LQ			115
	Canadá	311, 282, 283	30 - 700	30 - 150				65
	Canadá	209, 105	5700	ND				125
	Canadá	209, 105			12 a 50			126
	Grécia	282, 283, 311	369	40				127
	França	292		15,2 - 1136,5	< 2,4 - 33,2			11
	EUA	311, 295, 312			142			12
<b>Diclofenaco</b>	Canadá	409, 354, 352, 214	170	110				9
	Paises Europeus			250 - 5450				129
	Hungria	368, 214, 242, 277	2650	3270				90
	Espanha	214, 242, 309	1250					86
		185, 244, 170	830					110
	Eslovênia	214, 73, 367, 352			< LQ - 282			69
	França	241, 367		210,7 - 486,4	1,36 - 33,2		ND - 2,5	64
	Espanha	277: 242, 243, 207				37 - 510		63
	China	351, 214, 242		ND	ND		ND	87
	Alemanha	214, 242			26 - 67			89
	Rio Danubio	367, 352, 214, 242, 277	2160 - 4190	1950 - 3650				91
	Canadá	277: 242			32 - 457	ND		111

Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
	Australia			ND - 5000				112
	Canadá							113
	Espanha	318, 214, 242, 277	200 - 3600	140 - 2200				92
	Espanha	214, 242, 367		240 - 2780	18,9 - 73,5		ND	10
	Austria		905 - 4114	780 - 3464				114
	México	214, 352, 354		1720 - 6360	< LQ			115
	Grécia	214, 216, 475	12 - 560	10 - 365				116
	Canadá	214, 242, 367	30 - 200	20 - 210				65
	Suíça	214, 309		100 - 700	ND - 150			117
	Alemanha	179, 181, 214, 216, 242, 244			590			42
	Alemanha			810 - 2100				119
	Noruega		ND	ND - 30		4470		89
	México	214, 352, 354			< LQ			120
	Suécia			120 - 180				121
	Canadá	214, 352, 409			ND - 13,2		ND	122
	México	214, 352, 354		1720 - 6360	< LQ			115
	Grécia	214, 242, 295	ND - 3900	ND - 2600		ND - 6500		124
	Canadá	214, 242, 367	30 - 200	20 - 210				65
	Canadá	214, 107	1300	ND				125
	Canadá	214, 107			ND - 194			126
	Grécia	214, 242 216, 367	849	188				127
	França	214		26,3 - 918,6	7,1 - 172,5			11
	EUA	352, 214, 409			112			12
	China				ND - 116			128
<b>Indometacin</b>	Canadá	471, 414, 370, 139	280	180				9
	Canadá							113
	Canadá	139, 141, 312, 429	50 - 200	30 - 240				65
	Alemanha	111, 113, 139, 141, 181					ND	42
	Alemanha			270 - 600				119
	Canadá	139, 141, 312	50 - 200	30 - 240				65

Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
Amitriptilina	França	58, 202		ND - 6	ND		ND - 1,4	64
Cafeína	Mar do Norte				2,0 - 16,1			47
	França	194, 109		255,1 - 2212,7	13 - 107,2		ND - 22,9	64
	Espanha	194: 120, 108, 95				11266 - 83215		63
	Alemanha	109, 194			98 - 176			89
	Rio Danubio	194, 109	< LQ - 57700	< LQ - 1550				91
	Canadá	194: 165		1742 - 8132	ND - 1590			111
	Canadá							113
	Espanha	194, 82, 109	52000 - 192000	1400 - 44000				92
	EUA	109, 165, 194	> 2000	60				62
	Transilvânia	194, 109, 67, 55, 82			428,2 - 9699,8			44
	EUA	194, 109	ND - 628	ND				118
	Noruega		54700	30200 - 126000		293000		89
	Suécia			70 - 430				121
	Canadá	194, 109			ND			88
	Grécia	194, 109, 55	17100 - 113200	1900 - 13900		3100 - 42000		124
França	194		ND - 3257,2	ND - 137,8			11	
Carbamazepina	França	193, 165		157,3 - 293,4				64
	Paises Europeus			300 - 1200				129
	Espanha		70					86
	França	193, 165			ND - 56,3		ND - 43,2	64
	Espanha	193: 191, 165, 167				1 a 8		63
	China	193		ND	ND		ND - 420	87
	Austrália			ND				112
	Espanha	236, 192, 193	120 - 310	110 - 230				92
	Espanha	193, 236		47 - 66,3	ND		ND	10
	EUA	165, 193, 250, 293	600	140				62
Austria		325 - 1850	465 - 1619				114	

Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
	Transilvânia	193, 236, 192			< LQ - 75,1			44
	Suíça	193, 236		100 - 800	30 - 250			117
	Alemanha	165, 191, 192, 193, 236					900	42
	México	193, 293, 180			5,14 - 6,48			120
	Suécia			370 - 1180				121
	Canadá	193, 293			< LQ		< LQ	122
	Grécia	193, 236, 165	ND - 1100	ND 1700		ND - 1900		124
	França	193		ND - 858,2	ND - 82,7			11
<b>Clenbuterol</b>	França	335, 86		ND - 5,9	ND		ND	64
<b>Diazepam</b>	França	256, 221		ND	ND		ND	64
	EUA	256, 284, 286	40	40				62
	Austria		ND	ND				114
	Transilvânia	256, 283, 284			< LQ - 33,6			44
	Alemanha	110, 165, 177, 221, 256, 283					ND	42
<b>Doxepine</b>	França	58, 280		ND	ND		ND	64
<b>Imipramine</b>	França	58, 234		ND	ND		ND	64
<b>Nordiazepam</b>	França	242, 270		ND - 8,3	ND - 2,4		ND	64
<b>Acetaminofeno</b>	França	206, 295		108,1 - 11308,9	10,6 - 72,3		ND - 210,1	64
	Espanha	109: 80, 53, 81				1080 - 3130		63
	Rio Danubio	223, 208, 161, 181	21300 - 22900	< LQ				91
	Austrália			ND - 20000				112
	Espanha	151, 80, 109	29000 - 246000	< LD - 4300				92
	EUA	166, 181, 223	> 2000	130				62
	Canadá	181, 166, 223	ND	ND				65
	Canadá	284, 299			ND			88
	Londres			79 - 112	VER			123
	Grécia	109, 151, 80	4700 - 52500	500 - 1700			1300 - 21200	124
	Canadá	181, 166, 223	ND	ND				65
<b>Salbutamol</b>	França	369, 86		ND	ND		ND	64

Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
	Londres			102 - 113	VER			123
<b>Terbutaline</b>	França	356, 86		ND - 4,1	ND		ND	64
<b>Triclosan</b>	Espanha	288: 218, 146, 220				115 - 268		63
	Alemanha	252, 346			ND - 4,1			89
	Espanha	289, 218, 288, 290	390 - 4200	80 - 400				92
	Espanha	347		145 - 220	ND - 23,4		ND	10
	Canadá	345, 347, 360	370 - 3240	30 - 740				65
	Transilvânia	288, 290, 218, 146			< LQ - 56,7			44
	EUA	200, 360	ND - 1397	ND				118
	Noruega		430	160 - 480		690		89
	Canadá	200, 360, 362			ND			88
	Canadá	200, 347			< LQ		< LQ	122
	Grécia	288, 289, 218	ND - 1000	ND		ND		124
	Canadá	345, 347, 360	370 - 3240	30 - 740				65
	Grécia	200, 345, 347, 360	257	78				127
EUA	347, 200, 345			VER			12	
<b>Bisfenol A</b>	Espanha	213: 119, 167, 195				25 - 146		63
	Espanha	228, 213, 214	720 - 3400	140 - 980				92
	EUA	357, 372	ND - 49	ND				118
	Canadá	357, 372			ND			88
	Grécia	357, 358, 359, 372	407	< LQ				127
	EUA	441, 207, 456			VER			12
	Espanha	299, 162, 229	2800 - 11000	900 - 8100				92
	Transilvânia	299, 162, 229			< LQ - 53,6			44
<b>Ácido Clofibrico</b>	Mar do Norte				ND - 18,6			47
	Paises Europeus			230 - 680				129
	Espanha		370					86
	China	270, 128, 169		ND	ND		ND	87
	Alemanha	161, 220			2,4 - 7,6			89
	Australia			ND				112
	Canadá							113



