

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

DÉBORA SALMÓRIA ARAÚJO

**ANÁLISE DE TRIAGEM DE COMPOSTOS PERFLUORADOS EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS MEDIANTE O USO DE UHPLC-QTOF MS**

Porto Alegre

2023

DÉBORA SALMÓRIA ARAÚJO

**ANÁLISE DE TRIAGEM DE COMPOSTOS PERFLUORADOS EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS MEDIANTE O USO DE UHPLC-QTOF MS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso – QUI” do Curso de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Dr. Alessandro Dallegrave

Orientador

Profa. Dra. Carla Sirtori

Co-orientadora

Porto Alegre

2023

## CIP - Catalogação na Publicação

Araújo, Débora Salmória

Análise de triagem de compostos perfluorados em  
águas superficiais mediante o uso de UHPLC-QTOF MS /  
Débora Salmória Araújo. -- 2023.

39 f.

Orientador: Alessandro Dallegrave.

Coorientadora: Carla Sirtori.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto  
de Química, Curso de Química Industrial, Porto Alegre,  
BR-RS, 2023.

1. Água superficial. 2. Substâncias per e  
polifluoroalquiladas (PFAS). 3. Base de dados. 4.  
Triagem de suspeitos. 5. UHPLC-QTOF MS. I. Dallegrave,  
Alessandro, orient. II. Sirtori, Carla, coorient.  
III. Título.

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

DÉBORA SALMÓRIA ARAÚJO

**ANÁLISE DE TRIAGEM DE COMPOSTOS PERFLUORADOS EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS MEDIANTE O USO DE UHPLC-QTOF MS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado junto à atividade de ensino “Trabalho de Conclusão de Curso – QUI” do Curso de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química Industrial.

Dr. Alexsandro Dallegrave  
Orientador

Profa. Dra. Carla Sirtori  
Co-orientadora

**Aprovada em:**Porto Alegre, 10 de abril de 2023.

BANCA EXAMINADORA:

**Dr. Alexsandro Dallegrave - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS**

Nome e titulação do orientador  
Instituição do orientador

**Dra. Carla Sirtori - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS**

Nome e titulação do Co-orientadora  
Instituição do orientador

**Dra. Raquel Wielens Becker - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS**

Nome e titulação do membro da banca  
Instituição do membro da banca

**Dra. Eliana Weber de Menezes - Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS**

Nome e titulação do membro da banca  
Instituição do membro da banca

Agradeço aos meus pais por todo apoio e carinho.

Aos meus mestres que passaram em minha vida, por todo ensinamento.

Aos meus orientadores, pela confiança, paciência e todo conhecimento compartilhado!

## RESUMO

Compostos perfluorados (PFCs) compreendem um grande grupo de compostos organofluorados, amplamente utilizados pela indústria. Dentre este grupo destacam-se as substâncias per e polifluoroalquiladas (PFAS), que fazem parte de um conjunto de poluentes orgânicos persistentes, de interesse global por causa de suas associações com resultados nocivos à saúde humana e meio ambiente. A presença destas substâncias em águas potáveis é uma questão importante, normalmente estão presentes em níveis de traços, portanto, metodologias analíticas adequadas são necessárias para detecção destas. Sendo assim, o presente estudo objetivou avaliar a presença de PFAS em 28 amostras de diferentes pontos de coleta no rio Conceição situado em Ijuí-RS, mediante a técnica de Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas de alta resolução com analisador de massa quadrupolo/tempo de voo (do inglês, UHPLC-QTOF MS). O preparo de amostra foi realizado com a técnica de extração em fase sólida (do inglês, SPE) para limpeza e pré-concentração. Para triagem dos compostos o método de identificação fundamentou-se no uso de uma base de dados especialmente construídas para os PFAS, desenvolvida através de uma análise abrangente de informações disponíveis em publicações científicas de domínio público. A aplicação da metodologia proposta permitiu evidenciar a presença, como suspeitos, de 32 PFAS em modo de ionização positivo, e 11 PFAS no modo de ionização negativo.

**Palavras-chave:** água superficial; substâncias per e polifluoroalquiladas (PFAS); base de dados; triagem de suspeitos; *UHPLC-QTOF MS*.

## ABSTRACT

Perfluorinated compounds (PFCs) comprise a large group of organofluorinated compounds, widely used by industry. Among this group stand out the per and polyfluoroalkylated substances (PFAS) which are part of a set of persistent polluting pollutants, of global interest because of their association with negative results to human health and the environment. The presence of these substances in drinking water is an important issue, they are usually present at trace levels, therefore, adequate analytical methodologies are necessary for their detection. Therefore, the present study aimed to evaluate the presence of PFAS in 28 samples at different sampling points on the Conceição river located in Ijuí-RS, using the Ultra Efficiency Liquid Chromatography technique coupled to high resolution Mass Spectrometry with a quadrupole mass/time of flight (UHPLC-QTOF MS). Sample preparation was performed using the solid phase extraction (SPE) technique for cleaning and pre-concentration. For sorting the compounds, the identification method was based on the use of a database specially constructed for the PFAS developed through a comprehensive analysis of information available in scientific publications in the public domain. The application of the proposed methodology allowed to evidence the presence as suspects of 32 PFAS in positive ionization mode, and 11 PFAS, negative ionization mode.

**Keywords:** surface water; per and polyfluoroalkyl substance (PFAS); database; suspect screening; UHPLC-QTOFMS.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Resumo simplificado da família de substâncias per e polifluoroalquiladas .....	05
<b>Figura 2</b> - Esquema dos procedimentos para análise de per e polifluoroalquiladas.....	16
<b>Figura 3</b> - Espectro de massas, representação dos dados retirados da plataforma <i>MzCloud</i> .....	23
<b>Figura 4</b> - Espectro de massas, representação dos dados retirados da plataforma <i>MassBank</i> .....	24
<b>Figura 5</b> - Representação da base de dados per e polifluoroalquiladas, indicando o composto, CAS, estrutura, modo de ionização, fórmula, perfil de fragmentação e a referência .....	24
<b>Figura 6</b> - Modelo de processamento pelo <i>software TargetAnalysis</i> .....	26
<b>Figura 7</b> - Modelo de processamento através do <i>software DataAnalysis</i> .....	26
<b>Figura 8</b> - Modelo de processamento modo positivo .....	28
<b>Figura 9</b> - Modelo de processamento modo negativo .....	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS (opcional)

<b>AFFF</b>	Espuma aquosa de combate a incêndio ( <i>aqueousfilm-formingfoam</i> )
<b>APCI</b>	<i>AtmosphericPressure Chemical Ionization</i>
<b>APPI</b>	<i>AtmosphericPressure Chemical Photoionisation</i>
<b>bbCID</b>	<i>Broadband Collision Induced Ionization</i>
<b>CAS</b>	<i>Chemical Abstracts Service</i>
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>DLLME</b>	<i>Dispersive Liquid-Liquid Micro Extraction</i>
<b>EFC</b>	Fluoração Eletroquímica ( <i>Electro-Chemical Fluorination</i> )
<b>ETAR</b>	Estação de tratamento de águas residuárias
<b>EIC</b>	<i>Extracted ion chromatogram</i>
<b>ESI</b>	Ionização por electrospray ( <i>EletronsprayIonization</i> )
<b>FID</b>	<i>Flame Ionization Detector</i>
<b>FOSA</b>	Perfluorooctanosulfonamida ( <i>Perfluorooctanesulfonamideacid</i> )
<b>FTCA</b>	Ácidos carboxílicos fluortelômeros
<b>FTICR</b>	<i>Fourier-transform ion cyclotron resonance</i>
<b>FTM</b>	Fluorotelomerização ( <i>Fluoro telomerization</i> )
<b>FTOH</b>	Fluorotelômeroalcool ( <i>Fluorotelomeralcohols</i> )
<b>FTSAs</b>	Ácidos sulfônicos fluortelômeros
<b>GC</b>	<i>Gas Chromatography</i>
<b>HRMS</b>	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>IUPAC</b>	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
<b>LC</b>	<i>Liquid Chromatography</i>
<b>LLE</b>	<i>Liquid – Liquid Extraction</i>
<b>MMF-SPME</b>	<i>Multiple monolithic fibre solid-phase microextraction</i>
<b>MS</b>	<i>Mass Spectrometry</i>
<b>MSPD</b>	<i>Matrix Solid Phase Dispersive</i>
<b>m/z</b>	Razão massa sobre carga
<b>OCDE</b>	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
<b>PFAAs</b>	Ácidos perfluoroalquilados ( <i>PerfluoroalkylAcids</i> )
<b>PFAS</b>	Per - e polifluoroalquilados ( <i>Per- and polyfluoroalkylsubstances</i> )

<b>PFBA</b>	Ácido perfluorobutanóico ( <i>Perfluorobutanoicacid</i> )
<b>PFBS</b>	Ácido perfluorobutano sulfônico ( <i>Perfluorobutanesulfonicacid</i> )
<b>PFCs</b>	Compostos perfluorados ( <i>Perfluorinated compounds</i> )
<b>PFCAs</b>	Ácidos carboxílicos perfluoroalquilados ( <i>Perfluoroalkylcarboxylicacids</i> )
<b>PFDA</b>	Ácido perfluorodecanóico ( <i>Perfluorodecanoicacid</i> )
<b>PFDS</b>	Ácido perfluorodecano sulfônico ( <i>Perfluorodecanesulfonicacid</i> )
<b>PFHpA</b>	Ácido perfluoroheptanóico ( <i>Perfluoroheptanoicacid</i> )
<b>PFHxA</b>	Ácido perfluorohexanóico ( <i>Perfluorohexanoicacid</i> )
<b>PFHxS</b>	Ácido perfluorohexano sulfônico ( <i>Perfluorohexanesulfonicacid</i> )
<b>PFNA</b>	Ácido perfluoronanóico ( <i>Perfluorononanoicacid</i> )
<b>PFOA</b>	Ácido perfluorooctanóico ( <i>Perfluorooctanesulfonicacid</i> )
<b>PFOS</b>	Ácido perfluorooctano sulfônico ( <i>Perfluorooctanesulfonic acid</i> )
<b>PFPeDA</b>	Ácido perfluoropentadecanóico ( <i>Perfluoropentadecanoateacid</i> )
<b>PFSAs</b>	Ácidos perfluoroalquilados sulfônicos ( <i>Perfluoroalkylsulfonic acids</i> )
<b>PFPeDA</b>	Ácido perfluoropentadecanóico ( <i>Perfluoropentadecanoateacid</i> )
<b>PFTrDA</b>	Ácido perfluorotridecanóico ( <i>Perfluorotridecanoicacid</i> )
<b>PLE</b>	<i>Pressurised Liquid Extraction</i>
<b>PNUMA</b>	Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente
<b>PTFE</b>	Politetrafluoretileno
<b>POPs</b>	Poluentes orgânicos persistentes ( <i>Persistent Organic Pollutant</i> )
<b>POSF</b>	Perfluorooctanosulfonilfluorido ( <i>Perfluorooctane-1-sulfonyl fluoride</i> )
<b>PVDF</b>	<i>Polyvinylidene fluoride</i>
<b>QqQ</b>	<i>Triple Quadrupole</i>
<b>QTOF</b>	<i>Quadrupole – Time Of Flight</i>
<b>QuEChERS</b>	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe</i>
<b>SPE</b>	Extração em fase sólida ( <i>Solid Phase Extraction</i> )
<b>SPME</b>	<i>Solid Phase Micro Extraction</i>
<b>TOF</b>	<i>Time Of Flight</i>
<b>UHPLC</b>	Ultra High-Pressure Liquid Chromatography
<b>VALLME</b>	Vortex-assisted Liquid-liquid Microextraction

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>01</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>03</b>
<b>2.1. Objetivo geral</b> .....	<b>03</b>
<b>2.2. Objetivos específicos</b> .....	<b>03</b>
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>04</b>
<b>3.1 Compostos perfluorados (PFCs)</b> .....	<b>04</b>
3.1.1. História e produção dos PFAS.....	05
<b>3.1.2. Síntese dos PFAS</b> .....	<b>06</b>
<b>3.1.3. Características e propriedades físico-químicas dos PFAS</b> .....	<b>06</b>
3.1.3.1 Propriedades do Grupo Funcional .....	08
<b>3.1.4. Fontes industriais e aplicação dos PFAS</b> .....	<b>09</b>
3.1.5. Ocorrência dos PFAS em diversas matrizes .....	10
3.1.5.1. <b>Ocorrência dos PFAS em águas</b> .....	<b>11</b>
3.1.6. Aspectos legais dos PFAS .....	12
3.1.7. Exposição humana e efeitos na saúde.....	14
<b>3.2. Métodos de análise de PFAS</b> .....	<b>15</b>
3.2.1. Técnicas de preparo de amostra.....	16
3.2.2. Análise instrumental .....	18
<b>4. METODOLOGIA</b> .....	<b>20</b>
<b>4.1. Materiais, métodos e preparo de amostra</b> .....	<b>20</b>
<b>4.2. Análise instrumental: UHPLC-QTOF MS</b> .....	<b>21</b>
<b>4.3. Elaboração da base de dados</b> .....	<b>21</b>
4.3.1. Aplicação da base de dados .....	22
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>5.1. Base de dados</b> .....	<b>23</b>
<b>5.2. Métodos para análise das amostras</b> .....	<b>25</b>
<b>5.3. Triagem de PFAS suspeitos</b> .....	<b>27</b>
<b>5.4. Comparação de custos</b> .....	<b>30</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>32</b>
<b>APÊNDICE A. Resultados PFAS no modo de ionização negativo e positivo</b> .....	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O mundo enfrenta uma crise sistêmica na qualidade da água, onde o acesso a água potável têm se tornado um desafio. A escassez da água potável pode ser considerada um problema resultante da desigualdade social e da falta de manejo e usos sustentáveis dos recursos naturais. A necessidade de acesso à água potável se torna cada vez mais necessário em decorrência do crescimento populacional, da crescente urbanização e da industrialização. Tais fatos associados a estratégias limitadas de tratamento empregadas nas estações de tratamento de águas residuárias (ETAR) para a remoção de determinados poluentes, são fatores que contribuem para que diversos compostos químicos permaneçam nos corpos d'água (FURTADO, 2020; SOSNOWSKA et al., 2023).

Dentre estes grupos de poluentes, destacam-se os perfluorados (PFCs do inglês *perfluorinated compounds*), que constituem uma classe de compostos organofluorados, largamente usados na indústria, e que têm sido inseridos no meio ambiente há pelo menos 80 anos, sem que os danos a longo prazo da sua presença nos diferentes compartimentos ambientais tenham sido considerados (FURTADO, 2020). Os PFCs são substâncias tóxicas, persistentes, bioacumuláveis, que representam grandes ameaças à saúde humana e ao meio ambiente. Sendo assim, há séria preocupação sobre a ocorrência destes analitos no meio ambiente, pois muitos satisfazem as características definidoras de poluentes orgânicos persistentes (POPs) (MIRANDA, 2021; JIA et al., 2022).