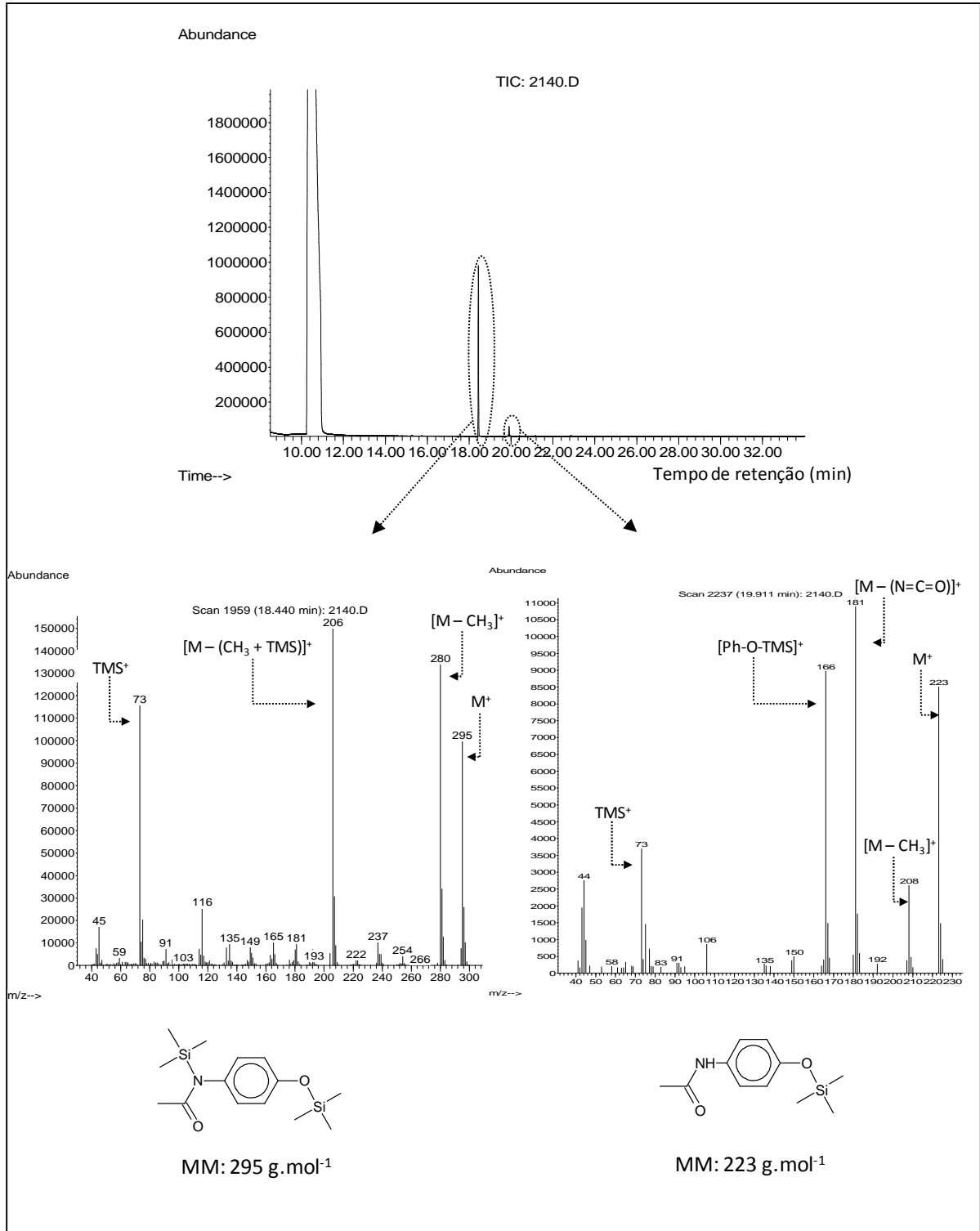
Analito	País	Íons Monitorados	Afluente	Efluente	Águas Superficiais	Hospitalar	Água Potável	Ref.
	Espanha	128, 143, 286		ND - 15,9	ND		ND	10
	México	143, 243, 271		< LQ	< LQ			115
	Grécia	128, 130, 394	ND	5				116
	Canadá	169, 128, 286	ND	ND				65
	Suíça	128, 228		ND - 60	ND - 25			117
	Alemanha	128, 130, 171, 181					ND	42
	Alemanha			360 - 1600				119
	Noruega		ND	ND		ND		89
	México	143, 243, 271			< LQ			120
	Canadá	128, 143, 286			ND			88
	México	143, 243, 271		< LQ	< LQ			115
	Canadá	169, 128, 286	ND	ND				65
	Canadá	130, 128	ND	ND				125
	Canadá	130, 128			15 - 175			126
	EUA	143, 273, 271			VER			12
	China				ND - 14,4			128
	Canadá	256: 197		ND	ND			111
	Canadá							113
	Canadá	314, 299 270	ND	ND				65
<b>Fenoprofeno</b>	Alemanha	91, 103, 181, 197, 225					ND	42
	Canadá	314, 299 270	ND	ND				65
	Canadá	197, 103	1800 - 9700	ND				125
	Canadá	197, 103			ND - 64			126
<b>Ácido Meclofenamico</b>	Canadá	311: 242		79 - 90	80 - 115			111
<b>Dipirona</b>	Espanha	333, 83, 216, 217	4700 - 24000	2400 - 7500				92
<b>Permetrin</b>	Espanha	391, 163, 165, 183	< LD - 300	< LD - 80				92
<b>Chlorfenvinfos</b>	Espanha	359, 267, 269, 323	< LD - 3700	< LD - 1000				92
	EUA	232, 273, 360	250	ND				62
<b>Fenofibrato</b>	Canadá	360, 273, 232	ND	ND				65

<b>Analito</b>	<b>País</b>	<b>Íons Monitorados</b>	<b>Afluente</b>	<b>Efluente</b>	<b>Águas Superficiais</b>	<b>Hospitalar</b>	<b>Água Potável</b>	<b>Ref.</b>
	Alemanha	121, 139, 197, 273					ND	42
	Grécia	121, 232, 139	ND	ND	ND - 600			124
	Canadá	360, 273, 232	ND	ND				65
<b>Benzafibrato</b>	Austria		1550 - 6840	ND - 4800				114
	Alemanha	107, 120, 139, 181					ND	42
	Alemanha		2200 - 4600					119
	Canadá	221, 120	600 - 4700	200 - 600				125
	Canadá	221, 120			ND - 200			126
	Canadá							113
<b>Iopromide</b>	Austria		ND - 3840	ND - 5060				114
<b>Phenazon</b>	Grécia	77, 96, 188	ND	ND				116
<b>Ác Acetilsalicílico</b>	Transilvânia	120, 43, 138, 92			< LQ - 37,2			44
<b>Etofibrato</b>	Alemanha	150, 169, 236, 363					ND	42
<b>Ácido Fenofibrico</b>	Alemanha	121, 139, 181, 234					ND	42
	Alemanha			380 - 1200				119
<b>Ácido Mefenamico</b>	Londres			94 - 124	ND			123
	China				ND - 22,4			123
<b>Fenazona</b>	Grécia	188, 281, 96	ND - 0,	ND		ND - 2500		124

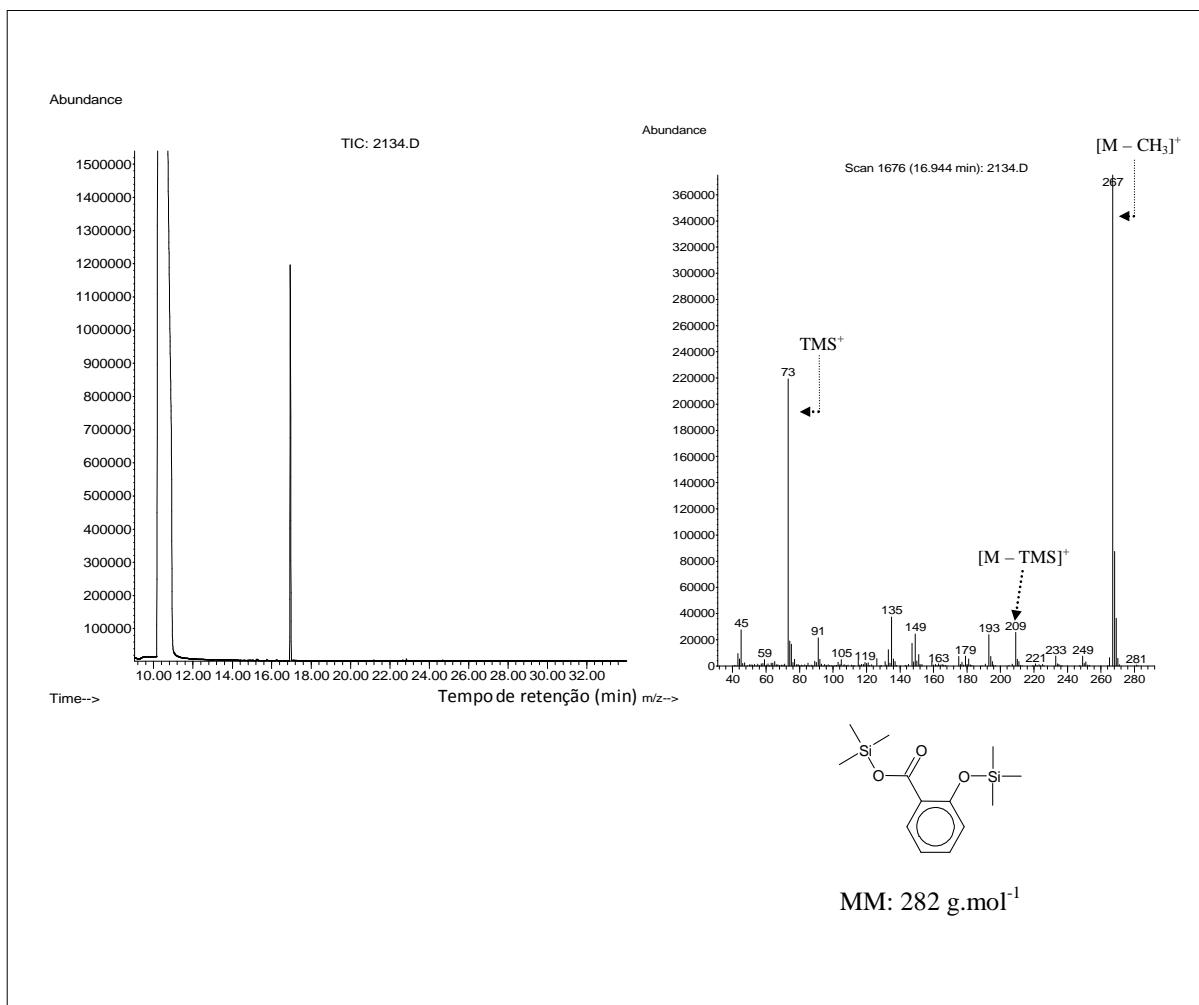
## ANEXO V

### Cromatogramas e espectros de massa dos analitos

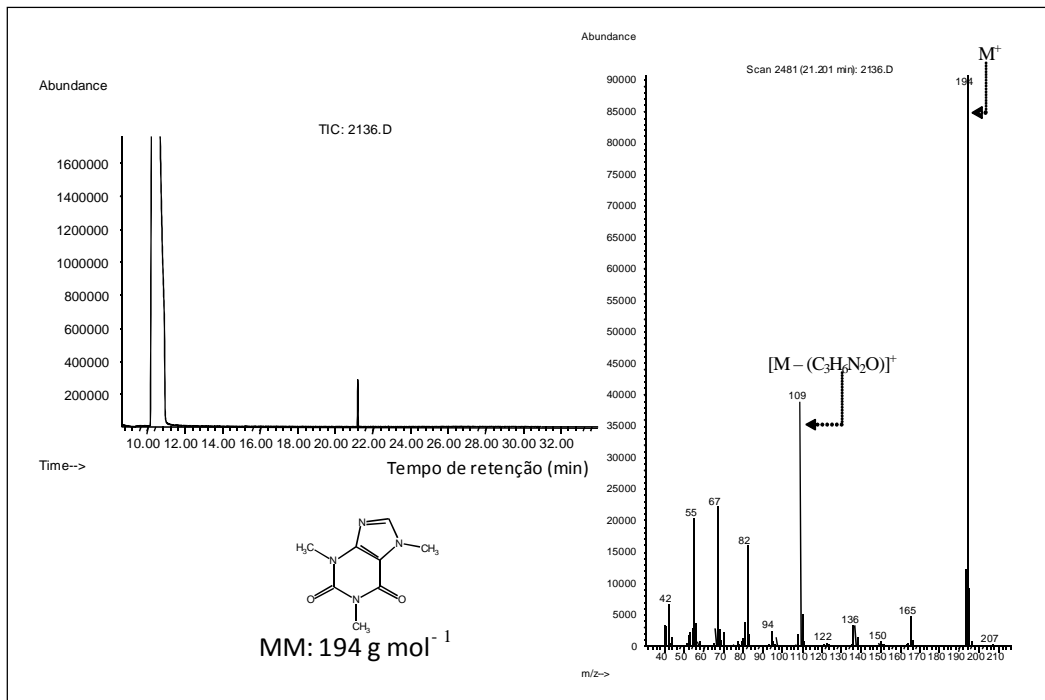
#### Cromatograma e espectro de massas do Acetoaminofeno



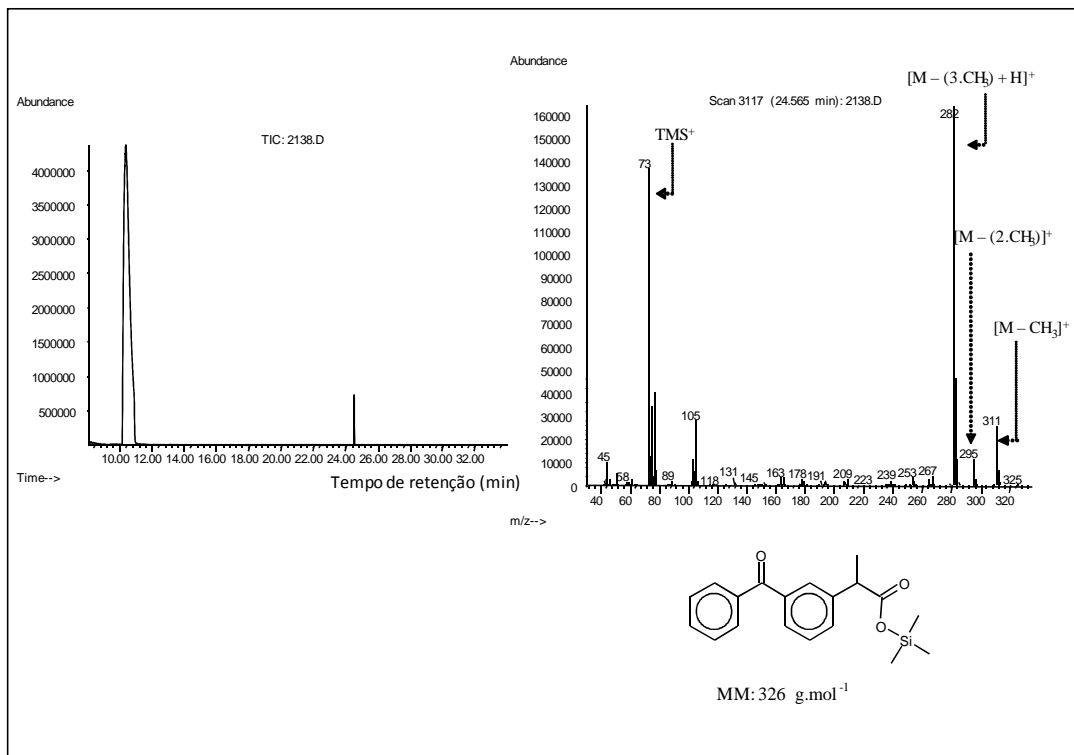
## Cromatograma e espectro de massas do Ácido Salicílico



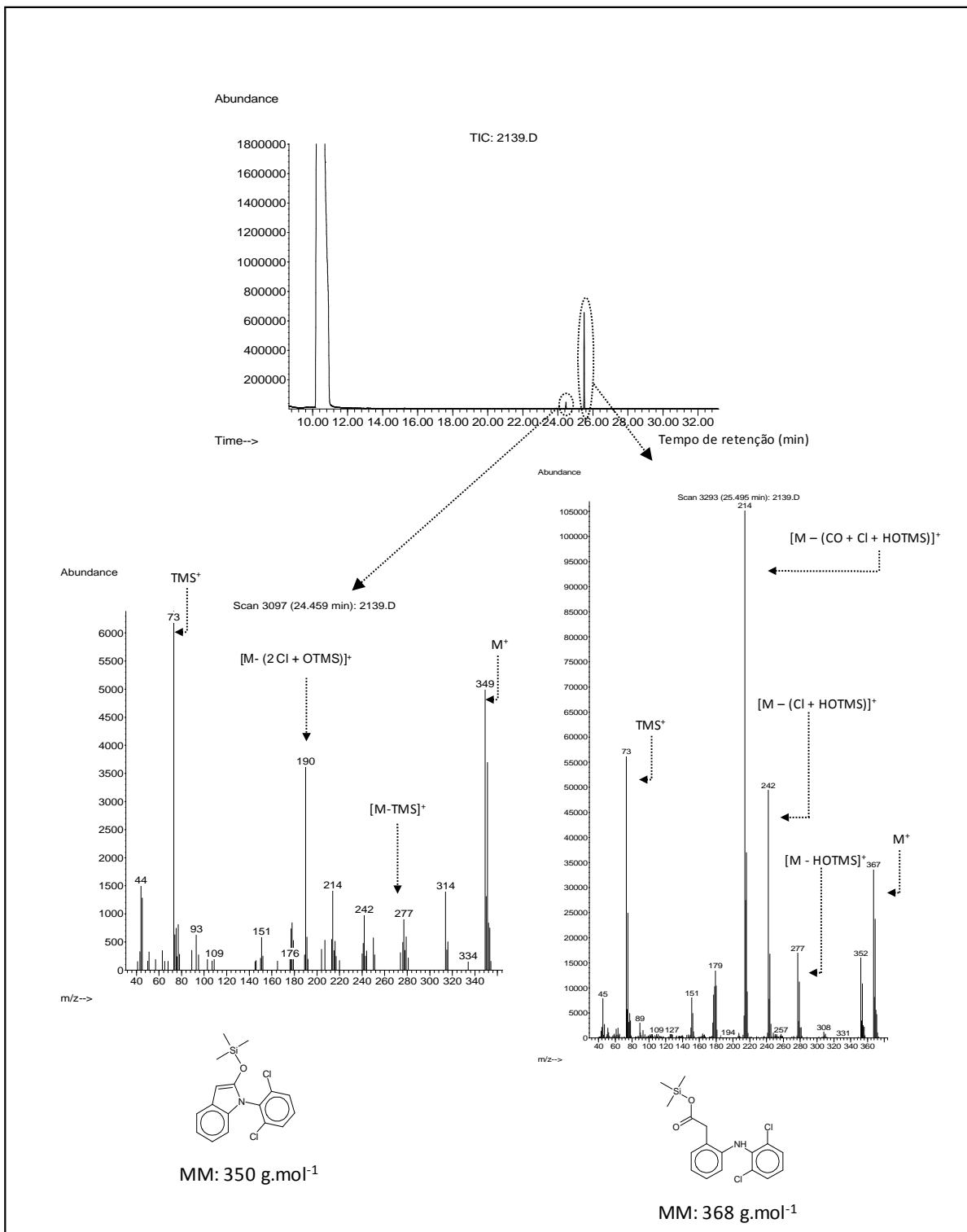
## Cromatograma e espectro de massas da Cafeína



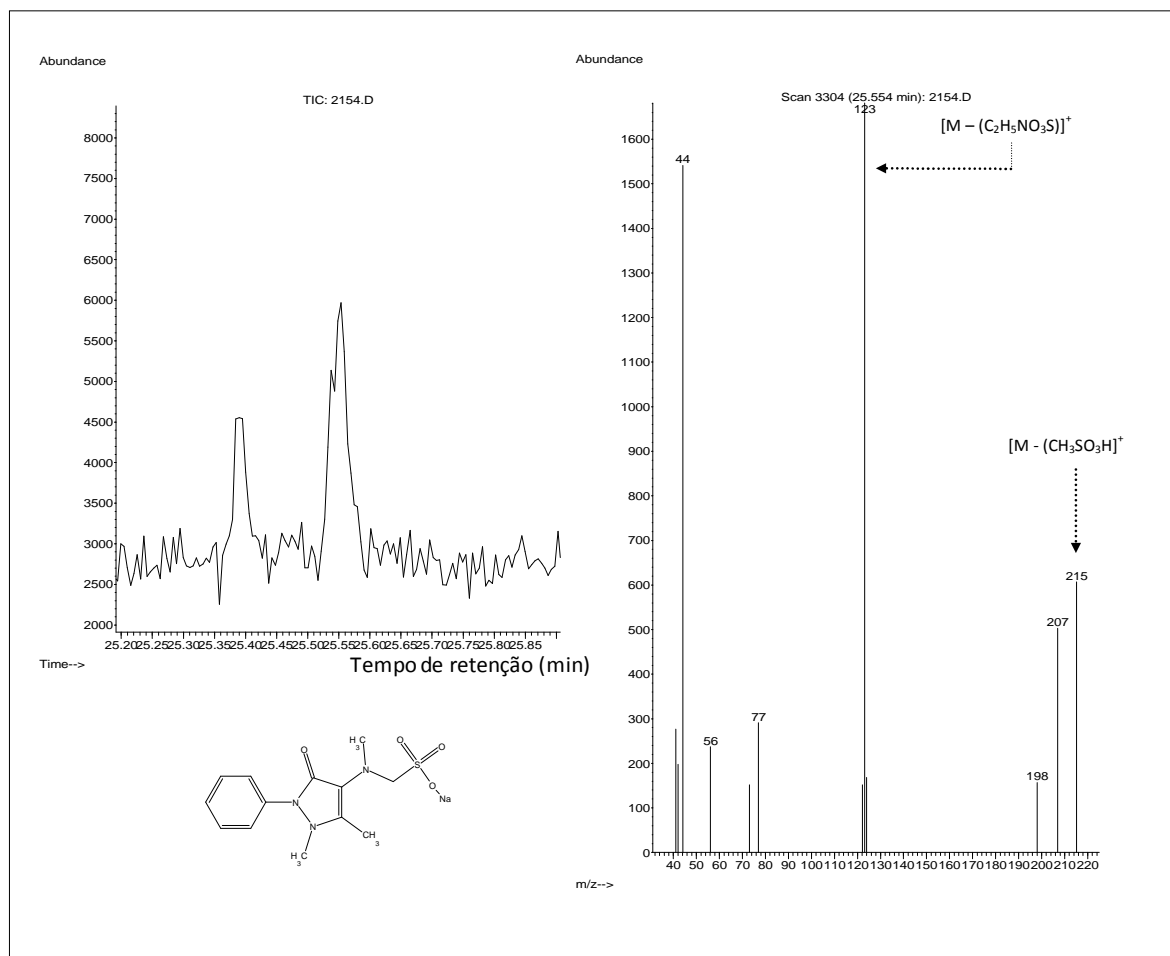
## Cromatograma e espectro de massas do Cetoprofeno



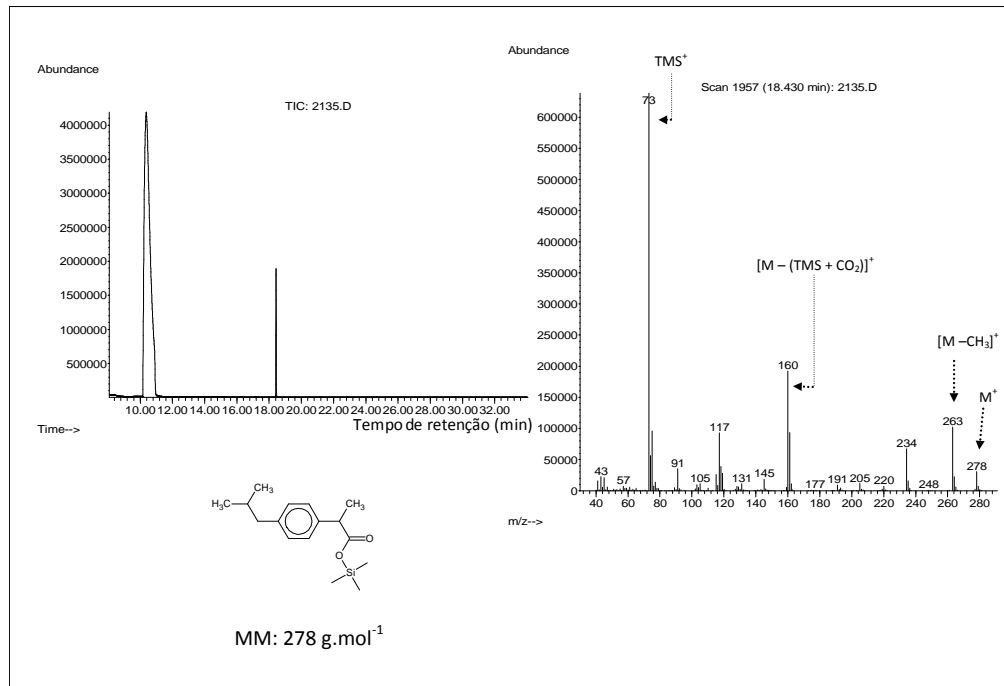
# Cromatograma e espectro de massas do Diclofenaco