Embora os PFAS sejam constituídos por um grupo enorme de substâncias, dados descritos na literatura demonstram que apenas um pequeno número deles foi totalmente testado e as suas propriedades analisadas. Ou seja, entre os milhares de PFASs ainda produzidos e usados, existem muitos negligenciados que são estruturalmente semelhantes ao ácido perfluorooctano sulfônico (PFOS) e ao ácido perfluorooctanóico (PFOA) ou seus precursores e são produzidos em grandes proporções. Portanto, a presença destes compostos em águas potáveis é uma questão iminente, já que normalmente estão presentes em níveis de traços a ultra traços ( $\text{ng L}^{-1}/\text{pg L}^{-1}$ ) no ambiente (HUERTA et al., 2022; BINGQI et al., 2023). Estando nessa faixa de concentração, será essencial fazer uso de metodologias analíticas adequadas para assim viabilizar a detecção dos PFAS em diferentes amostras.

Nesse contexto, a cromatografia líquida de ultra performance acoplada com espectrometria de massa de alta resolução (UHPLC-HRMS, do inglês *Ultra High Pressure Liquid Chromatography – High Resolution Mass Spectrometry*), é relatada como uma técnica sensível, eficiente e reprodutível para análise de traços e detecção dos PFAS em amostras

ambientais (CHARBONNET et al., 2022; JIA et al., 2022; BINGQI et al., 2023). Analisadores de massa híbridos, como quadrupolo-tempo de voo (QTOF MS) fornecem dados em alta resolução de massas e permitem a aquisição de dados sob diferentes condições instrumentais (CARDOSO et al., 2020; HUERTA et al., 2022).

Entretanto, o tratamento de dados é uma etapa minuciosa e lenta. É possível inferir na busca de um elevado número de analitos, em uma única análise. Além disso, como a existência de padrões analíticos de referência para esta classe de compostos são relativamente escassos, este tratamento de dados requer conhecimento aprofundado da técnica (CARDOSO et al., 2020; CHARBONNET et al., 2022). De acordo com Jia (2022), é crucial promover e melhorar as técnicas analíticas existentes para facilitar a detecção de vestígios de PFAS em diversas matrizes ambientais. Dessa forma, a utilização de softwares associada a uma base de dados contendo uma grande variedade de compostos, permite a busca de compostos, após a aquisição de dados por UHPLC-QTOF MS, em que a presença de um número ilimitado de contaminantes pode ser investigada sem depender da pré-seleção de analitos ou da obtenção de padrões de referência (CARDOSO et al., 2020). Também, análises retrospectivas referentes a outras amostras já analisadas, são possíveis quando se utiliza esse tipo de técnica como triagem.

Através desta técnica moderna será possível promover a redução dos custos das análises, agilidade e confiabilidade dos resultados, ampliando a aplicabilidade dessa técnica à diferentes contextos e diferentes usuários. Sendo também possível direcionar os gestores e pesquisadores, bem como o público em geral e as partes interessadas na compra dos padrões analíticos, assim como identificar quais pontos de amostragem merecem uma atenção especial em relação a eventuais contaminações. Nesta perspectiva, no contexto onde está inserido esse trabalho, espera-se que os resultados favoreçam a ampliação do monitoramento sistemático dos recursos hídricos com vistas a uma possível incorporação dos PFAS nas listas de monitoramento e/ou na legislação vigente.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O estudo consiste em realizar uma análise qualitativa de triagem de suspeitos (*suspect screening*), dos compostos perfluorados (PFCs), promovendo a otimização dos custos de análise, através do uso de cromatografia a líquido de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massa de alta resolução, empregando uma base de dados dos compostos perfluorados.

### 2.2 Objetivos específicos

- Elaborar uma base de dados para a triagem de suspeitos nas amostras em estudo, que permitirá a triagem automatizada dos PFCs com foco especial no grupo per e polifluoroalquil (PFAS);
- Determinar a presença qualitativa dos PFAS em 28 amostras de águas superficiais, coletadas no rio Conceição, situado em Ijuí - RS utilizando o *software Target Analysis*;
- Verificar presença dos PFAS suspeitos avaliando as fragmentações características, tempo de retenção dos fragmentos, exatidão de massa e perfil isotópico utilizando o *software Data Analysis*;
- Avaliar comparativamente os custos de realização de análises de triagem para determinar os PFAS mediante o uso do sistema UHPLC-QTOF MS com e sem padrões analíticos.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Compostos perfluorados (PFCs)

Nos últimos anos, houve um aumento de estudos de monitoramento e publicações que descrevem a presença de compostos perfluorados no ambiente e em seres humanos. De interesse mais recente são os compostos PFAS que apresentam propriedades físico-químicas únicas, incluindo alta resistência à degradação abiótica e biótica (MULABAGAL et al., 2018; HUERTA et al., 2022; BINGQI et al., 2023). As substâncias perfluoroalquiladas e polifluoroalquiladas, incluem muitos grupos e subgrupos de produtos químicos, com diferentes grupos funcionais, e seus isômeros (MIRANDA, 2021). Entretanto, são substâncias distintas com diferentes propriedades, pesos moleculares, mas com características estruturais comuns (BUCK et al. 2011; COUSINS et al., 2020).

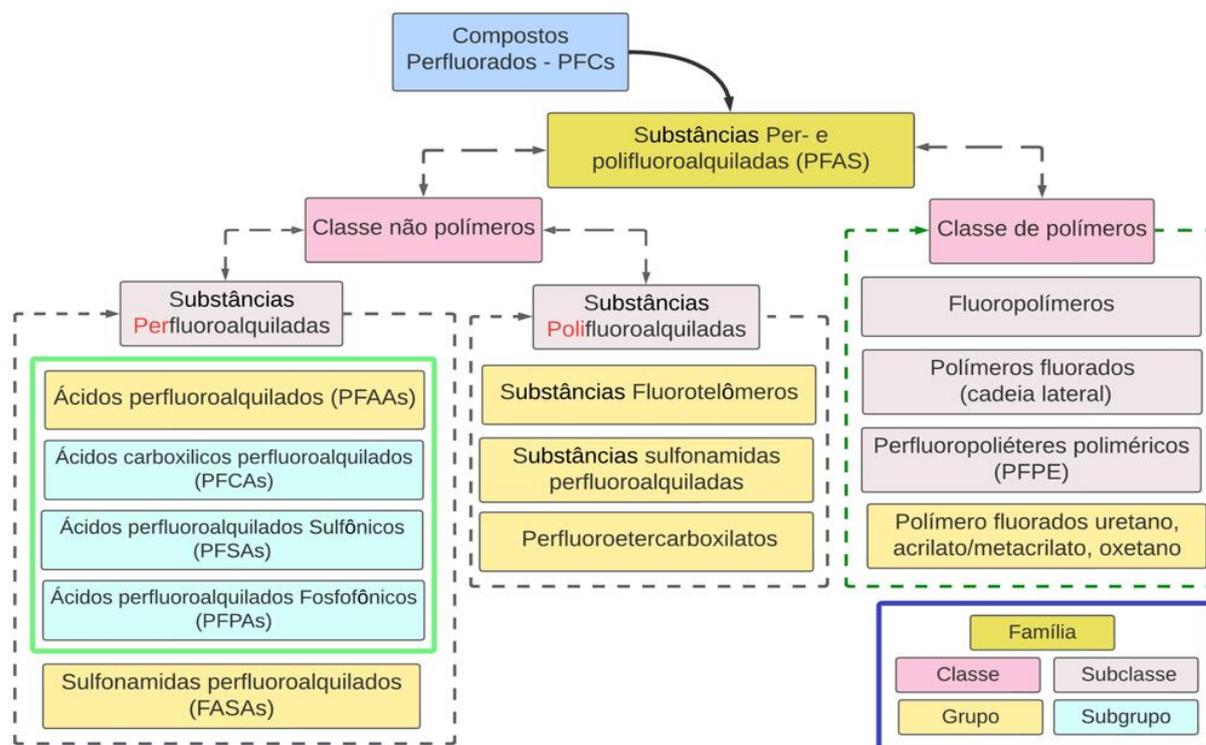
As substâncias perfluoroalquiladas referem-se àquelas para as quais todos hidrogênios ligados a átomos de carbono foram substituídos por átomos de flúor (exceto para átomos de hidrogênio cuja substituição mudaria as propriedades dos grupos funcionais) (COUSINS et al., 2020; MIRANDA, 2021). São moléculas totalmente fluoradas (perfluoro-) alquiladas (cadeia de carbono). Sua estrutura química básica é composta de uma cadeia (ou “cauda”) de dois ou mais átomos de carbono com um grupo funcional carregado (ou “cabeça”) ligado a uma extremidade (BUCK et al. 2011). Os ácidos perfluoroalquilados (PFAAs) são algumas das substâncias PFAS menos complexas e atualmente são a classe de PFAS mais comumente encontradas no meio ambiente e são divididos em dois subgrupos principais: ácidos carboxílicos perfluoroalquilados (PFCAs), um exemplo é ácido perfluorooctanóico (PFOA) e os ácidos perfluoroalquilados sulfônicos (PFSAs), um exemplo é o ácido perfluorooctano sulfônico (PFOS) (WANG et al., 2017; SOSNOWSKA et al., 2023).

As substâncias polifluoroalquiladas distinguem-se das substâncias perfluoroalquiladas por não serem totalmente fluoradas. São substâncias na qual se referem àquelas para as quais os átomos de hidrogênio ligados a pelo menos um (mas não todos) átomos de carbono foram substituídos por flúor (COUSINS et al., 2020; MIRANDA, 2021). Dentre as substâncias polifluoroalquiladas, os álcoois fluoroteloméricos (FTOHs), ácidos sulfônicos fluortelômeros (FTSAs) e os ácidos carboxílicos fluortelômeros (FTCA) são as mais comumente detectadas no ambiente (WANG et al., 2017).

Essa variedade de PFAS é organizada na forma de um fluxograma que inclui duas classes principais: polímeros e não polímeros, onde cada pode conter muitas subclasses, grupos

e subgrupos, alguns dos quais são mostrados na Figura 1, um resumo simplificado da família de substâncias PFAS.

Figura 1- Resumo simplificado da família de substâncias per e polifluoroalquiladas.



Fonte: Adaptado de *Interstate Technology and Regulatory Council (ITRC, 2022)*.

### 3.1.1. História e produção dos PFAS

Em 1938, Roy J. Plunkett, do Laboratório *Jackson da DuPont Company*, descobriu o politetrafluoretileno (PTFE) um PFAS polimérico, na qual mais tarde foi introduzido sob a marca Teflon® da DuPont em 1949 (OLIVEIRA, 2022). A partir de 1950, muitos produtos foram fabricados com, ou a partir do, PFAS, devido às propriedades físicas e químicas exclusivas dos PFAS (FURTADO, 2020; GLÜGE et al., 2020). Em 1962 a *Food and Drug Administration (FDA)* dos EUA aprovou o produto para uso em utensílios de cozinha, em 1967, o mesmo também aprovou o uso do produto em embalagens de alimentos. Anualmente, são produzidas toneladas de PFAS, entre 1970 e 2002, a 3M foi a principal fabricante de perfluorooctano sulfonil fluorido (POSF), com uma produção global cumulativa total estimada de 96.000 toneladas neste período (LINDSTROM et al., 2011) e PFOA, com uma produção global estimada variando de 3.600 toneladas a 5.700 toneladas (PREVEDOUROS et al., 2006).

Em um inventário sobre os PFAS foram identificadas mais de 4.700 substâncias com números de registro do *Chemical Abstracts Service* (CAS) que poderiam ou podem estar no mercado global (OECD, 2018; COUSINS et al., 2020). Atualmente, após a sua origem, estudos estimam que a família PFAS continuam a crescer e incluem milhares de diferentes produtos químicos sintéticos, podendo variar de 5.000 a 10.000 substâncias químicas (GLÜGE et al., 2020; COUSINS et al., 2020; JIA et al., 2022; SOSNOWSKA et al., 2023).

### 3.1.2. Síntese dos PFAS

Os compostos perfluorados, de modo geral, não se formam espontaneamente na natureza, mas sim produzidos artificialmente pelo homem (LINDSTROM et al., 2011; SILVA, 2017). Os PFAS são compostos sintéticos e podem ser produzidos por meio de dois processos diferentes: fluoração eletroquímica (em inglês, *Electro-Chemical Fluorination - ECF*) e fluorotelomerização (do inglês, *Fluoro telomerization - FTM*), bem como, a partir de reações de degradação que envolve os subprodutos destes dois processos (OLIVEIRA, 2022).

O processo de produção EFC, ocorre por meio de um hidrocarboneto de cadeia linear que reage com HF e sofre eletrólise, na qual favorece uma substituição completa dos átomos de Hidrogênio (H), pelos átomos de Flúor (F). O resultado final é uma mistura complexa com compostos que variam em peso molecular e comprimento da cadeia (compostos lineares e ramificados) tratando-se assim, de um processo que não é eficiente nem seletivo (BUCK et al., 2011; SILVA et al., 2017). O processo ECF foi utilizado pela 3M Company até 2001, a partir de 2011, foi anunciada a eliminação voluntária da sua produção. O segundo processo envolve a FTM, em que é utilizado o iodeto de pentafluoroalquil para reagir com tetrafluoretileno e então produzir uma mistura de iodetos de perfluoroalquil com cadeias mais longas. Através deste processo, é possível obter apenas compostos com cadeias lineares e com elevado grau de pureza (BUCK et al., 2011). O processo de telomerização tem sido utilizado desde a década de 1970 para a produção de fluorotelômeros (FTOHs) que por sua vez se degradam através de mecanismos abióticos e bióticos em PFCAs (SCHWANZ, 2015).

### 3.1.3. Características e propriedades físico-químicas dos PFAS

As informações disponíveis sobre propriedades físicas e químicas variam muito entre os diferentes PFAS. Entretanto, as características destes compostos devem-se principalmente às propriedades únicas da ligação carbono e flúor (FERNANDEZ et al., 2016; SOSNOWSKA

et al., 2023). O flúor é o elemento mais eletronegativo, pequeno se comparado aos demais halogênios e não é muito maior que o hidrogênio. O Flúor com distribuição eletrônica ( $1s^2, 2s^2, 2p^5$ ) tem o menor raio atômico e alta carga nuclear com nove prótons. Assim, a remoção de um elétron de um átomo de flúor para gerar a espécie  $F^+$  é difícil. O átomo de flúor pode, prontamente, aceitar um elétron, que preenche o orbital  $2p$ , resultando em uma carga negativa estabilizada pelo núcleo eletropositivo. Assim, em contraste com os outros halogênios, o flúor caracteriza-se por um único estado de oxidação ( $-1$ ), podendo formar compostos com outros elementos, tanto compartilhando um elétron em ligações covalentes, quanto recebendo um elétron para produzir um íon fluoreto ( $F^-$ ) (BOECHATA et al., 2015). Quando ligado ao carbono, forma ligações fortes, embora altamente polarizada, a ligação C–F ganha estabilidade a partir da atração eletrostática resultante entre os átomos polarizados de  $C^{\delta+}$  e  $F^{\delta-}$ . Essa polaridade suprime a doação de pares solitários de flúor (O’HAGAN, 2008).

Dentre os principais efeitos que a introdução de flúor conferem às moléculas orgânicas são atribuídos as seguintes características: i) alta eletronegatividade do flúor, que resulta em significantes alterações das características eletrônicas do composto, modificando a reatividade dos grupos vizinhos; ii) maior resistência da ligação C-F ( $485 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), quando comparada à de C-H ( $413 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), que resulta em aumento da estabilidade química e térmica da molécula; iii) como o átomo de flúor possui o raio de van der Waals ( $1,35\text{Å}$ ) não muito maior que o hidrogênio ( $1,20\text{Å}$ ), a sua introdução causa pouco impacto estérico, podendo mimetizar o H no sítio ativo; iv) a lipofilicidade dos compostos contendo flúor, comparada a análogos não fluorados é normalmente aumentada, permitindo a sua passagem através das membranas lipídicas; v) elevado potencial de redução do flúor em relação ao eletrodo-padrão de hidrogênio (EPH) ( $F_2 + 2e^- \rightarrow 2F^-$ ,  $E^0 = 3,6V$ ) (BOECHATA et al., 2015; FERNANDEZ et al., 2016; WANG et al., 2017; FURTADO, 2020).

A maioria dos PFAS são sólidos, geralmente cristalinos ou em forma de pó à temperatura ambiente; no entanto, compostos de cadeia mais curta (as formas ácidas de PFCA e PFSA, FTS e FTOH com uma cauda de 4 a 6 carbonos) tendem a assumir a forma líquida à temperatura ambiente (GOMIS et al., 2015; ITRC, 2022). Outra característica observada, são os pontos de fusão e ebulição dos PFAS, pois tendem a aumentar à medida que o comprimento da cadeia fluorada aumenta. Por exemplo, o ponto de fusão do ácido perfluorobutanoico (PFBA) é de  $-17,5^\circ\text{C}$ , enquanto o ponto de fusão do ácido perfluorotetradecanóico (PFTeDA) é de  $130 - 135^\circ\text{C}$  (ITRC, 2022). Neste seguimento, os valores relatados para solubilidade de PFAS individuais podem variar dependendo, da forma do analito (ou seja, ácido ou sal), pH, salinidade e se o valor é empírico ou obtido por meio de modelagem. Em relação à pressão de vapor pode

ser observada em função do aumento do número de átomos de carbono na cadeia principal do PFAS. Por exemplo, ácido perfluoropentanóico (PFPeA) com 5 carbonos, dados experimentais de pressão de vapor apontam um valor de 3.43 Pa, em comparação o ácido perfluorohexanóico (PFHxA) com 6 carbonos a pressão de vapor será de 1.1 Pa (SOSNOWSKA et al., 2023).

Os PFAs são estáveis, térmica e quimicamente, e resistem à degradação e à oxidação. A estabilidade térmica é atribuída principalmente à força da ligação C-F, mas a estabilidade relativa também é determinada pelo grupo funcional específico (ITRC, 2022), que normalmente são os grupos carboxílicos ou sulfônicos, mas outras formas também são notadas no meio ambiente. As temperaturas nas quais os PFAS se decompõem e ocorre a mineralização completa variam. Em um estudo realizado por Watanabe, et al. (2018), relatou que a mineralização limitada de PFOS, PFOA e PFHxA pode ocorrer em temperaturas próximas a 700 °C.

Assim como a estabilidade térmica, o conhecimento da estabilidade química de uma molécula ajuda a prever sua persistência no ambiente. Na cauda perfluorada dos alquilácidos, a força da ligação C-F, a blindagem do carbono pelo flúor e os efeitos indutivos (causados pela eletronegatividade do flúor) também levam à estabilidade química (ITRC, 2022). Por exemplo, espécies químicas ricas em elétrons, chamadas nucleófilos, seriam normalmente atraídas pela carga parcial positiva do carbono. Se esses nucleófilos pudessem se aproximar o suficiente do carbono para se ligar, a reação subsequente poderia substituir um flúor pelo nucleófilo e potencialmente tornar a molécula vulnerável à degradação. Mas o tamanho relativamente grande dos átomos de flúor ao redor do carbono (quando comparado ao hidrogênio) impede que isso aconteça. É por isso que processos como a hidrólise, que envolvem a eliminação de um ou mais flúor, são ineficazes na degradação das caudas perfluoradas dos PFAAs. Da mesma forma, muitos PFAAs são resistentes à degradação por processos oxidativos que dependem da perda de elétrons. Os PFAAs também são resistentes a processos redutivos, que envolvem o ganho de elétrons. Apesar de ter uma alta afinidade por elétrons, o flúor não possui orbitais vagos favoráveis para aceitar elétrons adicionais (PARK et al., 2009).

### **3.1.3.1. Propriedades do Grupo Funcional**

Os grupos funcionais PFAS incluem carboxilatos, sulfonatos, sulfatos, fosfatos, aminas e outros. Esses grupos funcionais, incluindo formas dissociadas e não dissociadas, governam muitas propriedades de destino e transporte do PFAS no meio ambiente. Por exemplo, o estado (ácido aniônico ou não dissociado) de um determinado PFAS pode alterar aspectos como

volatilidade e potencial de bioacumulação. Devido às suas baixas constantes de dissociação ácida ( $K_a$ ), os PFAAs são encontrados no ambiente no estado aniônico (carregado negativamente), exceto em situações muito raras (por exemplo,  $\text{pH} < 3$ ) (ITRC, 2022).

Grupos funcionais de alguns PFAS iônicos podem se dissociar em ânions ou cátions, em solução aquosa sob condições de pH adequadas. O íon associado à porção fluoroalquil do PFAS iônico pode ser um ânion carregado negativamente, um cátion carregado positivamente ou um zwitterion (BARZEN-HANSON, 2017). Portanto, os PFAS podem ser divididos em quatro classificações com base em grupos funcionais: i) Aniônico – contém um ou mais grupos funcionais ácidos, como ácidos carboxílicos, ácidos sulfônicos, sulfatos e fosfatos, e pode liberar um íon de hidrogênio, formando assim um ânion (para a dissociação do PFBA); ii) Catiônico – contém um ou mais grupos funcionais básicos, como aminas, que podem ganhar um íon de hidrogênio e formar um cátion, ou ter uma carga permanente como no caso de um grupo de amônio quaternário; iii) Zwitteriônico – contém dois ou mais grupos funcionais, pelo menos um dos quais pode formar um ânion e um dos quais pode formar um cátion e iv) Não iônico – não se dissocia em íons; por exemplo, álcoois (CHARBONNET et al., 2022).

### **3.1.4. Fontes industriais e aplicação dos PFAS**

Os PFAS representam uma variedade de produtos químicos antropogênicos fluorados desejáveis para uma ampla gama de processos e produtos industriais, devido à alta estabilidade química, térmica, hidrofobicidade e lipofilicidade (FUKUSHIMA, 2021; SOSNOWSKA et al., 2023). Por conta de suas características exclusivas, são compostos extremamente estáveis, que conferem repelência a óleo, água, manchas, sujeira e redução do atrito a diversos produtos (FURTADO, 2020; GLÜGE et al., 2020).

Dentre os principais setores da indústria que utilizam os PFAS, é possível destacar as áreas de aviação e aeroespacial, médica, automotiva, edificação/construção, mineração, eletrônica, fotolitografia/indústria de semicondutores, têxteis, entre outras (BUCK et al., 2011; GLÜGE et al., 2020). Suas aplicações incluem produtos, tais como fabricação de fluoropolímero (HOKE et al., 2016), espumas de extintores de incêndio (WANG et al., 2017, DAUCHY et al., 2019; KIM, et al., 2019; YUKIOKA et al., 2020), formulações de agrotóxicos, surfactantes (MIRANDA, 2021), produtos eletrônicos, dispositivos médicos, equipamentos móveis, bem como em produtos de consumo (como tapetes, roupas, papéis, utensílios de cozinha, embalagens de alimentos, cosméticos), etc. (MORETA; TENA, 2014; LIANG et al., 2022; OLIVEIRA, 2022). Além das categorias de uso identificadas, também incluem muitas

categorias não descritas na literatura científica com frequência, como munições, cordas de escalada, cordas de violão, grama artificial (GLÜGE et al., 2020).

### 3.1.5. Ocorrência dos PFAS em diversas matrizes

Diante ao fato dos PFAS serem composto persistente no ambiente e bioacumuláveis, a sua presença tem sido detectada no ar, em sedimentos, águas superficiais, águas subterrâneas e nos mais diversos organismos, assim como nas mais variadas regiões do planeta (D'AMBRO et al., 2021; KURWADKAR et al., 2022). Estudos demonstram níveis significativos de PFOS no Oceano Pacífico (a cerca de 1000 m de profundidade) e em amostras de sangue e fígado de animais que habitam as regiões árticas, como ursos polares, focas, aves e anfíbios têm sido afetados por este tipo de poluente (SILVA, 2017).

Os PFAS encontrados no ar, como PFOA e PFOS, normalmente se enquadram em uma faixa de cerca de 1 a 20 pg/m<sup>3</sup>, as concentrações de PFAS voláteis, como FTOHs, podem estar na casa das centenas de pg/m<sup>3</sup> no ar externo. Os PFAS também foram observados em ambientes internos através de poeira, em residências, escolas e outros (FROMME et al., 2015). A deposição depende da quantidade de emissões de PFAS, topografia local, tamanho de partículas, padrões climáticos e características de liberação, como altura da chaminé, vazão de efluentes e temperatura do efluente (D'AMBRO et al., 2021).

A ocorrência de PFAS no solo e sedimentos pode resultar de deposição direta (por exemplo, AFFF ou descarga industrial), ou indiretamente através da exposição a meios impactados (por exemplo, deposição atmosférica, lixiviado de aterro, aplicação de biossólidos). Como resultado dessas deposições, o solo e os sedimentos podem atuar como fontes secundárias de PFAS via lixiviação para águas subterrâneas e escoamento para águas superficiais (SILVA, 2019). A concentração e distribuição de PFAS observadas em solos e sedimentos é complexa e pode ser uma função da fonte (direta ou indireta) além das considerações específicas do local e química específica de PFAS (por exemplo, comprimento da cadeia alquila e grupo funcional). Já os PFOS, PFOA e outros PFAAs de cadeia longa são predominantes detectados em solos superficiais e sedimentos (CAI et al., 2022). Neste seguimento em um estudo realizado por Dauchy et al. (2019) sobre a distribuição de PFAS na superfície do solo, observou PFOS, assim como, os ácido fluorotelomer sulfônico 6:2 (6:2 FTSA) e 6:2 fluorotelomer sulfonamida alquilbetaína (6:2 FTAB), em concentrações totais de PFAS (até 357 µg g<sup>-1</sup>).

### 3.1.5.1 Ocorrência dos PFAS em águas

Estudos demonstram a presença de PFAS em vários ambientes aquosos, incluindo água potável, águas superficiais, água da torneira, água engarrafada (BOONE et al. 2019; MIRANDA, 2021; BINGQI et al., 2023); águas subterrâneas (XIA et al., 2015; JIA et al., 2022;), derretimento de neve e oceanos (ZHAO et al., 2012; FILIPOVIC et al., 2015), águas residuais e lixiviados de aterros (DAUCHY et al., 2019; KURWADKAR et al., 2022).

As concentrações de PFAS de água doce, água-marinha e águas pluviais geralmente dependem da proximidade do ponto de liberação e das concentrações da fonte. Além das liberações associadas às fontes identificadas, o escoamento de águas pluviais de fontes não pontuais pode contribuir com cargas significativas de PFAS para as águas superficiais (WILKINSON et al. 2017). Suas concentrações geralmente variaram em picograma (*pg*) a miligrama (*mg*) por litro em amostras de águas (XIA et al., 2015).

Em um estudo recente realizado por Bingqi et al. (2023), os resultados mostraram que as concentrações de PFASs em águas engarrafadas são menores que em águas da torneira, na qual variam em água engarrafada de 6,61 a 9,60 ng L<sup>-1</sup>, já na água da torneira foram encontrados valores próximos a 1.712 ng L<sup>-1</sup>. As principais substâncias observadas em ambas as águas foram PFAS de cadeia ultracurta (C2-C3), representando mais de 50%. Segundo Wilkinson et al. (2016), níveis de PFOA e ácido perfluorononanoico (PFNA), foram encontrados no escoamento da rua em níveis máximos de 1160 ng L<sup>-1</sup>, 647 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente. O escoamento causado pela chuva pode ter efeito nos níveis de PFAS nos rios receptores. Em áreas de treinamento de emergência, envolvendo incêndio/resposta ao incêndio as concentrações de PFOS e PFOA, em águas superficiais, foram observadas na faixa de 8970 ng L<sup>-1</sup> e 3750 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente (ANDERSON et al., 2016). Neste mesmo seguimento, de acordo com Dauchy et al. (2019), as concentrações totais de PFAS em águas subterrâneas foram registradas concentrações que variaram de 300 a 8300 ng L<sup>-1</sup>. O fluorotelomer 6:2 FTAB foi encontrado em 6 poços de monitoramento, sugerindo que este pode atingir o lençol freático 20 m abaixo da superfície do solo. Em outro estudo realizado em áreas remotas como nas Ilhas Faroe e na Suécia foram verificados concentrações de PFOS e PFOA na faixa de 100 pg L<sup>-1</sup>, enquanto as concentrações no Ártico canadense foram medidas até um único ng L<sup>-1</sup> (FILIPOVIC et al., 2015). De acordo com dados publicados por Zhao et al. (2012), referentes a água marinha, a soma das concentrações de PFAA no Atlântico, variaram de 0,077 a 0,98 ng L<sup>-1</sup>, e no mar da Groenlândia de 0,045 a 0,28 ng L<sup>-1</sup>. Ao longo da costa da Antártica a soma de PFAS variou de 0,59 a 15,3 ng L<sup>-1</sup>, e ao longo da costa da América do Sul a soma de PFAA variou de <0,21 a 0,54 ng L<sup>-1</sup>.