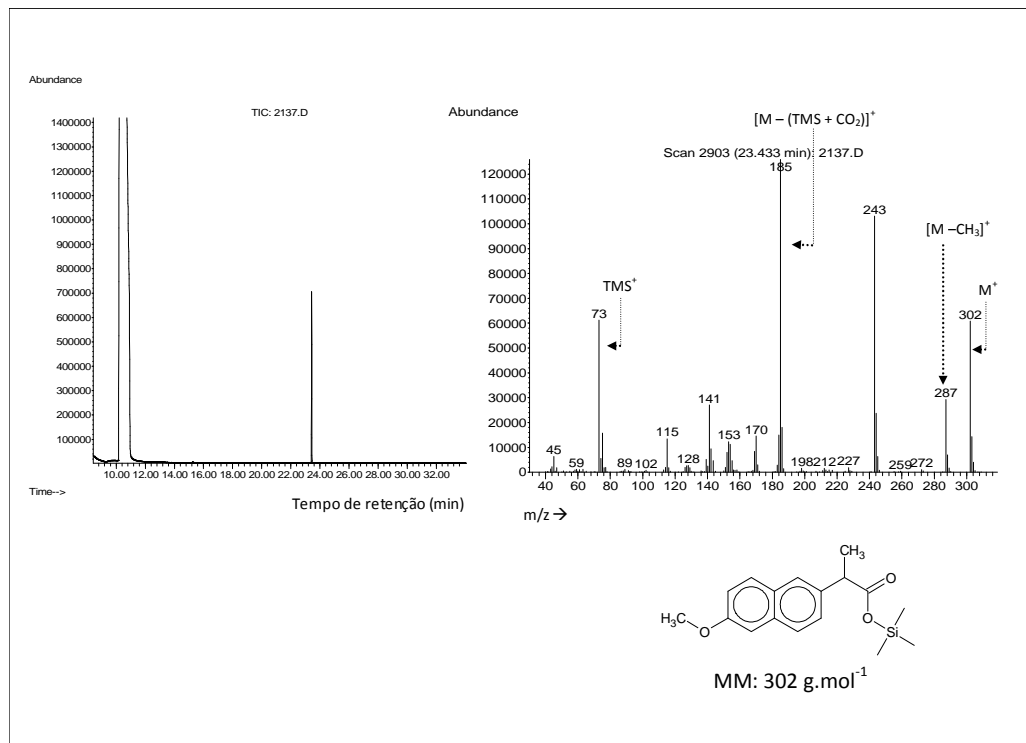
## Cromatograma e espectro de massas da Dipirona



## Cromatograma e espectro de massas do Ibuprofeno



## Cromatograma e espectro de massas do Naproxeno





## Anexo VI

### Superfície de resposta do planejamento *Doehlert* para o processo de derivatização de AINEs

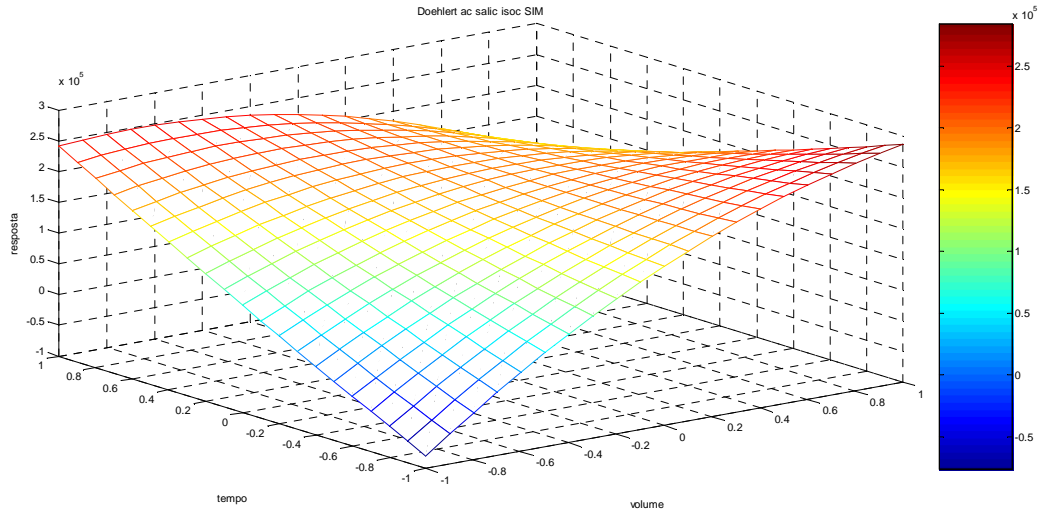


Gráfico 1 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Ácido salicílico em isooctano.

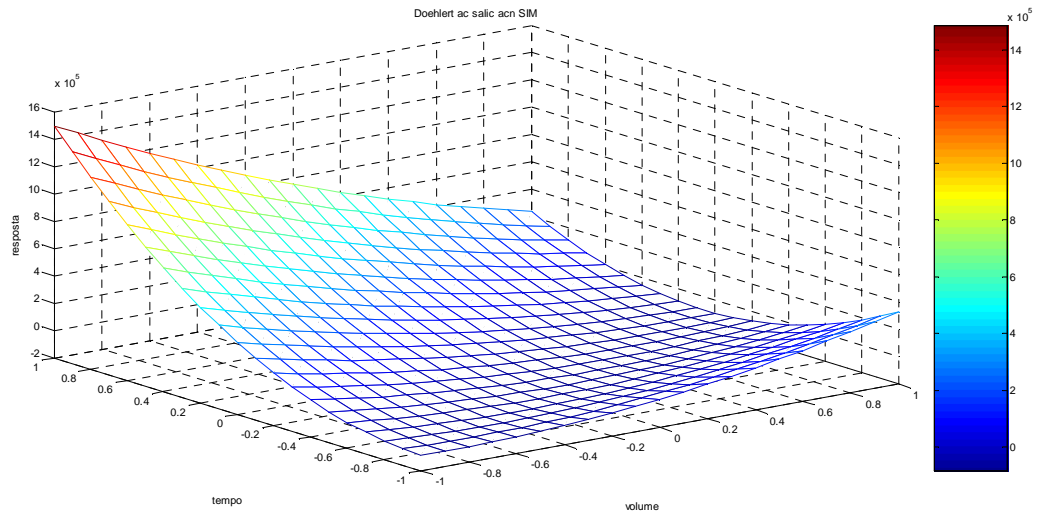


Gráfico 2 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Ácido Salicílico em ACN

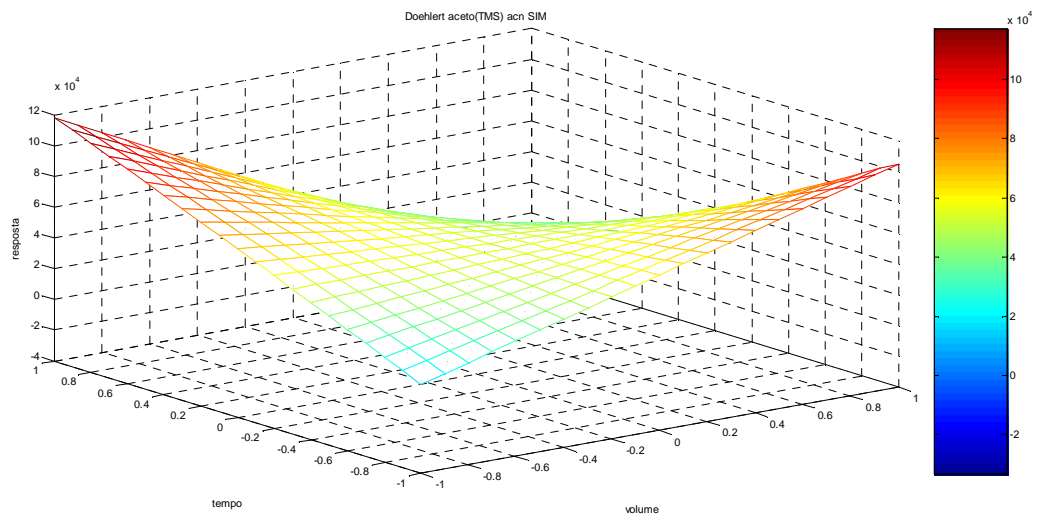


Gráfico 3 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Acetoaminofeno (TrMSi) em ACN

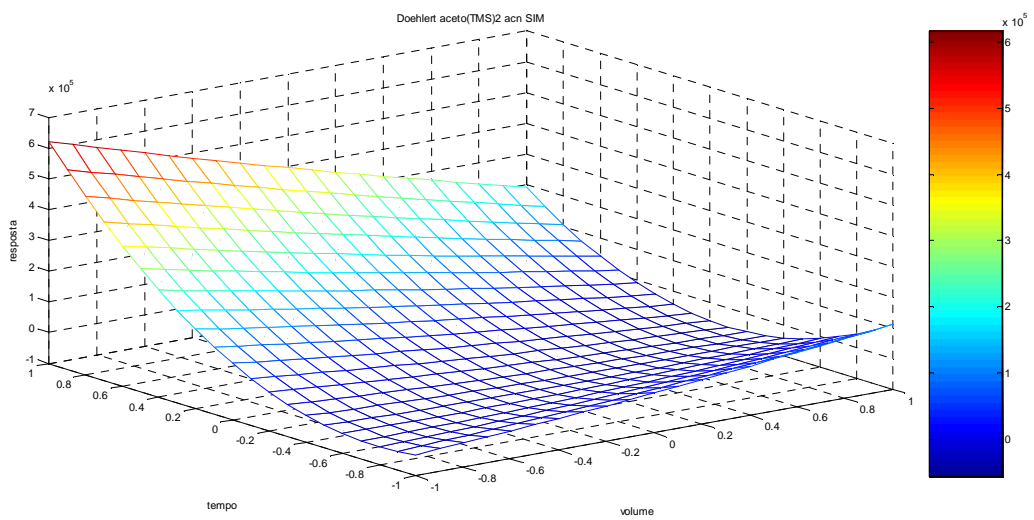


Gráfico 4 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Acetoaminofeno (2 TrMSi) em ACN