O ambiente aquático é uma via de transporte importante para esses compostos, uma vez que a maior parte dos PFAS são persistentes e apresentam baixa volatilidade como característica comum. Quando estes entram em contato com os corpos d'água, seja por fontes diretas (GOBELIUS et al., 2017) ou por meio da degradação de precursores, podem ser transportados por longas distâncias (OLIVEIRA, 2022). Muitos pesquisadores identificaram que os PFASs podem se acumular em organismos aquáticos, através da água por bioconcentração (BABUT et al., 2017), e/ou dieta bioacumulação e ampliar essas concentrações através da biomagnificação em diferentes níveis tróficos (MIRANDA et al., 2021). Esses compostos podem também se espalhar no ambiente marinho através das correntes oceânicas (ZHAO et al., 2012).

### **3.1.6. Aspectos legais dos PFAS**

Com o surgimento de questões relacionadas aos efeitos dos compostos perfluorados, em particular do PFOS e PFOA, no ambiente e na saúde dos seres vivos, o que eventualmente levou a que, no início do ano 2000, um conjunto de países membros da OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) começassem a realizar estudos informais a fim de apurar as consequências da sua utilização. Mais tarde, ainda no ano de 2002, a US EPA (*United States Environmental Protection Agency*) emitiu uma proposta, na qual inseriu o PFOS como substância tóxica a ter em atenção no âmbito da TSCA, (*Toxic Substances Control Act*), e apresentou um conjunto de regras/restrições para o uso de compostos perfluorados (SCHWANZ, 2015; SILVA, 2017). Para abordar a preocupação global relacionada aos POPs, o Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (PNUMA) propôs um tratado mundial para atuar sob os problemas relacionados a esses compostos. Neste tratado, a Convenção de Estocolmo, os países signatários incluindo o Brasil, concordaram em reduzir ou eliminar a produção, uso e/ou liberação. Essa lista é atualizada à medida que novos compostos são avaliados e classificados de acordo com as características dos POPs (MIRANDA, 2021).

Neste contexto histórico em 2009, os compostos denominados (PFAS), foram incluídos na lista dos POPs, pela Convenção de Estocolmo (FURTADO, 2020; SOSNOWSKA et al., 2023). Países como a China, Japão, Austrália e Nova Zelândia também estão seguindo estes exemplos, identificando o PFOS como compostos em situação de atenção e sobre o qual se devem tomar medidas para diminuir as concentrações ambientais destes poluentes (WANG et al., 2018; MIRANDA, 2021).

Nos Estados Unidos, o governo federal estabelece desde 2009 valores recomendados de liberação de 0,4 e 0,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  de PFOA e PFOS, respectivamente. Os governos estaduais dos EUA têm regras específicas e variam de acordo com cada estado. Por exemplo, o estado de Carolina do Norte é o mais permissivo e abrangente, pois estabelece o consumo seguro de no máximo 1,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  de qualquer PFAS. Em New Jersey, o departamento de proteção ambiental, define limites mais rígidos que o departamento de saúde, considerando seguro níveis inferiores a 0,04  $\mu\text{g L}^{-1}$  em água potável (USEPA, 2009).

Na Europa, o EU REACH (acordo de regulamento de produção e o uso de substâncias químicas, em questões de segurança ambiental), defende o uso limitado de PFOA e PFOS (USEPA, 2009). A União Europeia, diante da importância de instrumentos legais para o controle destas substâncias, orienta através de uma diretiva (EU/2020), onde estabelece o valor de 0,1  $\text{mg L}^{-1}$  para soma de PFAS, ou o valor de 0,5  $\text{mg L}^{-1}$  para “PFAS Total”. Já o governo federal da Alemanha recomenda cuidado quanto a concentrações de 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  e define o limite máximo em 0,3  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

O Brasil é um país que apresenta diversos desafios a serem superados, apesar de todas as leis e instâncias regulatórias criadas ao longo da história, a fiscalização dos potenciais poluidores nem sempre satisfazem a total proteção do meio ambiente. O Brasil dispõe da Resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), nº 357 de 17 de março de 2005, que orienta “sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências” (BRASIL, 2005). Neste seguimento tal resolução foi modificada pela Resolução CONAMA nº 430 de 13 de março de 2011, vigente atualmente. O referido documento regulamentário detalha as características de águas doces, salobras, salinas e para diferentes ambientes e finalidades. Ainda, esclarece quais os padrões e condições de qualidade dessas águas, com valores determinados e limites de contaminantes que são permitidos, assim como, as condições e padrões para o lançamento de efluentes tratados. Entretanto, em tais resoluções não são indicados limites máximos permitidos para os PFAS nas diferentes matrizes ambientais.

Por fim, é possível indicar que o Brasil, no que diz respeito a determinações de controle e cuidado em relação aos PFAS, ainda tem muito a superar e se desenvolver diante aos aspectos legais.

### 3.1.7. Exposição humana e efeitos na saúde

A exposição da população aos PFAS ocorre predominantemente por ingestão de água ou de alimentos contaminados, e pode ocorrer em menor escala por contato dérmico e inalação. As crianças estão mais expostas pelas vias de contato dérmico e de ingestão oral, pelo contato com carpetes, estofados e outros objetos tratados com impermeabilizantes, bem como partículas difusas (SILVA, 2017). Conforme Kirk *et al.* (2021), os PFAS podem ser encontrados comumente como misturas e apenas raramente, como contaminantes ambientais individuais, sendo que os efeitos do PFAS nos sistemas biológicos podem ser complexos. Cada PFA pode apresentar determinados alvos moleculares que iniciam eventos bioquímicos desencadeadores de diferentes resultados adversos à saúde humana. A identificação de mecanismos comuns de ação possibilita uma classificação mais específica do alvo biológico de vários PFAS e, assim, pode contribuir nas avaliações de risco para misturas de PFAS (KIRK; et al., 2021). Nesta perspectiva, a literatura destaca os ossos como um dreno preferencial para o ácido perfluorooctanóico, pulmões para o ácido perfluorobutanóico, fígado e cérebro para o ácido perfluorohexanóico (PÉREZ; et al., 2013). Diferentemente de outros POPs, os PFAS não se acumulam nas gorduras, mas se ligam às proteínas do sangue e se acumulam no fígado e na vesícula biliar. São rapidamente absorvidos pelo organismo pela via oral e eliminados lentamente. A maior preocupação para com o PFOS e o PFOA, compostos mais estudados, é sua persistência no organismo; estudos toxicológicos mostram um aumento do fígado como forma do organismo reagir à exposição a altas doses (SILVA, 2017). Quanto ao efeito durante a gestação, embora haja evidências de que ultrapassem a barreira placentária, e de serem encontrados no leite materno, não há estudos acerca do desenvolvimento pós-natal do bebê. Diversos malefícios a saúde já foram relacionados com a contaminação por PFAS, como infertilidade masculina e até mesmo alguns tipos de câncer. Além disso, altos níveis destes compostos já foram encontrados no sangue, tecidos, esperma e leite materno (ZHENG et al., 2021). São também considerados desreguladores endócrinos, ou seja, podem interferir nos hormônios naturais do corpo e na fertilidade; aumentar o colesterol e afetar o sistema imunológico. Causam efeitos no crescimento e desenvolvimento de crianças (tireoide, por exemplo, no caso do PFOS). A Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) classifica o PFOA no Grupo 2B – possível cancerígeno humano, com base em evidências de carcinogenicidade limitadas em seres humanos (câncer de testículo e rins) e cancerígeno em animais de experimentação (CETESB, 2021).

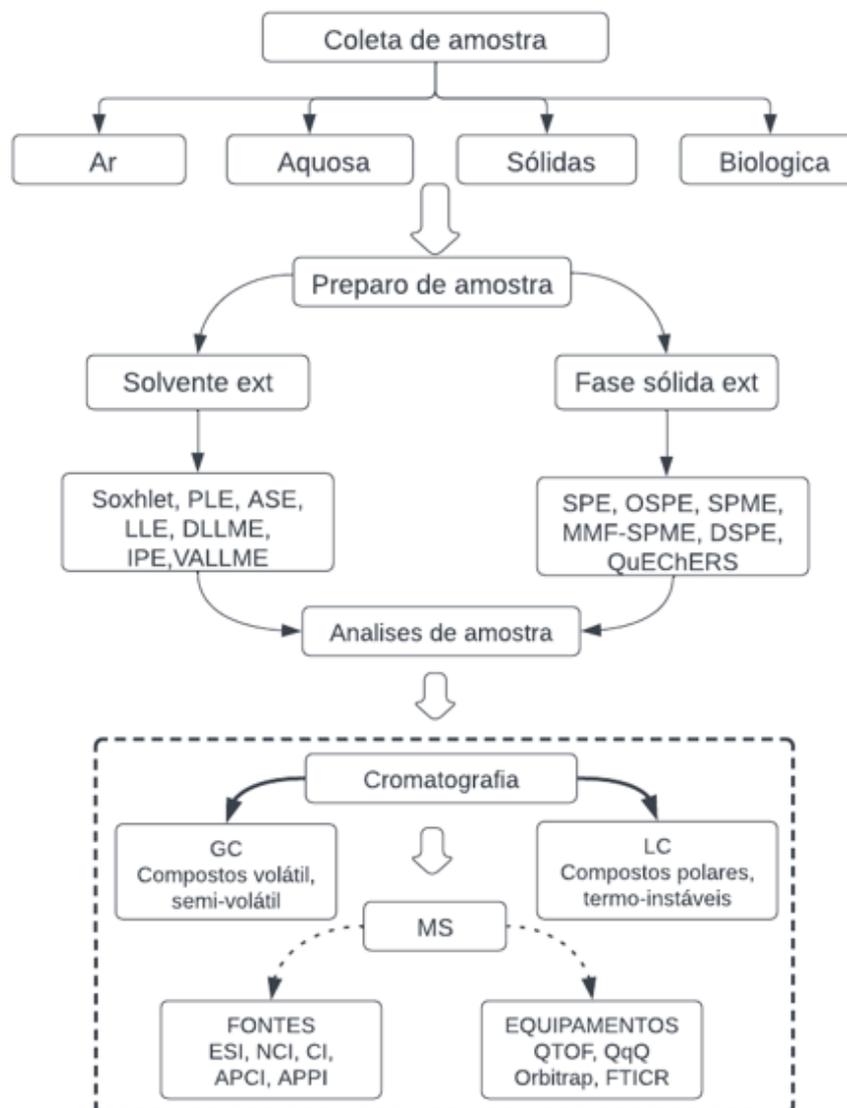
### 3.2. Métodos de análise de PFAS

Os métodos de preparo de amostras podem ter como objetivo isolar uma ou mais substâncias presentes numa mistura complexa e/ou concentrar as amostras para que o analito em estudo possa ser detectado, mesmo estando presente em concentrações vestigiais. O preparo de amostra é uma etapa fundamental para que se tenha sucesso na análise através de uma técnica analítica adequada (SILVA, 2017). Para que as análises dos PFAS, possam alcançar os baixos níveis de concentrações em que esses compostos são encontrados no ambiente aquático, são necessários métodos de alta sensibilidade e seletividade, assim como, uma etapa de extração/pré-concentração (SUN et al., 2017; JIA et al., 2022).

Em razão da complexidade da maioria das amostras, diversas estratégias de identificação de PFAS são necessárias: métodos apropriados de preparo de amostras e métodos qualitativos/quantitativos foram estabelecidos para analisar as classes PFAS em várias matrizes com baixos limites de detecção (YU et al., 2018; HUERTA et al., 2022). Ainda assim, apesar dos avanços, as capacidades de monitoramento e identificação desses compostos ainda são extremamente limitadas e ficam para trás quando comparados ao número crescente de analitos, que ainda permanece desconhecida (JIA et al., 2022). Além disso, a combinação de problemas que são característicos das análises de PFAS, como ocorrência de contaminação cruzada, interferências de matriz e isômeros ramificados, esses inconvenientes tornam a análise de PFCs em matrizes ambientais, uma tarefa desafiadora (SILVA, 2017). Conforme Becker et al. (2021) as técnicas de instrumentação modernas fornecem métodos analíticos altamente sensíveis, seletivos e robustos. No entanto, a grande maioria depende da disponibilidade de padrões analíticos implicando em altos gastos financeiros para aquisição de padrões analíticos.

Os principais métodos analíticos baseados na espectrometria de massa desenvolvidos para a análise de PFAS em diversas matrizes encontram-se descritos na Figura 2.

Figura 2 - Esquema dos procedimentos para análise de per e polifluoroalquiladas.



Fonte: Adaptado de (JIA et al., 2022).

### 3.2.1. Técnicas de preparo de amostra

Os procedimentos de preparo de amostra tornam-se necessários para concentrar analitos de interesse e simultaneamente remover as interferências da matriz. Em geral, é necessário um processo de preparação da amostra antes de análise instrumental (JIA et al., 2022). A técnica de preparo da amostra deve visar obtenção de resultados precisos e exatos, ser de baixo custo, simples e possibilitar automação e miniaturização com o objetivo de reduzir o uso de reagentes e solventes (YU et al., 2018; ZHENG et al., 2021).

Para análise de PFAS em amostras de água, estratégias e abordagens de identificação vem sendo exploradas e estabelecidas, onde vários aspectos de amostragem e pré-tratamento

de amostra devem ser considerados (XIAO et al., 2017). Acidificação de amostras para fins de conservação é desencorajado para evitar a volatilização (LEEUWEN et al., 2007). Além do mais, a filtração de amostras de água é uma questão preocupante para a análise de PFAS, pois a natureza tensoativa dessas substâncias pode resultar em sorção para o material do filtro, assim como, vários filtros são fontes de contaminação por PFOA e perfluorononanoato (PFNA) (JIA et al., 2022). Para amostras de água que apresentam material particulado, é recomendado evitar a filtração como uma etapa de preparação da amostra, e sim centrifugação como uma etapa alternativa de limpeza da amostra (KATO et al., 2022).

Geralmente, os PFAS são encontradas em amostras de água em baixas concentrações ( $\text{pg L}^{-1}$  e  $\text{ng L}^{-1}$ ), exigindo pré-concentração e isolamento destes compostos. Os métodos de preparo de amostra mais empregados para PFAS em matrizes ambientais envolvem as seguintes técnicas: extração líquido-líquido (*LLE*, do inglês *liquid-liquid extraction*), extração em fase sólida (*SPE*, do inglês *solid phase extraction*), microextração em fase sólida (*SPME*, do inglês *solid phase micro extraction*) e dispersão da matriz em fase sólida (*MSPD*, do inglês *matrix solid phase dispersive*) (JIA et al., 2022).