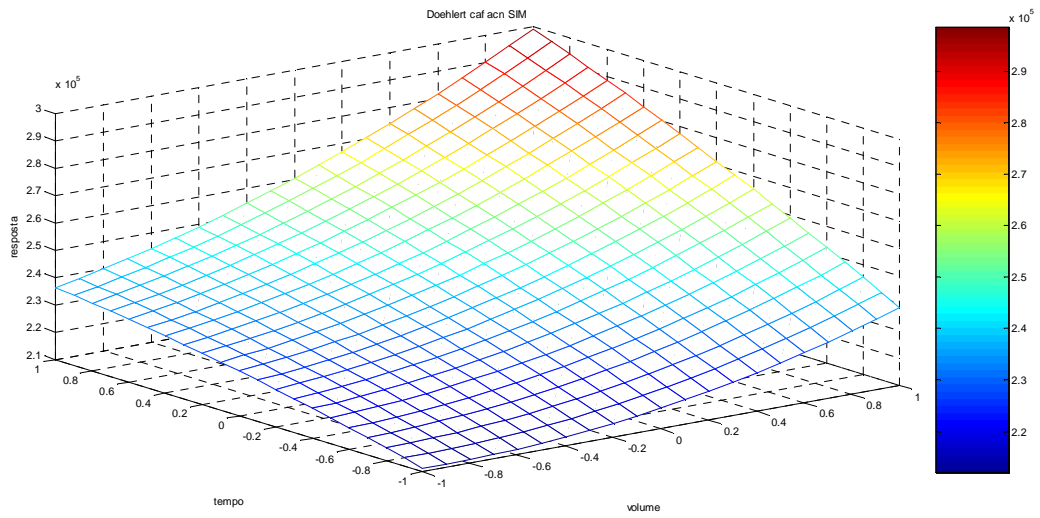


Gráfico 5 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert da Caf ea em ACN

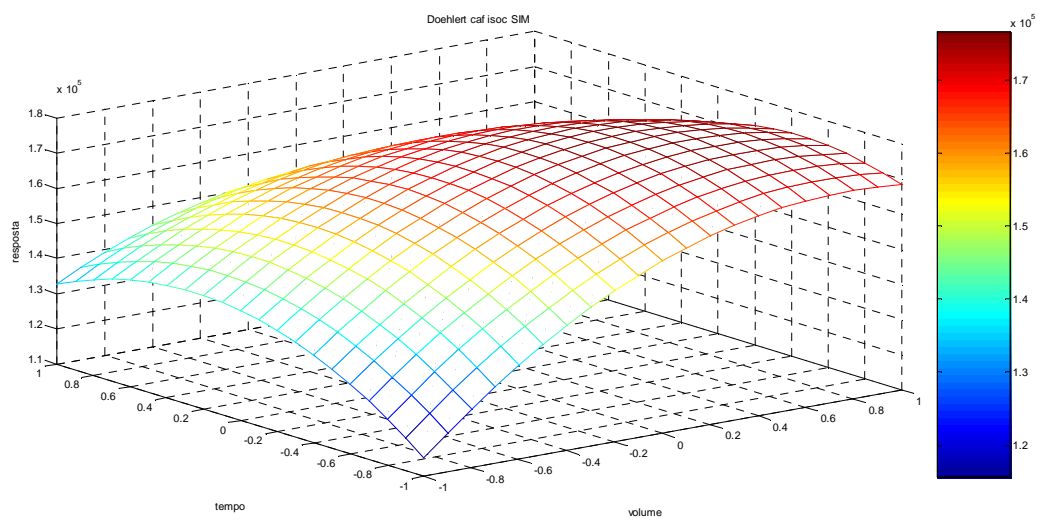


Gráfico 6 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert da Caf ea em isooctano

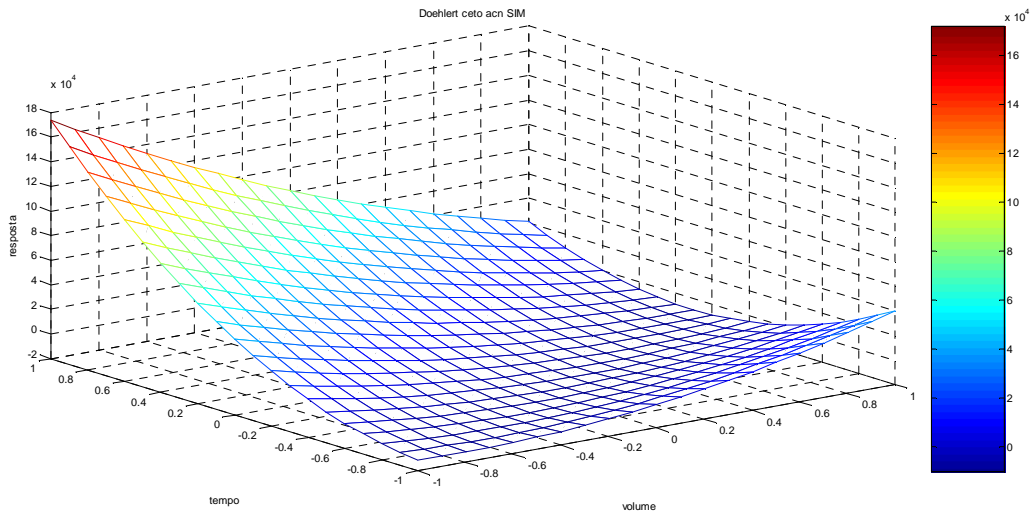


Gráfico 7 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Cetoprofeno em ACN

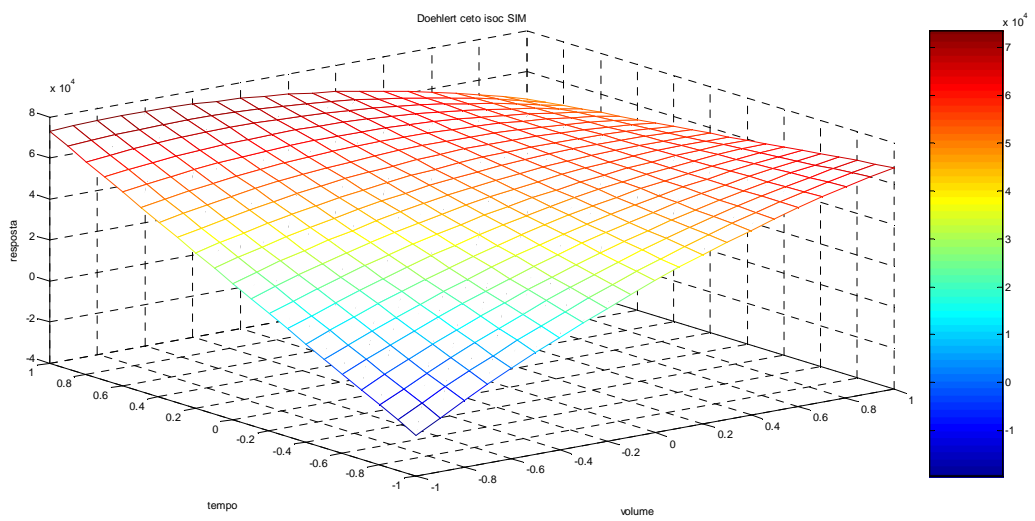


Gráfico 8 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Cetoprofeno em isoctano

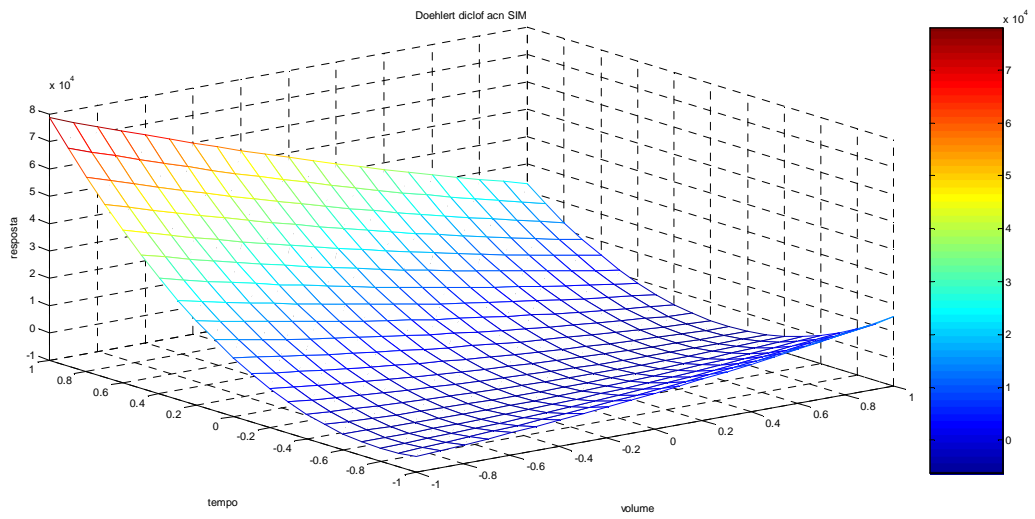


Gráfico 9 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Diclofenaco em ACN

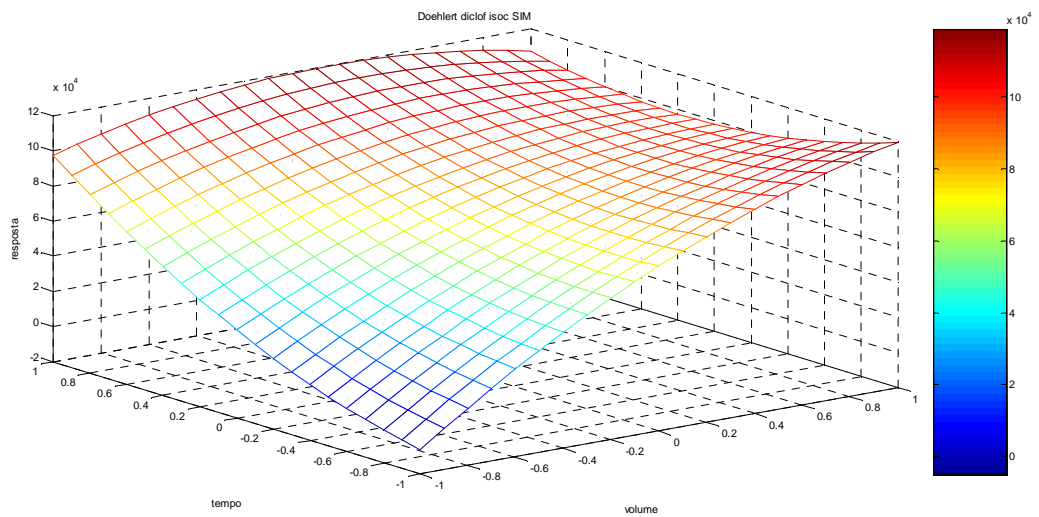


Gráfico 10 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Diclofenaco em isoctano

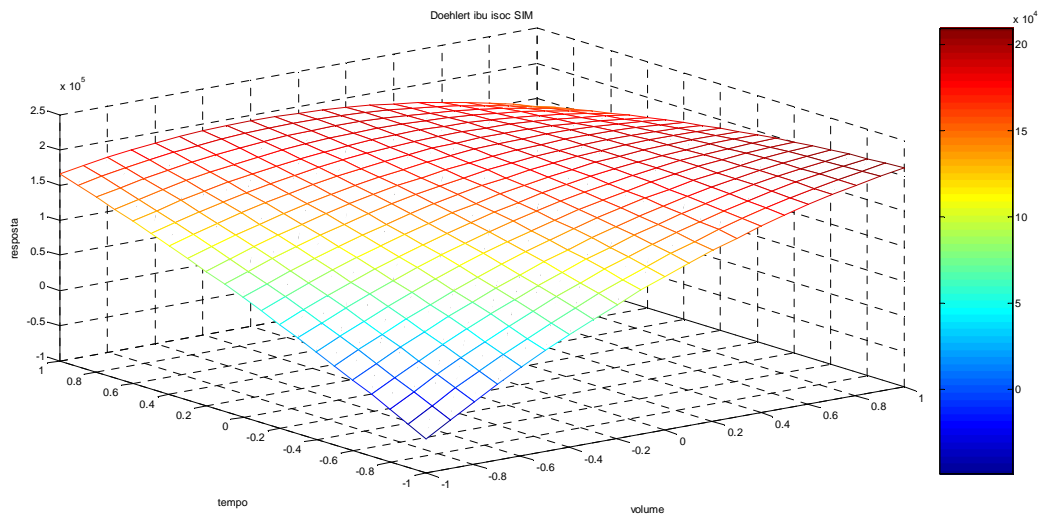


Gráfico 11 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Ibuprofeno em isotano

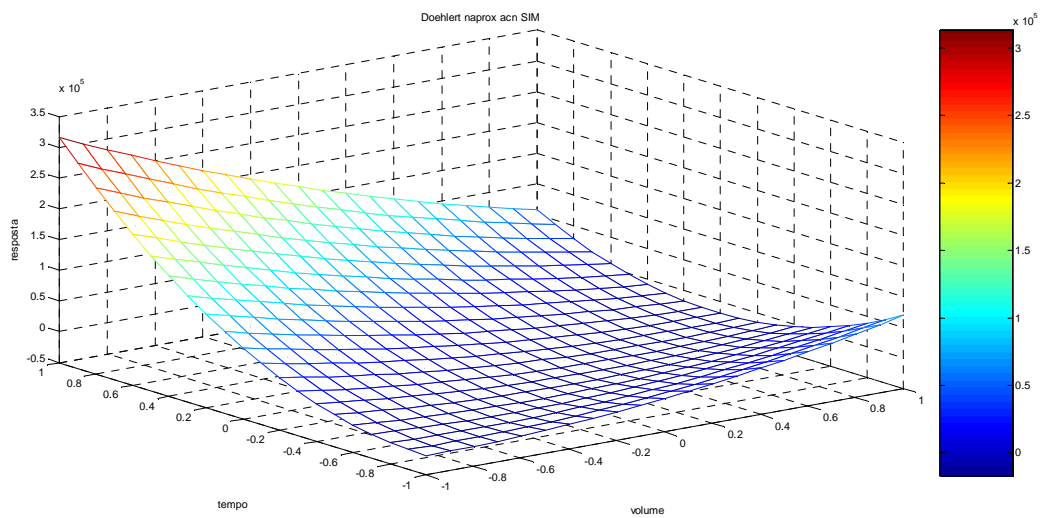


Gráfico 12 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Naproxeno em ACN

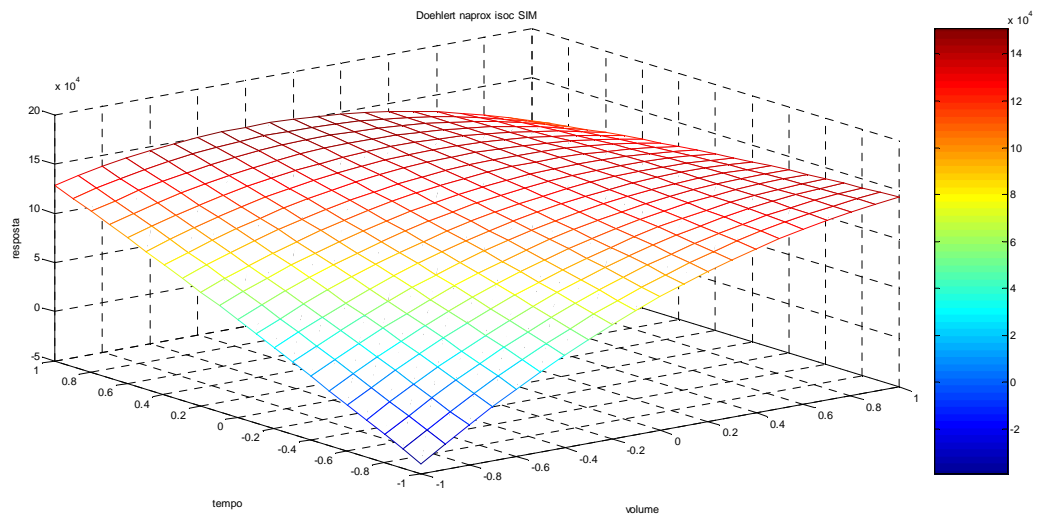


Gráfico 13 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Naproxeno em isoctano

## Anexo VII

Áreas dos picos cromatográficos de cada analito nos diferentes experimentos do primeiro planejamento Doehlert realizado.

Condições experimentais		Diclofenaco			Cetoprofeno			Naproxeno			Cafeína		
Volume de derivatizante	t de reação	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
100	75	49298	51382	54242	75450	80746	84873	162017	170835	175643	245569	256195	251709
77.5	114	732.13	0	0	588.52	0	0	1735	689.56	501.59	293431	288520	287727
10	75	0	0	0	0	0	0	663.15	590.68	712.79	234645	224460	221658
32.5	36	0	0	0	498.78	528.78	583.37	1576	1481	1368	217176	208699	206597
77.5	36	24693	33191	39062	99157	84154	80860	146685	148398	152221	233632	247695	247808
32.5	114	1178	172.77	229.81	1137	478.02	628.21	4322	2574	1972	246613	244906	234712
55	75	0	0	0	521.27	598.83	493.32	1900	1577	1663	251535	245956	240770
55	75	0	0	0	530.86	452.97	538.16	2003	1681	1471	230789	226251	219176
55	75	0	0	0	605.45	749.47	835.48	1954	1847	2359	252063	252781	254660

Condições experimentais		Acetoamonifeno TMS			Acetoaminofeno 2TMS			Ácido Salicílico		
Volume de derivatizante	t de reação	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
100	75	40094	43669	42562	416400	430558	431254	737091	770762	764063
77.5	114	6561	8018	6880	0	0	0	0	0	0
10	75	61329	60697	59653	631.9	576.95	694.57	0	0	0
32.5	36	46911	48657	44187	701.24	835.72	769.23	0	0	0
77.5	36	81778	90802	90049	238626	247662	257184	740173	714256	726274
32.5	114	85547	65678	59294	1704	1039	966.48	0	0	0
55	75	53599	45615	47549	892.81	908.94	875.29	0	0	0
55	75	55255	60270	61904	798.39	798.02	721	0	0	0
55	75	50396	51686	49379	763.01	825.16	940.52	0	0	0



## Anexo VIII

**Áreas dos picos cromatográficos de cada analito nos diferentes experimentos do segundo planejamento Doehlert realizado.**

Condições experimentais		Dipirona				Ibuprofeno				Diclofenaco			
Volume MSTFA ativado III	t de reação	R 1	R 2	R 3	Média	R 1	R 2	R 3	Média	R 1	R 2	R 3	Média
122,5	114	9576	8458	8189	8741	319746	455836	481307	418963	54703	47400	32647	44917
100	153	11548	10305	9913	10589	204188	251355	258968	238170	49309	40226	33357	40964
32,5	114	18756	16344	13749	16283	618	793	739	716	0	0	0	0
55	75	16504	15531	13734	15256	1901	1465	1524	1630	0	0	0	0
100	75	11565	9872	9609	10349	307104	343555	337392	329350	43985	34206	30783	36325
55	153	18171	16404	14414	16330	1846	2059	1618	1841	0	0	0	0
77,5	114	14614	13666	13454	13911	1720	1329	1050	1366	0	0	0	0
77,5	114	17541	15799	14587	15976	1524	1311	1056	1297	0	0	0	0
77,5	114	15702	13355	12621	13893	1797	1374	1097	1423	0	0	0	0

Condições experimentais		Cafeína				Acetoaminofeno TMS				Acetoaminofeno 2TMS			
Volume MSTFA ativado III	t de reação	R 1	R 2	R 3	Média	R 1	R 2	R 3	Média	R 1	R 2	R 3	Média
122,5	114	203454	210853	209869	208059	59187	55371	52615	55724	276172	286146	283824	282047
100	153	203422	208878	214144	208815	107996	103594	98075	103222	179999	184687	180995	181894
32,5	114	201011	203975	204816	203267	41822	37923	35316	38354	0	0	0	0
55	75	197443	204587	204281	202104	47787	48282	40771	45613	0	0	0	0
100	75	209666	213989	211418	211691	123889	113135	172813	136612	173903	175264	172813	173993
55	153	205322	207624	206083	206343	53301	47902	46926	49376	0	0	0	0
77,5	114	204406	208471	206813	206563	32923	32304	29773	31667	0	0	0	0
77,5	114	201599	209359	206112	205690	31290	30353	30018	30554	0	0	0	0
77,5	114	202555	206748	201583	203629	29984	28989	27305	28759	0	0	0	0

Condições experimentais		Cetoprofeno				Naproxeno				Ácido Salicílico			
ativado III	t de reação	R 1	R 2	R 3	Média	R 1	R 2	R 3	Média	R 1	R 2	R 3	Média
122,5	114	827549	419854	327170	524858	748069	357066	301919	469018	541711	526543	513735	527330
100	153	373485	202031	151445	242320	377677	223859	196986	266174	475588	466606	465395	469196
32,5	114	0	0	0	0	355	164	158	226	0	0	0	0
55	75	125	72	51	82	476	131	132	246	0	0	0	0
100	75	326109	207355	148361	227275	331477	241546	205387	259470	458025	454697	452055	454926
55	153	0	0	0	0	332	159	163	218	0	0	0	0
77,5	114	0	0	0	0	218	120	97	145	0	0	0	0
77,5	114	0	0	0	0	210	107	70	129	0	0	0	0
77,5	114	0	0	0	0	166	119	66	117	0	0	0	0

## Anexo IX

**Superfície de resposta do terceiro planejamento *Doehlert* para o processo de derivatização de AINEs do terceiro planejamento realizado.**