Neste sentido a técnica, *LLE* é o método comumente usado que é aplicado principalmente para extrair PFAS em amostras aquosas, especialmente aquelas com alto teor de matéria em suspensão. PFAS de cadeia curta (não mais do que 6 carbonos) em água podem ser facilmente extraídos usando este método sem filtração prévia e portanto, a perda da amostra é minimizado, no entanto, esta técnica é limitada para PFAS de cadeia longa, com mais de 8 átomos de carbono, a menos que os fatores de extração sejam cuidadosamente otimizados (TAHZIZ et al., 2020). Em complemento ao *LLE*, o método, de microextração Líquido-Líquido Dispersiva (*DLLME*) apresenta-se como uma interessante alternativa para o preparo de amostra e está baseada na partição dos analitos de interesse empregando-se pequenos volumes de uma mistura de solventes (dispersor e extrator). Esta técnica vem sendo aplicada para extrair PFAS de cadeia média e longa de amostras aquosas. As vantagens desta abordagem são o tempo de operação curto, uso reduzido de solvente de extração e recuperação adequada, no entanto, a recuperação relatada de PFAS de cadeia curta por este método é baixa (WANG et al., 2018).

Já a técnica de *SPE* tem se mostrado adequada, pois tal abordagem permite a determinação de PFAS de cadeia curta, média e longa, incluindo os PFOS e PFOA. Esta técnica é a mais utilizada na extração, pré-concentração e *clean up*, em amostras ambientais, devido a sua eficiência para tais finalidades. Suas vantagens incluem a alta seletividade; facilidade de automação; ausência de emulsões; disponibilidade comercial de diferentes sorventes; a passagem de grandes volumes de matriz pelo cartucho, obtendo, assim, maior fator de

concentração dos analitos de interesse; além do menor consumo de solventes orgânicos e, conseqüentemente, volumes reduzidos de resíduos em comparação a outras técnicas (KATO et al., 2022). Como desvantagem da SPE é possível citar o tempo elevado de execução e os altos custos dos cartuchos comerciais disponíveis. Na revisão de 2019, o método ISO 25101, estabelece o uso cartuchos SPE, (Oasis, WAX e C18), para análises de PFAS. Por exemplo, os cartuchos Oasis WAX, são comumente usados para extrair PFAS iônico, como os PFCA, perfluoroalquil sulfônico ácido (PFSA) e diéster de fosfato de fluorotelomer (diPAP). Os cartuchos ISOLUTE® ENV<sup>+</sup> são recomendados para PFAS neutros, enquanto HLB Oasis®, pode ser usado para a coleção de diversos compostos de PFAS (JIA et al., 2022). Além do mais, os cartuchos HLB Oasis®, consiste em copolímeros porosos com capacidade de adsorção simultânea de compostos hidrofílicos e lipofílicos, a fase polimérica presente nesses cartuchos possui maior área superficial que as fases extratoras a base de sílica, portanto, há uma maior chance dos analitos serem retidos. Além disso, são vantajosos porque são estáveis em amplas faixas de pH e podem ser utilizados para compostos ácidos, básicos e neutros (CARDOSO et al., 2020).

### 3.2.2. Análise instrumental

Diferentes metodologias analíticas têm sido reportadas na literatura para a determinação de PFAS em matrizes aquáticas, dentre as diferentes estratégias empregadas na detecção de destes compostos destacam o uso de técnicas de cromatografia a líquido (LC, do inglês *liquid chromatography*) (TAHZIZ et al., 2020; HUERTA et al., 2022; BINGQI et al., 2023), e cromatografia a gás (GC, do inglês *gas chromatography*) (LOOS et al., 2017), para separação dos analitos e detecção por espectrometria de massa. Entretanto, a existência de outros métodos citados, tais como, métodos colorimétricos (LIU et al., 2019; HE et al., 2020), bem como, eletrodos íon seletivo de membrana (HE et al., 2017), impressão molecular na detecção por fluorescência (FENG et al., 2014; OLIVEIRA, 2022), quantum Dots (QDs), conhecidos como pontos quânticos (OLIVEIRA, 2022), eletroquímica (YANG et al., 2018), fotoeletroquímica (THANHTHUY et al., 2014), eletroquimiluminescência (CHEN et al., 2015). De acordo com Oliveira (2022), esses métodos podem necessitar de etapas de pré-processamento complicadas bem como recursos de alto custo, então, seria interessante o desenvolvimento de métodos simples, rápidos, sensíveis e de baixo custo para determinação de PFAS (LOOS et al., 2017).

A análise por GC tem como objetivo analisar os PFAS voláteis, semi-voláteis e neutros, tais como os FTOH e FASE (WU et al., 2021). Geralmente são usadas colunas do tipo DB-

WAX (0,25 mm, 0,25 µm). A determinação dos PFCAs iônicos e os PFASs podem ser realizada por CG, sendo necessário a realização de uma etapa prévia de derivatização, que transformam os ácidos perfluorados em derivados mais voláteis; formando ésteres metílicos, ésteres isobutílicos ou butílicos (JAHNKE et al., 2009). Desta forma, os PFAS não iônicos, como os álcoois fluortelômeros e fluoroalquil sulfonamidas podem ser analisados diretamente por GC devido à sua maior volatilidade. No entanto, para os PFOS, a GC não é a técnica escolhida, devido, principalmente a instabilidade térmica.

A LC é amplamente utilizada na análise PFAS, normalmente aplicada na determinação dos PFAS neutros e iônicos em diferentes matrizes ambientais. As colunas de fase reversa (C18) são comumente usadas para a separação de PFAS com fase móvel composta por água do tipo Milli Q e solventes ACN/MeOH com elevado grau de pureza. Juntamente com estes solventes, são comumente utilizados promotores de ionização como ácido fórmico, hidróxido de amônio ou acetato de amônio (HEYDEBRECK et al., 2016). A fase móvel é, comumente, incorporada, aditivos a fim de melhorar o desempenho cromatográfico. Geralmente usa-se o ácido fórmico, quando as análises são realizadas no modo de ionização positivo, pois possui a acidez e a volatilidade necessária para que seja fornecido um excesso de prótons requerido nesse modo de análise. Já quando as análises são realizadas no modo de ionização negativo, são utilizados sais voláteis como o acetato de amônio e o formiato ou acetato de amônio (BADES, et al., 2016). Normalmente são empregados métodos de separação utilizando o modo gradiente, onde se tem uma porcentagem para a fase móvel que varia ao longo de todo o processo de separação cromatográfica (SILVA, 2017).

Segundo Jia et al. (2022), a LC acoplada a espectrometria de massa, em modo negativo de ionização por *electrospray* (ESI), é o mais usado para a determinação de PFAS iônicos em matrizes ambientais, incluindo PFCAs e PFASs. Conforme Charbonnet et al., (2022) os analisadores de massa mais utilizados para detecção/quantificação dos PFAS são: triplo quadrupolo (QqQ) no modo sequencial, por tempo de voo – TOF (*Time of Flight*, em inglês) e o *ion trap*. Sendo assim, após a separação por LC, sistemas triplo quadrupolo (QqQ) permitem uma excelente quantificação de PFAS com alta sensibilidade. Outra abordagem analítica significativa para PFAS, envolve o uso da espectrometria de massa de alta resolução, onde podemos citar o sistema híbrido QTOF-MS, sistema este, bastante utilizado na detecção e quantificação de PFAS, combinando alta seletividade com alta sensibilidade. Neste contexto, é notável a diversidade de instrumentação e potenciais usos da LC-MS para a análise de amostras ambientais. O analisador tipo QTOF apresentou certas características bastante vantajosas como: exatidão de massa e informações sobre o perfil isotópico. Já os analisadores do tipo QqQ,

apresentam uma alta sensibilidade, porém tem capacidade limitada na identificação de compostos desconhecidos pois apresentam resolução de massa unitária (CHARBONNET et al., 2022; JIA et al., 2022).

Desse modo, a espectrometria de massa de alta resolução (do inglês, *HRMS*) tem desempenho único e configura importante papel na identificação de compostos desconhecidos, na qual permite o registro de cromatogramas no modo de varredura completa (*full-scan*) com alta exatidão em massa, tornando possível a procura seletiva. Os sistemas de ionização mais difundidos na espectrometria de massa são a *ESI* (ionização por eletronebulização), e a ionização química à pressão atmosférica (*APCI*, do inglês *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*). A escolha se dá de acordo com as propriedades físico-químicas dos analitos como a polaridade e acidez (CHARBONNET et al., 2022). Neste sentido o *ESI*, é a configuração de ionização mais usada na análise de compostos com média e alta polaridade, com baixa e elevada massa molecular e com menor estabilidade térmica. (HEYDEBRECK et al., 2016).

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Materiais, método e preparo de amostra**

Os solventes empregados nas análises, foram acetonitrila e metanol (grau LC-MS), ácido fórmico (98%) e a água ultrapura (18,2 M $\Omega$ .cm). A preparação da amostra foi realizada através da extração em fase sólida com a utilização de cartuchos Oasis HLB. Os extratos foram filtrados através de filtros de seringa PVDF de 0,22. A amostragem foi realizada entre 2018 a 2019 e corresponde a 27 amostras, coletadas em três pontos diferentes do Rio Conceição (Rio Grande do Sul, Brasil). Nove amostragens foram realizadas em duas campanhas: i) a primeira campanha, com três amostragens; ii) a segunda campanha, com seis amostragens. A amostra coletada no afluente do rio, protegido por mata ciliar, foi usada como branco. 2 L de amostra foram coletados em garrafas de plástico, a cerca de 30 cm de profundidade e a 1 m da margem do rio. As amostras foram refrigeradas e mantidas a -4 °C até o preparo. Por fim, as etapas e procedimentos de extração em fase sólida (SPE), juntamente com as condições da separação cromatográfica e detalhes instrumentais do sistema UHPL-QTOF MS, encontram-se descritos detalhadamente por Becker, et al (2021).

## 4.2. Análise instrumental: UHPLC-QTOF MS

A análise dos PFAS foi realizada por UHPLC-QTOF MS e baseou-se na metodologia utilizada por Becker, et al (2021). Utilizaram-se neste trabalho, o cromatógrafo a líquido do modelo *Nexera 2* da *Shimadzu* e o espectrômetro de massa de alta resolução com analisador de massa híbrido: quadrupolo e tempo de voo da *Bruker Daltonics*, modelo *Impact II*, disponível no Laboratório de Técnicas Cromatográficas acopladas a espectrometria de massa do IQ-UFRGS.

A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna de separação cromatográfica *Hypersyl GOLD* (100 mm x 2,1 mm x 1,9  $\mu\text{m}$ ). A separação para ambos os métodos de ionização ocorreu com a coluna termostaticada a 35 °C e volume de injeção de 15  $\mu\text{L}$ . A fase móvel foi (A) metanol acidificado com 0,1% (v/v) de ácido fórmico e (B)  $\text{H}_2\text{O}$  acidificada com 0,1% (v/v) de ácido fórmico, a uma taxa de fluxo de 0,3  $\text{mL min}^{-1}$ . O programa de eluição gradiente foi: 0 min, 95% B; 1 minuto, 95% B; 16 min, 5% B; 18 min, 5% B; 20 min, 95% B; 22 min, 95% B. As condições do QTOF foram: para o método do modo de ionização positiva, voltagem capilar, 4000 V; deslocamento da placa final, 500 V; pressão do nebulizador, 4 bar ( $\text{N}_2$ ); gás seco, 9  $\text{L min}^{-1}$  ( $\text{N}_2$ ) e temperatura seca, 200 °C. Para o método do modo de ionização negativa as condições foram: voltagem capilar, 2500 V; deslocamento da placa final, 500 V; pressão do nebulizador, 4 bar ( $\text{N}_2$ ); gás seco, 9  $\text{L min}^{-1}$  ( $\text{N}_2$ ) e temperatura 200 °C. O espectrômetro de massa operou no modo de aquisição *broadband collision induced ionization (bbCID)* e registrou espectros na faixa de razão  $m/z$  de 50 - 1200 a uma taxa de varredura de 2Hz em ambos os modos. As energias de colisão foram de 4 eV para aquisição dos espectros de *MS* e, uma rampa de 4 eV a 50 eV, para obtenção dos espectros de *MS/MS*. Além disso, a calibração do espectrômetro de massa foi realizada a partir da injeção de uma solução de formiato de sódio 10 mM no início de cada corrida cromatográfica.

## 4.3. Elaboração da base de dados

Para a automação da triagem dos compostos perfluorados nas amostras de águas superficiais foi construída uma base de dados para análise qualitativa via triagem de suspeitos. Especialmente para investigar a possível presença dos PFAS nas águas do Rio Conceição. Dessa forma, elaboraram-se duas bases de dados: uma, no modo positivo de ionização e outra no modo negativo. Para que se tenha resultados concisos é indispensável criar uma base de dados com informações relevantes, sendo necessário que esteja o mais completa possível, o que

contribui e facilita na identificação dos compostos presentes nas amostras, desta forma, mais confiável será o processo de triagem. Para que isso ocorra, a base de dados deve conter os compostos de PFAS, combinada com informações, como número CAS (*Chemical Abstracts Services*), massa exata, fórmulas moleculares e perfis de fragmentação dos íons identificados em modo positivo e negativo. Tais parâmetros têm a finalidade de garantir que a identificação dos compostos com alto grau de confiabilidade. Os PFAS e fragmentos foram obtidos através de artigos científicos e bancos de dados gratuitos como *MassBank* e *mzCloud*. Destaque para as listas publicadas pela OCDE e por Liu et al. (2019), com informações abrangentes disponíveis de domínio público. Além de informações como classificação, histórico e produção, aplicação, dados toxicológicos, dados físico-químicos referente aos principais PFAS, mais discutidos na literatura (solubilidade, pressão de vapor, pKa) também foram reunidos nas bases.

As informações devem possuir um conjunto de características que garantam a sua qualidade. Assim, o modelo relacional é definido em uma tabela, onde comportam diversos PFAS, tais compostos estão organizados por ordem numérica crescente e em sequência por ordem alfabética, seguidos por seus respectivos fragmentos. Ao longo de sua extensão a tabela está disposta por colunas onde constam dados relacionados ao CAS, abreviatura, nome indicado pela IUPAC, sinônimos, estruturas, fórmulas e massa do composto referente ao modo de ionização positivo ou negativo. Portanto, a base de dados adota referências de artigos científicos que já identificaram os PFAS em diversas matrizes, além de diversas fontes. Neste sentido, o banco de dados é, basicamente, uma coleção de informações organizadas de modo que possam ser facilmente acessadas, gerenciadas e atualizadas.