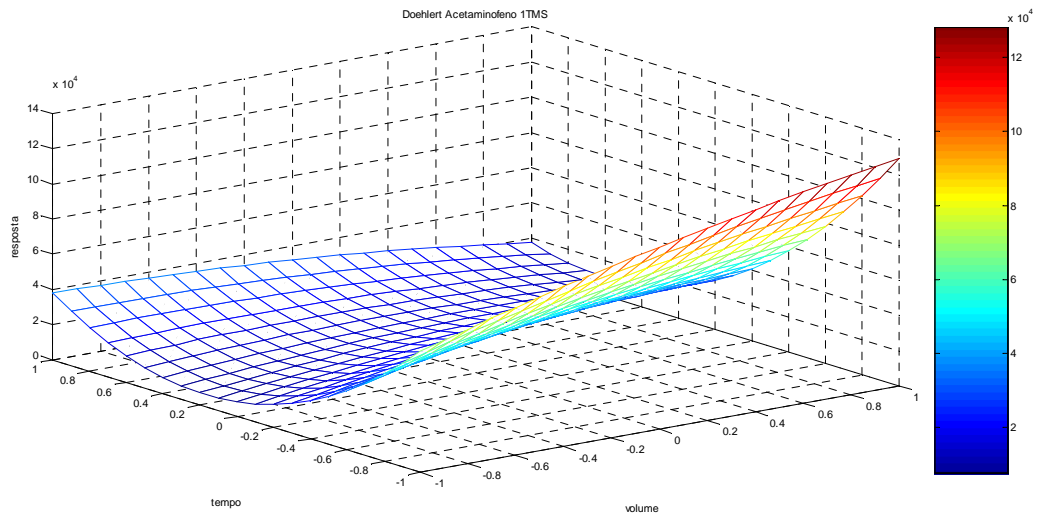


Gráfico 14 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Acetoaminofeno-1 TrMSi em ACN

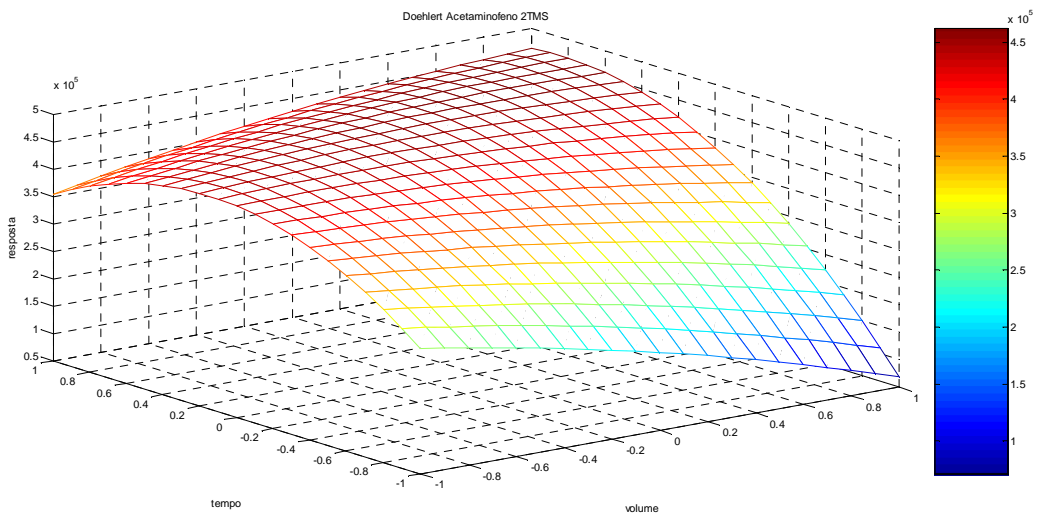


Gráfico 15 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Acetoaminofeno-2 TrMSi em ACN

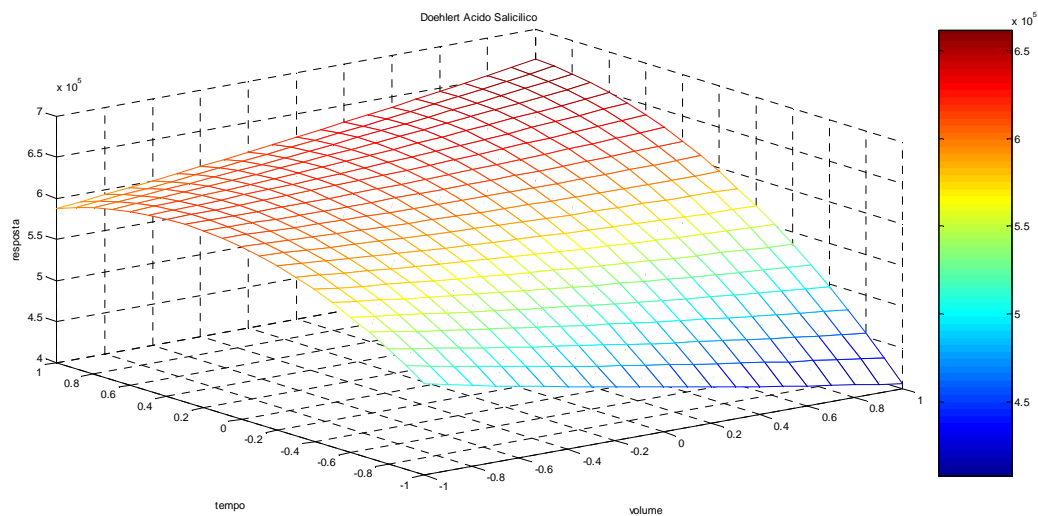


Gráfico 16 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Ácido Salicílico em ACN

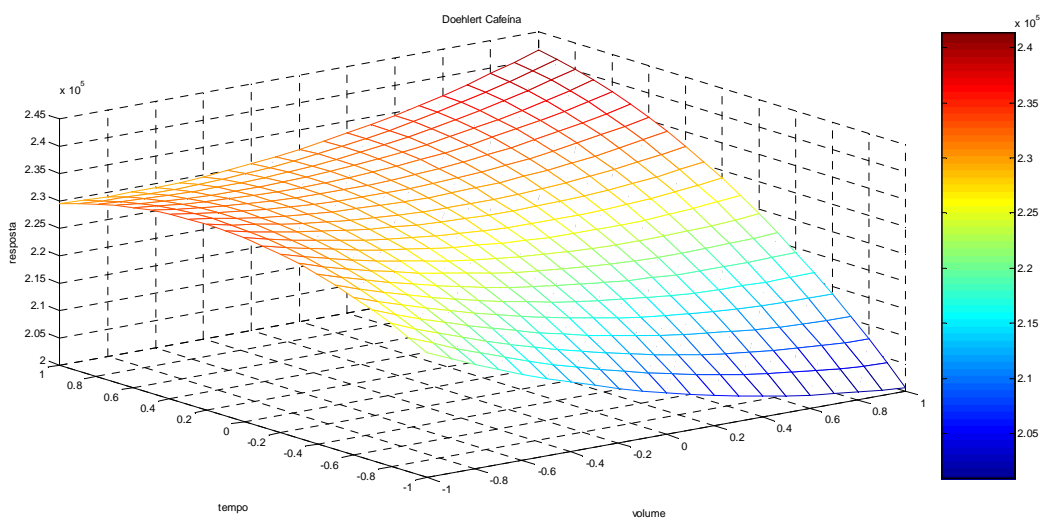


Gráfico 17- Superfície de resposta do planejamento Doehlert da Cafeína em ACN

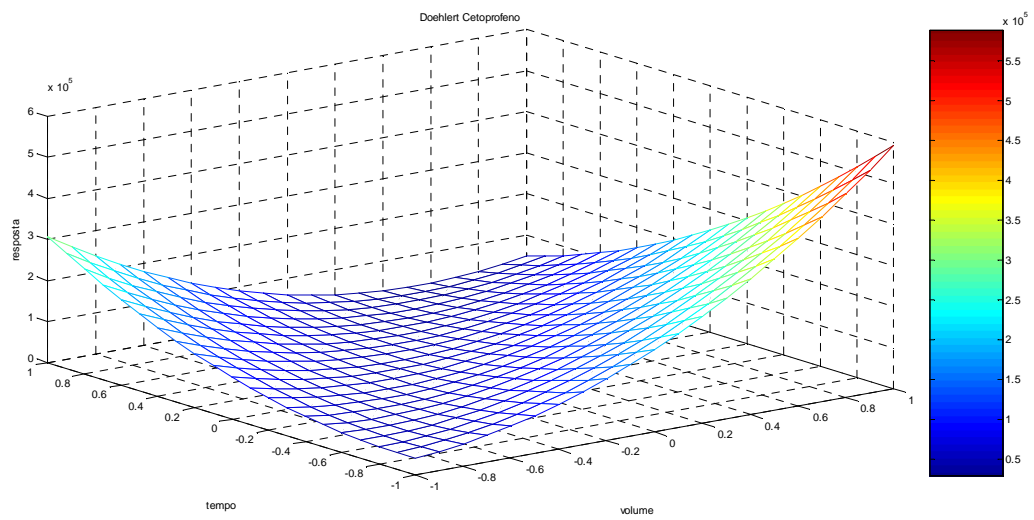


Gráfico 18 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Cetoprofeno em ACN

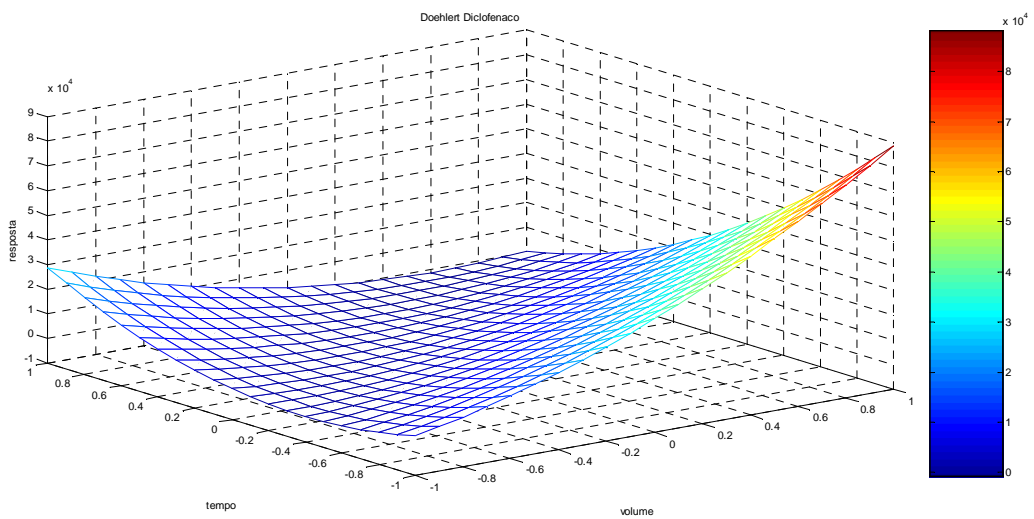


Gráfico 19 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Diclofenaco em ACN