#### **4.3.1. Aplicação da base de dados**

As amostras foram analisadas por *UHPLC-QTOF MS*, conforme descrito anteriormente na Seção 4.2 e, com o propósito de identificar o maior número de PFAS possíveis, por meio das informações contidas na base de dados foram produzidos dois métodos, de processamento para análise no *software TargetAnalysis* versão 4.2, um em modo positivo [M+H] e o outro em modo negativo [M-H]. Na qual, identificaram os casos positivos quando um ou mais parâmetros, como íon molecular, massa exata, erro em [ppm], *mSigma* (perfil isotópico) e perfil de fragmentação característico foram encontrados para os compostos em análise. Desta forma, é um recurso que nos permite selecionar os compostos e formar uma base de critérios para (confirmação ou eliminação) para então, serem posteriormente analisados através do *software DataAnalysis* versão 4.2 e classificá-los como possíveis suspeitos. Em um estudo similar

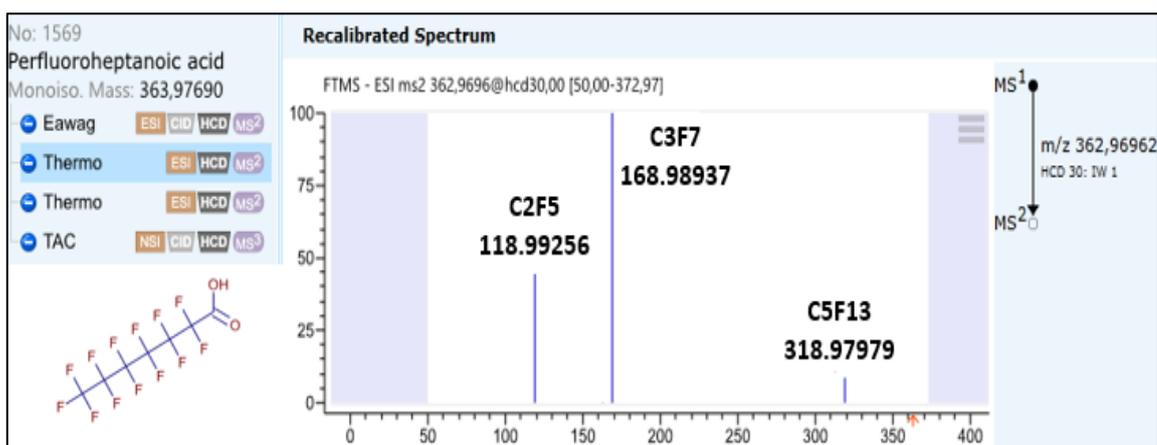
Cardoso *et al.* (2020) empregaram essa abordagem com sucesso, para identificação de fármacos em efluentes hospitalares usando análise de triagem.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Base de dados

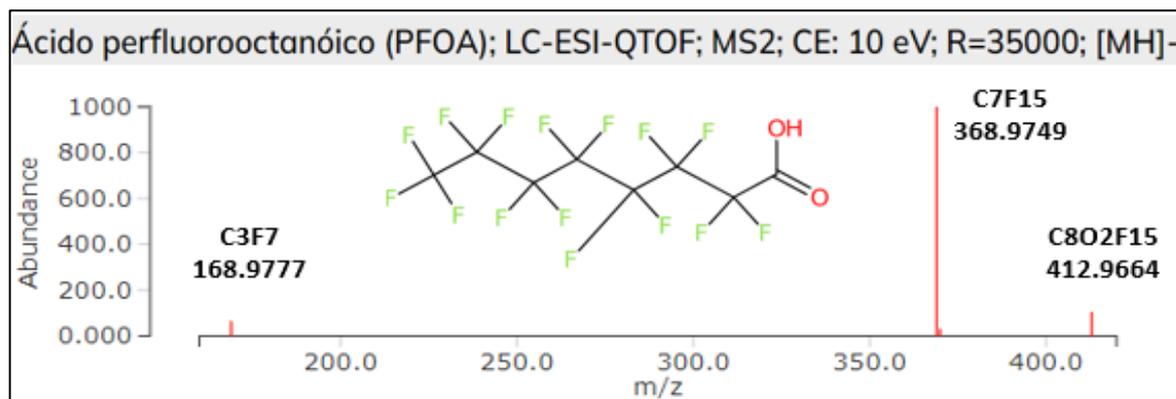
O desenvolvimento da base de dados para análise qualitativa via triagem de suspeitos teve sua elaboração por meio do gerenciamento organizado e sistematizado de informações que foram importadas de outras origens e introduzidas para uma nova tabela. A base de dados tem o propósito de facilitar o processo de triagem e a identificação dos possíveis compostos de PFAS presentes nas amostras de águas superficiais. Desta forma, para cada composto, foram incluídos, quando disponíveis, seus principais fragmentos, buscados em plataformas que contém bancos de dados de espectrometria de massa, de forma gratuita, como *mzCloud*, e *MassBank*, respectivamente, representados nas Figuras 3 e 4. A busca por compostos selecionados por meio da literatura, quando apresentavam apenas a fórmula correspondente aos fragmentos, tais fórmulas foram calculadas por meio do *software compass IsotopePattern*, na qual foi fornecida a massa correspondente a fórmula indicada.

Figura 3 - Espectro de massas, representação dos dados retirados da plataforma *MzCloud*.



Fonte: autoria própria (2023).

Figura 4 - Espectro de massas, representação dos dados retirados da plataforma *MassBank*.



Fonte: autoria própria (2023).

Através dessas informações, duas bases de dados uma, no modo positivo contendo 1769 PFAS, e outra no modo negativo contendo 1960 PFAS, foram produzidas, aprimoradas ao longo deste estudo. Ambas as bases de dados compõem em sua estrutura: i) compostos para os quais os perfis de fragmentação são conhecidos através de artigos científicos e plataformas livres; ii) compostos para os quais apenas a fórmula molecular e a massa exata são conhecidas. Sendo assim, de forma simplificada na Figura 5 encontra-se a representação da base de dados.

Figura 5 - Representação da base de dados PFAS, indicando o composto, CAS, estrutura, modo de ionização, fórmula, perfil de fragmentação e a referência.

Composto	cas	Perfluorobutane sulfonic acid	C4HF9O3S	298.9429	[M-H]-
PFBS	375-73-5		C3HF7	168.9896	mzcloud
			C2HF5	118.9927	mzcloud
			HO3SF	989.557	mzcloud
			HO2SF	829.608	mzcloud
PFPeA	2706-90-3	Perfluoropentanoic acid	C5HO2F9	262.976	[M-H]-
			C4HF9	218.9862	massbank
			C4HF7O	196.9834	massbank
			C3HF3	68.9957	massbank
			CO2HF	62.9887	massbank
FTOHAPs n=3	375-85-9	Perfluorooctyl phosphate	C8H6F13O4P	444.9868	[M+H]+
			H3O4P	98.9842	mzcloud
			HO3P	80,9733	mzcloud
PAs n=4	2 378-02-1	perfluoroalkyl alcohols, n=4	C4HF9O	234,9811	[M-H]-
			C3OF7	184.9843	Liu_etal_2019
			C2OF5	134.9875	Liu_etal_2020
			COF3	84.9907	Liu_etal_2021
			CHF3	68.9957	Liu_etal_2022

Fonte: autoria própria (2023).

Entre os benefícios da criação de uma base de dados, podemos destacar a possibilidade de acessar informações de forma simples e, poder segmentá-las de acordo com estratégias voltadas para a pesquisa. Outro ponto importante é a segurança e precisão da informação. Todavia, por se tratar de um instrumento dinâmico, assim como em qualquer outra área, a base de dados precisa ser constantemente alimentada com novas informações, assim como, a atualização dos dados existentes é fundamental, de forma a compatibilizá-lo às mudanças ocorridas, pois se as informações estiverem desatualizadas ou incorretas, poderá induzir ao erro e a decisões equivocadas.

## 5.2. Métodos para análise das amostras

Conforme descrito anteriormente na Seção 4.3.1, sobre a aplicação da base de dados, cabe destacar a grande relevância dessa etapa para este trabalho. Através desta estratégia simples e econômica, puderam-se ter conhecimento de informações importantes para elaboração dos métodos em modo [M+H] positivo e em modo [M-H] negativo para análise no *software TargetAnalysis*.

Em cada um dos métodos foram incluídos a massa exata, as fórmulas de cada composto e integrando a cada um deles três fragmentos característicos condizentes com a estabilidade e a intensidade do fragmento. Para cada composto, foi atribuído um número sequencial de ordem crescente, para facilitar sua procura durante o processamento, devido ao fato da planilha ser composta por muitas substâncias, assim como, a existência similar entre as fórmulas e os nomes destes. Após sua conclusão, os arquivos foram salvos no formato CVS.

Os parâmetros e valores limites de aceitação foram propostos pela *Bruker Daltonics* conforme o manual de instruções do *software TargetAnalysis*. Esses parâmetros são: massa exata, *mSigma* (perfil isotópico), tempo de retenção e perfil de fragmentação característico. Dentre as configurações do *software TargetAnalysis*, os parâmetros foram ajustados em configurações com intervalo de tempo de retenção geral entre 0,25 a 22 min, sem tolerância, pois é uma triagem sem padrões disponíveis, foram aceitos os picos cromatográficos com no mínimo uma intensidade três vezes maior que o ruído, ou seja, S/N foi 3, o valor limite de *mSigma* foi de 50 e na exatidão de massa aceitou-se um limite de tolerância de 5ppm.

Conforme representado na Figura 6, valores apresentados na cor verde são os casos afirmativos para quando os parâmetros anteriormente estabelecidos são detectados. A partir de um *score*, o *software* sinaliza, com o símbolo positivo (+), com o aumento destes sinais é indicado que mais informações foram identificadas. Devido a indisponibilidade de padrões

analíticos, as informações sobre tempo de retenção não foram incluídas no método, e por este motivo mesmo contendo informações sobre o conhecimento de fragmentos característicos dos compostos, o *software* sinalizou apenas um sinal para todos os compostos.

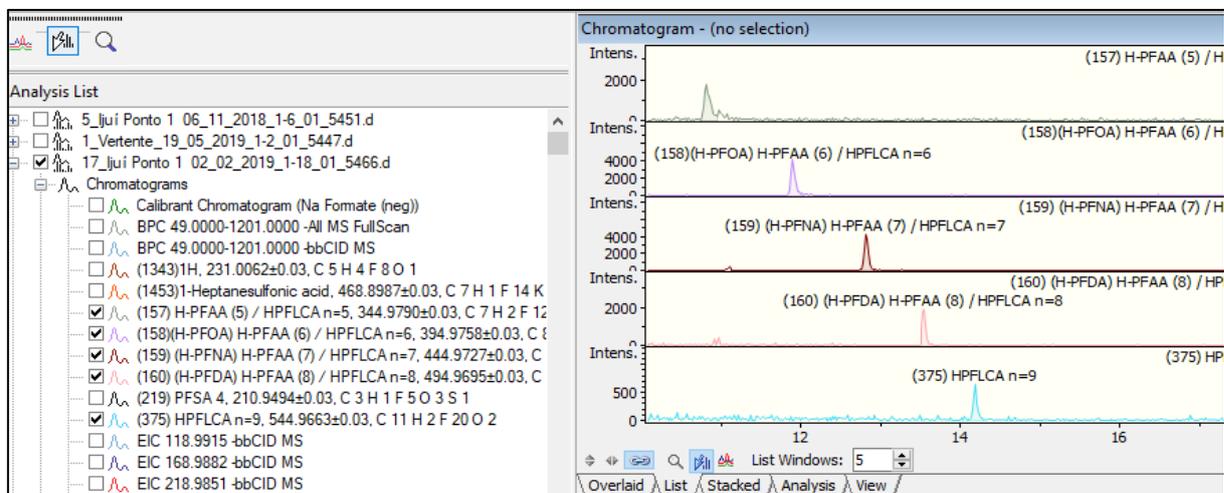
Figura 6 - Modelo de processamento pelo software *TargetAnalysis*.

Score	Cmpd.Name	Formula	PMI	delta...	Err [mDa]	Err [ppm]	mSig...	Area	I	RT me...	RT ...	m/z meas.	m/z calc.
+	(764)qaPFMSd n=5	C 12 H 18 F 11 N 2 O 3 S 1	[M++]+	-11.8	-1.9	-3.9	44.3	8406	1874	11.8	0.0	480.0954	480.0935
+	(1074)4..hexadecafluoro-2-hydroxy-10-(trifl...	C 15 H 9 F 19 O 3	[M++]+	-12.5	-1.4	-2.3	26.6	2836	596	12.5	0.0	599.0335	599.0321
+	(962)dPAs n=4	C 7 H 1 F 13 O 1	[M++]+	-12.6	0.8	2.2	8.3	40143	6958	12.6	0.0	348.9900	348.9893
+	(106) (7:1 PFOS) n:1 PFAS (7)	C 8 H 3 F 15 O 3 S 1	[M++]+	-12.8	0.0	0.0	26.8	10372	1448	12.8	0.0	464.9636	464.9636
+	(565)n:1 FTSA n=7	C 8 H 3 F 15 O 3 S 1	[M++]+	-12.8	0.0	0.0	26.8	10372	1448	12.8	0.0	464.9636	464.9636
+	(1326)None	C 9 F 19 I 1	[M++]+	-14.9	-0.2	-0.3	n.a.	3796	826	14.9	0.0	596.8813	596.8814
+	(1092) [4..hexadecafluoro-2-hydroxy-10-(tri...	C 15 H 15 F 19 I 1 N 1 O 1	[M++]+	-16.4	3.3	4.6	9.2	4981	933	16.4	0.0	713.9935	713.9968
+	(1078)4..icosafuoro-2-hydroxy-12-(trifluoro...	C 14 H 8 F 23 O 5 P 1	[M++]+	-16.4	-2.4	-3.3	12.4	6435	1355	16.4	0.0	724.9839	724.9815
+	(372) 14:2 FTOH)	C 16 H 5 F 29 O 1	[M++]+	-16.6	-1.1	-1.4	n.a.	1633	384	16.6	0.0	764.9961	764.9950
+	(663)EIfpSE	C 11 H 10 F 15 N 1 O 3 S 1	[M++]+	-16.7	2.3	4.3	14.7	11799	2818	16.7	0.0	522.0192	522.0215
+	(1152)3..tetracosafuoro-13-(trifluoromethyl)...	C 19 H 9 F 27 O 2	[M++]+	-16.7	3.4	4.4	20.9	2718	567	16.7	0.0	783.0279	783.0244
+	(24) (PFTeDA) Perfluorotetradecanoic acid	C 14 H 1 F 27 O 2	[M++]+	-16.7	-2.7	-3.8	24.7	2065	407	16.7	0.0	714.9645	714.9618
+	(436) dHOPFLCA n=10	C 15 H 4 F 24 O 3	[M++]+	-17.1	-0.5	-0.8	14.0	11616	2224	17.1	0.0	688.9845	688.9850
+	(417) dPFLCA_5_n	C 14 H 1 F 25 O 2	[M++]+	-17.1	1.9	2.8	n.a.	19250	4193	17.1	0.0	676.9631	676.9650
+	(962)dPAs n=4	C 7 H 1 F 13 O 1	[M++]+	-17.1	-0.3	-0.8	23.0	15460	1515	17.1	0.0	348.9895	348.9893
+	(1001)PFAmCACES n=13	C 13 F 26 N 1 O 2	[M++]+	-17.2	3.3	4.7	12.5	10074	1685	17.2	0.0	696.9620	696.9587
+	(738)Am-CA-PFMSb n=7	C 15 H 17 F 15 N 2 O 4 S 1	[M++]+	-17.2	-1.9	-3.2	44.4	6169	1270	17.2	0.0	607.0723	607.0742
+	(496) mOPFLSA n=6	C 10 H 1 F 21 O 5 S 1	[M++]+	-17.3	2.1	3.3	32.6	7644	1671	17.3	0.0	632.9303	632.9282
+	(962)dPAs n=4	C 7 H 1 F 13 O 1	[M++]+	-17.4	0.2	0.6	14.7	6766	1571	17.4	0.0	348.9895	348.9893

Fonte: autoria própria (2023).

Com base nessa etapa, a confirmação dos compostos deu-se através da verificação de cada composto, através do *software DataAnalysis*, conforme apresentado na Figura 7. A utilização do *software DataAnalysis* é fundamental para a conferência dos resultados. É nesta etapa que se observa a relação entre o formato dos picos e os tempos de retenção entre o pico do íon molecular e seus fragmentos.

Figura 7 -Modelo de processamento através do *software DataAnalysis*.



Fonte: autoria própria (2023).

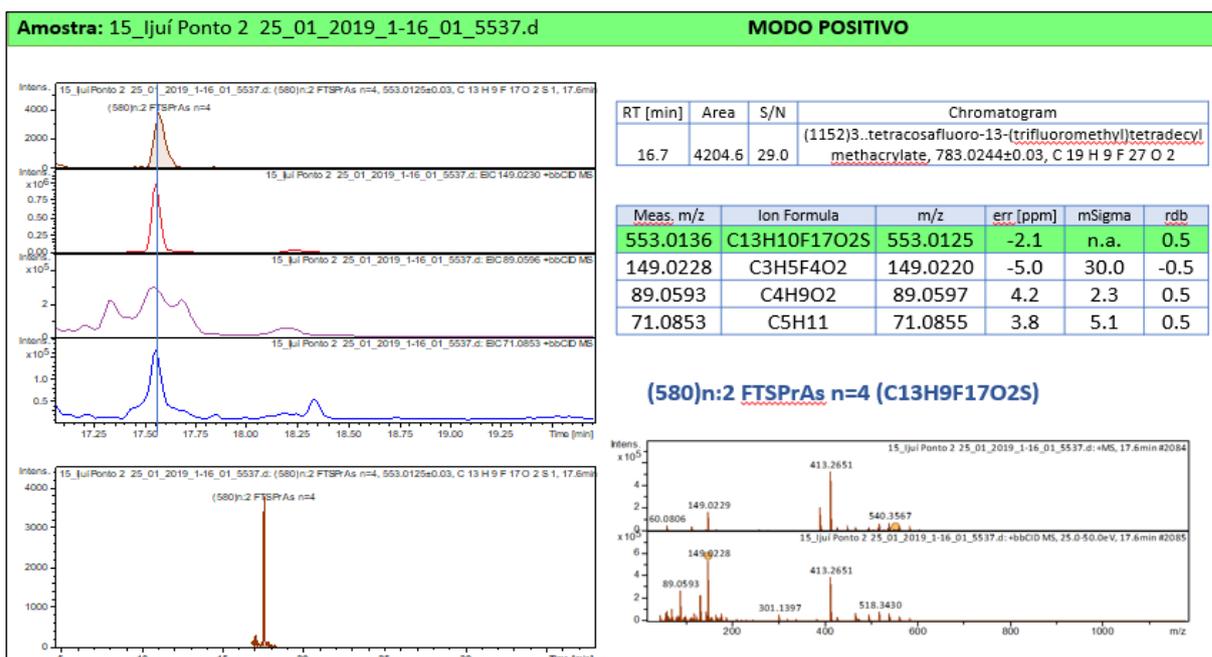
### 5.3. Triagem de PFAS suspeitos

A triagem dos PFAS, ou seja, a busca por estes compostos foi realizada no *software TargetAnalysis* e no *software DataAnalysis*. Através destes *softwares* são gerados cromatogramas dos íons extraídos (EIC, *do inglês extracted ion chromatogram*), por intermédio do uso da fórmula molecular correspondente a cada composto perfluorado, a qual é usada pelo software para calcular a massa exata dos íons nos diferentes modos de ionização sendo eles positivos ou negativos. Para cada amostra analisada, foram observados: massa exata do íon molecular em modo MS que corresponde a baixa energia na célula de colisão, e massa exata dos fragmentos identificados no *bbCID*, estes gerados quando a célula de colisão operou em alta energia, assim como, conferidos o código de registro da amostra, composição elementar, bem como do espectro de massa, área, tempo de retenção em relação as demais amostras, exatidão de massa (erro 5ppm) e *mSigma* para cada um dos íons. Compostos que apresentaram resultados dentro do estabelecido foram identificados como suspeitos.

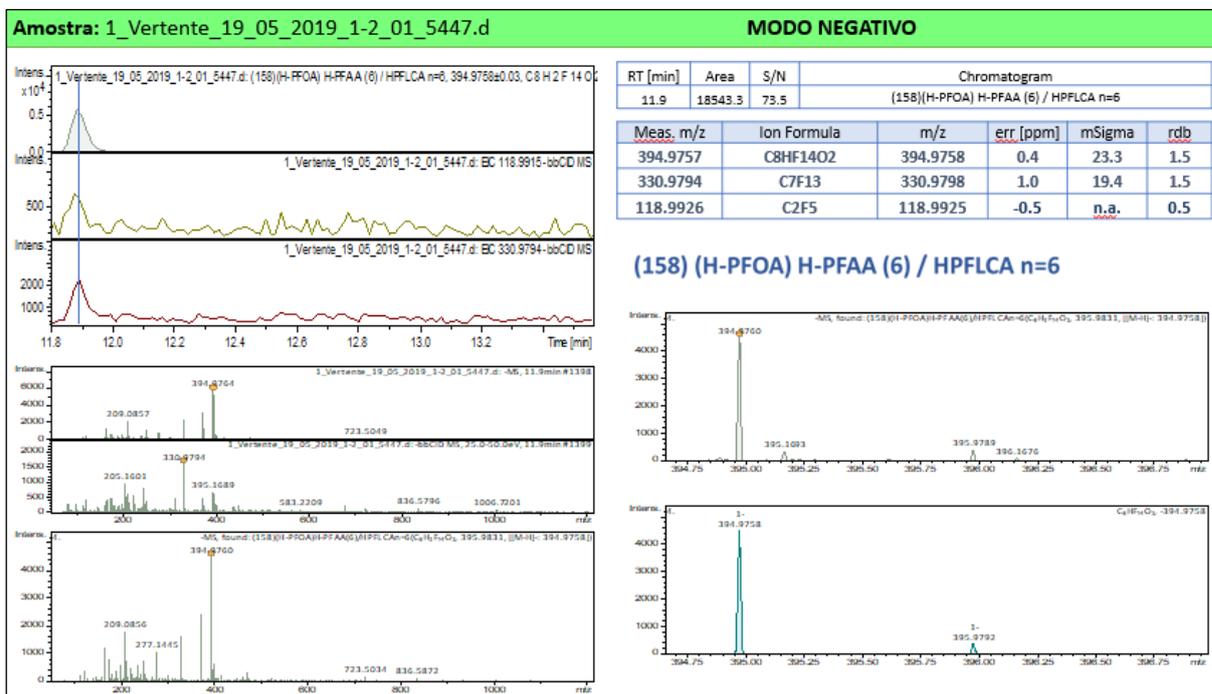
Foram desconsiderados como suspeitos todos os compostos que apresentaram erros na exatidão de massa acima de 5 ppm, diferentes tempos de retenção entre as amostras, fragmentos com erro de massa abaixo de 5 ppm, porém com ausência de sinal entre outros dados observados como critério de avaliação para desclassificá-los. Vale ressaltar que a etapa de processamento de dados é uma das etapas que requer muita atenção e tempo, por se tratar de um processo complexo. É um processo lento, pois, é necessário analisar muitos detalhes e informações, para cada composto detectado.

Sendo assim, através da metodologia proposta e aplicada, onde foram investigados aproximadamente 1500 compostos foi possível observar um total de 43 PFAS suspeitos. Destes, 32 PFAS no modo positivo e 11 no modo negativo. Entre os compostos avaliados, todos foram considerados como suspeitos. Essa definição deve-se ao fato da indisponibilidade de padrões analíticos. Para a confirmação inequívoca deles é necessário a aquisição de padrões analíticos para agregar a informação do tempo de retenção.

Para cada amostra foram produzidos diversos slides correspondentes a cada composto selecionado pelo software, de forma padronizada o que facilita comparar cada dado e posteriormente incluir tais informações na planilha geral com os resultados. Cada slide possui em sua composição, o nome do composto que está sendo analisado, o código de registro da amostra, modo de ionização analisado, assim como os dados já mencionados para a busca do composto, conforme exemplificado nas Figuras 8 e 9.

Figura 8 - Modelo de processamento modo positivo através do *software DataAnalysis*.

Fonte: autoria própria (2023).

Figura 9 -Modelo de processamento modo negativo através do *software DataAnalysis*.

Fonte: autoria própria (2023).

A Tabela 1 resume todos os PFAS encontrados nas 28 amostras de água analisadas, mediante o uso da estratégia citada anteriormente na Seção 5.2. Os compostos foram listados como suspeitos, nos casos em que foram confirmados pela massa exata, apresentando erro menor que 5 ppm, perfil isotópico característico. Dada a estabilidade dessa classe de compostos

os fragmentos característicos não são muito variados, e em muitos casos não há a existência de muitos fragmentos o que dificulta a busca por eles, e por este motivo os compostos foram considerados como suspeitos quando identificados os íons moleculares na faixa de erro estabelecida. O Apêndice A mostra, todos os compostos avaliados para as vinte oito amostras analisadas, detectados no modo de ionização positivo e negativo.

Tabela 1 - PFAS detectados pelo método de triagem por *UHPLC-QTOFMS*.

COMPOSTO - modo de ionização [M+H]		Fórmulas	Massa exata Ion molecular	Erro da MS	Fragmt BD	N° Fragmt BD	Erro do Fragmento	Rt
1	(32) (PFHpS)	C7HO3SF15	✓	3.6	X	0	0	5.2
2	(1001)PFAmCACEs n=13	C13F26O2N	✓	-0.7	X	0	0	17.2
3	(1017)dPFAmCACEs n=6	C14F26O2N	✓	-2.5	X	0	0	17.6
4	(106) (7:1 PFOS) n:1	C8H3O3SF15	✓	-1.7	X	0	0	12.8
5	(1078)4..icosafuoro	C14H8F23O5P	✓	1.0	✓	1	0.0	16.5
6	(1141)2-Propenoic acid	C12H7F15O2	✓	0.8	✓	1	0.9	10.1
7	(1152)3..tetracosafuoro	C19H9F27O2	✓	4.2	✓	2	-4.0 e 1.0	16.7
8	(1182)3...hexadecafluoro	C11H6F19O4P	✓	3.4	✓	1	1.6	9.2
9	(1223)2-Propenoic acid	C14H14F13NO4S	✓	0.2	✓	4	0.6, 0.5, -0.2,-2.2	16.9
10	(1243)3..(trifluoromethyl)	C15H9F19O2	✓	1.2	✓	2	-0.2 e 0.3	18
11	(1291) 8-chlorohexadecafluoro..	C9H4ClF16NO2	✓	2.1	X	0	0	17.5
12	(1320)2H-Pyran, 2..nofluorotetrahydro	C14F28O	✓	-3.6	X	0	0	17.5
13	(1343)1H,1H,5H-perfluoropentanol	C5H4F8O	✓	-1.2	X	0	0	7
14	(1401)Octanoyl fluoride	C9F18O	✓	4.8	X	0	0	17.5
15	(1469)1-Octanesulfonamide	C13H10F17NO2S	✓	1.5	X	0	0	17.5
16	(183) (FPeSAA) FASAA (5)	C7H4O4NSF11	✓	2.2	X	0	0	13.8
17	(204) Ácido Perflúor Dieteroctano	C6HF13O5S	✓	-4.2	X	0	0	3.8
18	(209) Ácido (cloro-hexadecafluoro)	C9HClF18O4S	✓	-2.6	X	0	0	17.5
19	(281) N-HOEAmp- FASAPS (2)	C12H23O6S2N2F5	✓	-1.5	✓	2	2.3, -2.9	12.7
20	(311) N-TAmp-FASA (7)	C13H15O2SN2F15	✓	-4.0	✓	3	-3.8, -2.5, 0.3	17.6
21	(372) 14:2 FTOH)	C16H5F29O	✓	3.9	X	0	0	16.6
22	(4) (6:2 FTS) 6:2 Fluorinated	C8H5F13O3S	✓	3.4	X	0	0	10
23	(417) dPFLCA_5_n, n=6	C14HF25O2	✓	1.1	X	0	0	17.1
24	(435) dHOPFLCA n=9	C14H4F22O3	✓	0.2	X	0	0	12.3
25	(436) dHOPFLCA n=10	C15H4F24O3	✓	-4.2	X	0	0	17.1
26	(496) mOPFLSA n=6	C10HF21O5S	✓	2.7	X	0	0	17.3
27	(505) HOPFLSA n=5	C7H2F14O4S	✓	1.2	X	0	0	18.1
28	(580)n:2 FTSPrAs n=4	C13H9F17O2S	✓	-2.1	✓	3	-5.0, 4.2, 3.8	17.6
29	(663)EtFHpSE	C11H10F15O3NS	✓	4.3	✓	1	3.5	16.7
30	(738)Am-CA-PFSMb n=7	C15H17F15O4N2S	✓	2.0	✓	1	1.4	17.2
31	(962)dPAs n=4	C7HF13O	✓	0.4	X	0	0	12.6
32	(992)PFAmCEs_i, n=3	C13H2F24O5N	✓	-2.1	X	0	0	18.1
COMPOSTO - modo de ionização [M-H]		Fórmulas	Massa exata Ion molecular	Erro da MS	Fragmt BD	N° Fragmt BD	Erro do Fragmento	Rt
1	(157) H-PFAA (5)	C7H2F12O2	✓	0.7	✓	1	4.9	10.8
2	(158) H-PFAA (6)	C8H2F14O2	✓	0.4	✓	1	1.0	11.9
3	(159) H-PFAA (7)	C9H2F16O2	✓	-2.4	✓	2	-0.4 e -0.3	12.8
4	(160) H-PFAA (8)	C10H2F18O2	✓	-0.9	✓	2	1.9 e -5.1	13.5
5	(219) PFSA 4,difluoro-3-(trifluorometil)	C3HF5O3S	✓	-2.4	X	0	0	0.9
6	(375) HPFLCA n=9	C11H2F20O2	✓	-0.5	X	0	0	14.2
7	(1139)6:2 FTMAC	C12H9F13O2	✓	5.0	X	0	0	8.4
8	(1148)3..icosafuoro-(trifluoromethyl)	C17H9F23O2	✓	3.4	✓	1	-5.0	13.8
9	(1233)2-Propenoic acid	C17H12F21NO4S	✓	4.5	X	0	0	11.2
10	(1343)1H,1H,5H-perfluoropentanol	C5H4F8O	✓	-0.8	✓	1	-2.1	7.1
11	(1453)1-Heptanesulfonic acid	C7HF14O3SK	✓	3.4	✓	3	-2.0, -2.6, -1.2	0.8

Fonte: autoria própria (2023).