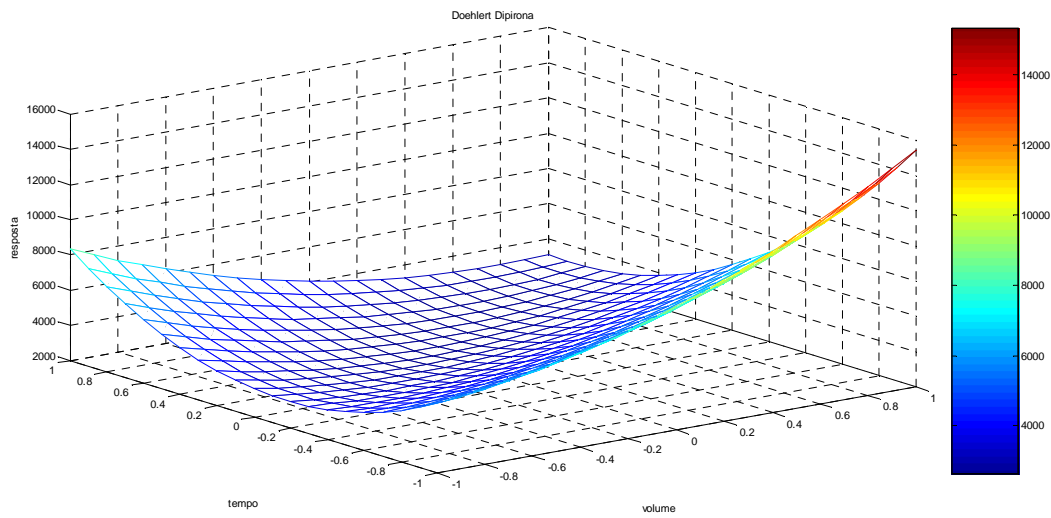


Gráfico 20 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert da Dipirona em ACN

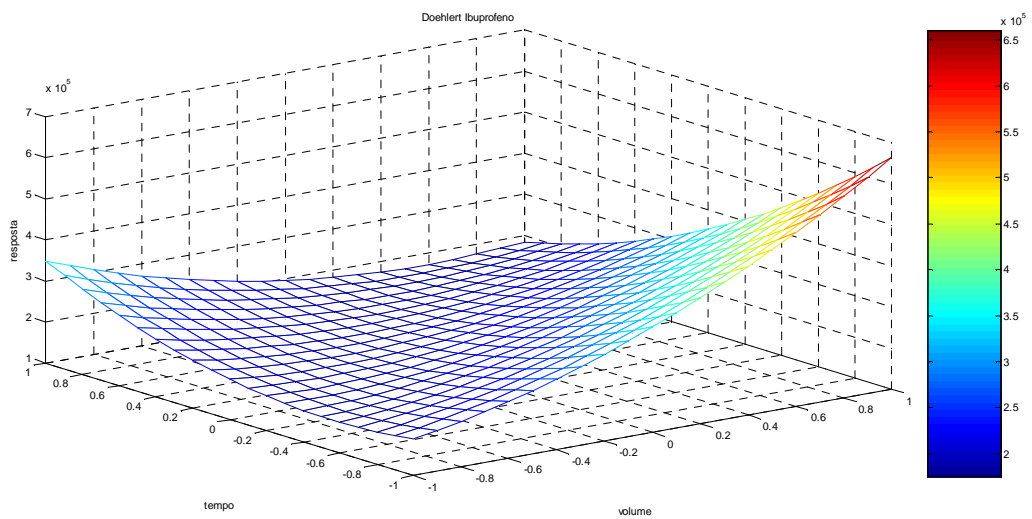


Gráfico 21 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Ibuprofeno em ACN

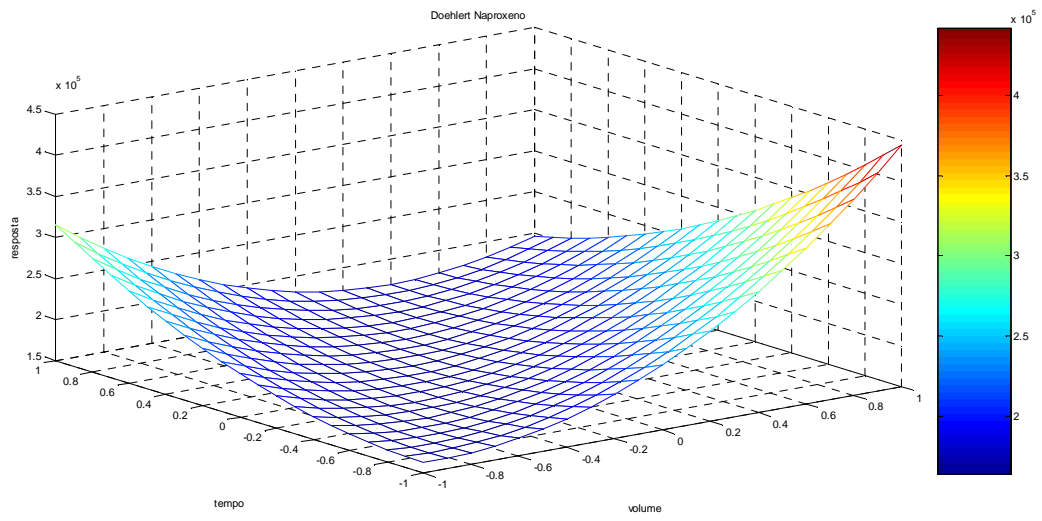


Gráfico 22 - Superfície de resposta do planejamento Doehlert do Naproxeno em ACN

## ANEXO X

### Valores da precisão do método analítico para os analitos

Analito:		ÁCIDO SALICÍLICO																									PRECISÃO INTERMEDIÁRIA
Concentração		122 µg/L																									
Solução	Data das análises																										
	22/01/2011					23/01/2011					24/01/2011					25/01/2011					26/01/2011						
	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê		
TESTE	1,043	0,839	0,742	0,875	17,535	0,654	0,684	0,661	0,666	2,321	0,792	0,577	0,599	0,656	18,017	0,587	0,599	0,580	0,589	1,663	0,602	0,572	0,572	0,582	2,953	8,9	
CONTROLE	1,043	0,839	0,742	0,875	17,535	0,610	0,589	0,532	0,577	7,030	0,573	0,533	VER	0,553	5,096	0,542	0,498	0,470	0,504	7,190	0,537	0,591	VER	0,564	6,726	6,7	
Analito:		IBUPROFENO																									PRECISÃO INTERMEDIÁRIA
Concentração		82 µg/L																									
Solução	Data das análises																										
	22/01/2011					23/01/2011					24/01/2011					25/01/2011					26/01/2011						
	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê		
TESTE	1,053	0,999	0,986	1,013	3,522	0,926	0,985	0,991	0,967	3,713	0,970	0,886	0,936	0,931	4,582	0,877	0,925	0,931	0,911	3,220	0,911	0,903	0,924	0,913	1,146	0,6	
CONTROLE	1,053	0,999	0,986	1,013	3,522	0,948	0,866	0,978	0,931	6,203	0,937	0,911		0,924	1,939	0,856	0,861	0,869	0,862	0,748	0,881	0,968		0,924	6,659	2,2	
Analito:		CAFEÍNA																									PRECISÃO INTERMEDIÁRIA
Concentração		91 µg/L																									
Solução	Data das análises																										
	22/01/2011					23/01/2011					24/01/2011					25/01/2011					26/01/2011						
	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê		
TESTE	1,0447	1,0418	1,0628	1,0498	1,0828	0,9786	1,0315	1,0785	1,0295	4,8533	0,8599	0,8788	0,9016	0,8801	2,3684	0,9294	0,9690	1,0064	0,9683	3,9769	0,9580	0,9410	0,9895	0,9628	2,5524	1,9	
CONTROLE	1,0447	1,0418	1,0628	1,0498	1,0828	1,0278	1,0381	1,0534	1,0398	1,2420	0,9980	1,0052		1,0016	0,5045	0,9083	0,9410	0,9792	0,9429	3,7611	0,9707	1,0683		1,0195	6,7667	0,4	
Analito:		NAPROXENO																									PRECISÃO INTERMEDIÁRIA
Concentração		112 µg/L																									
Solução	Data das análises																										
	22/01/2011					23/01/2011					24/01/2011					25/01/2011					26/01/2011						
	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê		
TESTE	1,018	0,968	0,959	0,982	3,221	1,056	0,960	0,963	0,993	5,532	1,191	0,866	0,997	1,018	16,058	1,036	1,132	1,186	1,118	6,811	1,030	0,954	0,995	0,993	3,853	6,8	
CONTROLE	1,018	0,968	0,959	0,982	3,221	0,911	0,977	0,981	0,956	4,149	0,969	0,963		0,966	0,439	0,953	1,155	1,054	1,054	9,577	1,026	1,670		1,348	33,775	1,9	

Analito:		CEIO PROFENO																				PRECISÃO INTERMEDIÁRIA				
Concentração		90 µg/L																								
Solução	Data das análises																									
	22/01/2011					23/01/2011					24/01/2011					25/01/2011					26/01/2011					
	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	
TESTE	0,438	0,365	0,331	0,378	14,501	0,398	0,319	0,319	0,345	13,318	0,286	0,292	0,313	0,297	4,777	0,317	0,342	0,345	0,335	4,676	0,338	0,327	0,313	0,326	3,739	5,3
CONTROLE	0,438	0,365	0,331	0,378	14,501	0,342	0,334	0,317	0,331	3,871	0,327	0,322		0,325	1,193	0,335	0,337	0,324	0,332	2,178	0,356	0,436		0,396	14,289	7,0
Analito:		DICLOFENACO																				PRECISÃO INTERMEDIÁRIA				
Concentração		116 µg/L																								
Solução	Data das análises																									
	22/01/2011					23/01/2011					24/01/2011					25/01/2011					26/01/2011					
	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	
TESTE	0,352	0,352	0,369	0,357	2,810	0,385	0,394	0,414	0,398	3,607	0,495	0,480	0,526	0,500	4,675	0,546	0,601	0,632	0,593	7,413	0,542	0,541	0,566	0,550	2,582	0,9
CONTROLE	0,352	0,352	0,369	0,357	2,810	0,312	0,385	0,411	0,369	13,926	0,508	0,554		0,531	6,122	0,495	0,552	0,543	0,530	5,754	0,562	0,702		0,632	15,690	5,7
Analito:		ACEIO AMINO FENO																				PRECISÃO INTERMEDIÁRIA				
Concentração		82 µg/L																								
Solução	40566																									
	22/01/2011					23/01/2011					24/01/2011					25/01/2011					26/01/2011					
	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	1ª	2ª	3ª	Média	Repê	
TESTE	0,110	0,071	0,062	0,081	31,293	0,084	0,064	0,062	0,070	16,876	0,149	0,104	0,096	0,116	24,652	0,162	0,101	0,092	0,119	31,982	0,149	0,099	0,091	0,113	28,236	7,2
CONTROLE	0,110	0,071	0,062	0,081	31,293	0,392	0,280	0,259	0,310	23,177	0,100	0,076	0,060	0,079	25,510	0,120	0,091	0,073	0,095	24,902	0,471	0,479	0,492	0,481	2,258	4,2