#### 5.4. Comparação de custos

Tendo em vista, principalmente, o alto custo dos padrões analíticos, as análises de triagem de suspeitos são uma estratégia preliminar eficiente de redução de custos e de otimização de processos de análise. Com o intuito de avaliar de forma comparativa os custos envolvidos no método de triagem considerando apenas os compostos que foram identificados como suspeitos o cálculo de custos levou em conta os valores comerciais dos padrões analíticos destes compostos.

Devido ao elevado número de compostos e da dificuldade de encontrar informações sobre os padrões, se fez uma média para 11 padrões analíticos (R\$ 2.029,45) e multiplicou-se pelos compostos encontrados (43 suspeitos) para se ter ideia do valor gasto utilizando a análise de triagem de suspeitos, resultando em um valor R\$ 87.266,35. Depois, multiplicou-se o valor médio R\$ 2.029,45 por padrão pelo número de compostos avaliados na triagem (1500) para se ter uma ideia do valor necessário no caso de não haver a análise de triagem e se ter a necessidade de comprar todos os padrões analíticos, resultando em um valor R\$ 3.044.175,00. Fica evidente que a proposta de uma análise de triagem é capaz de reduzir, significativamente, os custos.

Os preços dos padrões analíticos referentes aos PFAS, encontram-se dispostos na tabela 2, na qual foram retirados do catálogo da Sigma Aldrich<sup>®</sup>, no dia 23 de março deste ano. Não foram considerados custos de preparo de amostra e depreciação do sistema instrumental.

Tabela 2 - Preços dos padrões analíticos referentes ao PFAS.

Compostos	CAS	Descrição	Valor
Pentadecafluorooctanoic acid solution	335-67-1	1mL	R\$ 1.094,00
1H,1H,2H,2H-Tridecafluorooctane-1-sulphonic acid	27619-97-2	100 mg	R\$ 1.159,00
Perfluorooctanoic acid	206-397-9	25g	R\$ 1.796,00
Heptadecafluorooctanesulfonic acid potassiumsalt	2795-39-3	100 mg	R\$ 2.034,00
Perfluoro-1-Butanesulfonylfluoride	375-72-4	100 g	R\$ 2.808,00
Heptadecafluorooctanesulfonic acid solution	1763-23-1	50 mL	R\$ 3.507,00
Pentadecafluorooctanoic acid ammoniumsalt	3825-26-1	50 g	R\$ 3.666,00
Perfluoropentanoic acid	2706-90-3	25 mL	R\$ 3.687,00
Perfluorobutanoic acid	375-22-4	25g	R\$ 712,00
Perfluorohexanoic acid	307-24-4	25g	R\$ 890,00
Pentadecafluorooctanoic acid	335-67-1	100 mg	R\$ 971,00
<b>Total</b>			R\$ 22.324,00
<b>Média</b>			R\$ 2.029,45

Fonte: autoria própria (2023).

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os PFAS compreendem uma classe única de substâncias com propriedades químicas cujo comportamento ambiental tem recebido muita atenção. No entanto, poucas informações encontram-se disponíveis para permitir um amplo monitoramento desses compostos no ambiente.

Contudo, a partir das informações obtidas ao longo deste estudo foi possível o aprimoramento de uma ampla base de dados especialmente construída para o monitoramento dos PFAS. Tal base de dados foi dividida em duas, uma para o modo de ionização negativo e a outra para o modo de ionização positivo. Através desta estratégia, foi possível observar 43 compostos PFAS todos considerados como suspeitos nas amostras de água superficial. O método desenvolvido permitiu identificar os compostos de cadeias curtas e longas, que em muitos casos está ligada ao tipo de aplicação/origem de cada composto. Infelizmente, os PFAS de cadeia curta também são persistentes e ainda mais solúveis em água e bioacumulativos que os PFAS de cadeia longa. Com base na análise comparativa dos custos o uso da triagem de suspeitos apresentou um custo expressivamente mais reduzido que a estratégia de análises que faz uso de padrões analíticos.

Por fim, este estudo evidenciou a importância e relevância da utilização de métodos de triagem de suspeitos como uma forma de caracterização qualitativa preliminar para amostras de água superficial. Assim, os métodos de triagem são essenciais para um monitoramento preliminar que pode dirigir o desenvolvimento e aplicação, sequencial, de métodos quantitativos de análise.

## REFERÊNCIAS

- 1- ANDERSON, R. H.; LONG, G. C.; PORTER, R.C.; ANDERSON, J.K. Occurrence of select perfluoroalkyl substances at U.S. Air Force aqueous film-forming foam release sites other than fire-training areas: Field-validation of critical fate and transport properties. **Chemosphere**, v.150, p. 678-685, 2016.
- 2- BABUT, M.; LABADIE, P.; SIMONNET, L. C.; MUNOZ, G.; ROGER, M. C.; FERRARI, B.J.D.; BUDZINSKI, H.; SIVADE, E. Per- and poly-fluoroalkyl compounds in freshwater fish from the Rhône River: Influence of fish size, diet, prey contamination and biotransformation. **Sci. Total Environ**, v. 606, p. 38–47, 2017.
- 3- BADE, R. T. D. N. **Advanced analytical tools for the investigation of licit and illicit drug residues in water**. Tese (Doutorado Internacional). Universitat Jaume I, Espanha, 326 f, 2016.
- 4- BARZEN-HANSON, K. A.; ROBERTS, S.C.; CHOYKE, S.; OETJEN, K.; MCALEES. A.; RIDDELL, N.; MCCRINDLE, R.; FERGUSON P. L.; HIGGINS, C. P.; FIELD, J. A. Discovery of 40 Classes of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Historical Aqueous Film-Forming Foams (AFFFs) and AFFF-Impacted Groundwater. **Environ. Sci. Technol**, v. 51 n. 4, p. 2047-2057, 2017.
- 5- BECKER, R. W.; JACHSTET, L. A.; DALLEGRAVE, A.; RUIZ-PADILLO, A.; ZANELLA, R.; SIRTORI, C. Multi-criteria decision-making techniques associated with (Q)SAR risk assessment for ranking surface water microcontaminants identified using LC-QTOF MS. **Sci. Total Environ**, v. 797,149002, 2021.
- 6- BINGQI, D.; JING, W.; YIRU, Z.; FAN W.; YUELING, Z.; XIAONA, Z.; HUI, Z.; LIXIN, Y.; LIN, P. A trace analysis method based on UPLC-MS/MS for the determination of (C2-C18) Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) and its application to tap water and bottled water. **Anal. Chem**, v. 95, n. 2, p. 695-702, 2023.
- 7- BOECHATA, N.; PINTOB, A da C.; BASTOSA, M. M. Métodos seletivos de fluoração de moléculas orgânicas. **Quim. Nova**, v. 38, n. 10, p. 1323-1338, 2015.
- 8- BOONE, J. S.; VIGO, C.; BOONE, T.; BYRNE, C.; FERRARIO, J.; BENSON, R.; DONOHUE, J.; SIMMONS, J.E.; KOLPIN, D.W.; FURLONG, E. T.; GLASSMEYER S. T. Per- and polyfluoroalkyl substances in source and treated drinking waters of the United States. **Sci. Total Environ**, v. 653, p. 359-369, 2019.
- 9- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Resolução CONAMA ° 357, de 17 de março de 2005**. Disponível em: [https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res\\_conama\\_357\\_2005\\_classificacao\\_corpos\\_agua\\_rtfcd\\_a\\_ltrd\\_res\\_393\\_2007\\_397\\_2008\\_410\\_2009\\_430\\_2011.pdf](https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfcd_a_ltrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf). Acesso em: 17 de março. 2023.
- 10- BUCK, R. C.; FRANKLIN, J.; BERGER, U.; CONDER, J. M.; COUSINS, I.T.; VOOGT, P. de JENSEN, A.A.; KANNAN, K.; MABURY, S. A.; LEEUWEN, S.P.V. “Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins. **Integr. Environ. Assess. Manag**, v. 7, n. 4, p. 513-541, 2011.
- 11- CAI, W.; NAVARRO, D. A.; DU, J.; YING, G.; YANG, B.; MCLAUGHLIN, M.J.; KOOKANA, R.S. Increasing ionic strength and valency of cations enhance sorption through hydrophobic interactions of PFAS with soil surfaces. **Sci. Total Environ**, v. 817:152975, 2022.

- 12- CARDOSO, R. M.; DALLEGRAVE, A.; BECKER, R. W.; ARAÚJO, D. S.; SIRTORI, C. Economically feasible strategy for confirmation of pharmaceuticals in hospital effluent using screening analysis. **Anal. Methods**, v. 12, p. 4691-4697, 2020.
- 13- CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Ficha de Informação Toxicológica (FIT): PFAS (PFOA, PFOS, PFOS-F, PFBS e outros)**. 2021. Disponível em: [https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2021/12/PFAS\\_PFOA\\_PFOA\\_POSF\\_PFBS\\_GENX.pdf](https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2021/12/PFAS_PFOA_PFOA_POSF_PFBS_GENX.pdf). Acesso em: 16 mar. 2023.
- 14- CHARBONNET, J. A.; MCDONOUGH, C. A.; XIAO, F.; SCHWICHTENBERG, T.; CAO, D.; KASERZON, S.; THOMAS, K.V.; DEWAPRIYA, P.; PLACE B.J.; SCHYMANSKI E. L.; FIELD, J.A.; HELBLING, D.E.; HIGGINS, C. P. Communicating Confidence of Per- and Polyfluoroalkyl Substance Identification via High-Resolution Mass Spectrometry. **Environ. Sci. Technol. Lett**, v. 9, n. 6, p. 473–481, 2022.
- 15- CHEN, S.H.; LI, A.M.; ZHANG, L.Z.; GONG, J.M. Molecularly imprinted ultrathin graphitic carbon nitride nanosheets based electrochemiluminescence sensing probe for sensitive detection of perfluorooctanoic acid. **Anal Chim Acta**, v. 896, p. 68–77, 2015.
- 16- COUSINS, I.T.; DEWITT, J.C.; GLÜGE, J.; GOLDENMAN, G.; HERZKE, D.; LOHMANN, R.; MILLER, M.; NG, C.A.; SCHERINGER, M.; VIERKE, L.; WANG, Z. Strategies for grouping per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) to protect human and environmental health. **Environ. Sci. Processes**, v. 22, n. 7, p. 1444-1460, 2020.
- 17- D'AMBRO E.L.; PYE, O.T.; BASH, J.O.; BOWYER, J., ALLEN, C.; EFSTATHIOU, C.; GILLIAM, R.C.; REYNOLDS, L.; TALGO, K.; MURPHY, BN. Characterizing the Air Emissions, Transport, and Deposition of Per- and Polyfluoroalkyl Substances from a Fluoropolymer Manufacturing Facility. **Environ Sci Technol**, v. 55, n.2, p. 862-870, 2021.
- 18- DAUCHY, X.; BOITEUX, V.; COLIN, A.; HEMARD, J.; BACH, C.; ROSIN, C.; MUNOZ J. F. Deep seepage of per- and polyfluoroalkyl substances through the soil of a firefighter training site and subsequent groundwater contamination. **Chemosphere**, v. 214, p. 729-737, 2019.
- 19- FENG, H.; WANG, N. Y.; THANHTHUY, T. T.; YUAN, L.J.; LI, J. Z.; CAI, Q.Y. Surface molecular imprinting on dye-(NH<sub>2</sub>)-SiO<sub>2</sub> NPs for specific recognition and direct fluorescent quantification of perfluorooctane sulfonate. **Sensors Actuators B Chem**, v. 195, p.266–273, 2014.
- 20- FERNANDEZ, N. A.; RODRIGUEZ F. L.; KESWANI, M.; SIERRA-ALVAREZ, R. Effect of chemical structure on the sonochemical degradation of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs). **Environ. Sci.: Water Res. Technol**, Cambridge, v. 2, n. 6, p. 975-983, 2016.
- 21- FILIPOVIC, M.; LAUDON, H.; MCLACHLAN, M.S.; BERGER, U. Mass Balance of Perfluorinated Alkyl Acids in a Pristine Boreal Catchment. **Environ. Sci. Technol**, v. 49, n. 20, p. 12127-12135, 2015.
- 22- FROMME, H.; DREYER, A.; DIETRICH, D.; FEMBACHER, L.; LAHRZ, T.; VÖLKEL.W. Neutral polyfluorinated compounds in indoor air in Germany – The LUPE 4 study. **Chemosphere**, v. 139, p. 572-578, 2015.
- 23- FUKUSHIMA, L. M. **Coral-Sol um invasor resistente: Avaliação da toxicidade aguda de contaminantes associados às atividades petrolífera e petroquímica sobre a espécie Tubastraea coccínea**. Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Vicente, p. 53, 2021.

- 24- FURTADO, R. X. de S. **Estudo de degradabilidade do ácido perfluoro-octanossulfônico por fotocatalise e tratamento biológico anaeróbico: otimização, cinética, produtos de degradação e ecotoxicologia.** Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.
- 25- GLÜGE, J.; SCHERINGER, M.; COUSINS, I.T.; DEWITT, J.C.; GOLDENMAN, G.; HERZKE, D.; LOHMANN, R.; NG, C.A.; TRIER, X.; WANG, Z. An overview of the uses of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). **Environ. Sci. Processes Impacts**, v. 22, n. 12, p. 2345-2373, 2020.
- 26- GOBELIUS, L.; LEWIS, J.; AHRENS, L. Plant Uptake of Per- and Polyfluoroalkyl Substances at a Contaminated Fire Training Facility to Evaluate the Phytoremediation Potential of Various Plant Species. **Environ. Sci. Technol**, v.51, p.12602–12610, 2017.
- 27- GOMIS, M. I.; VESTERGREN, R.; BORG, D.; COUSINS I.T. Comparing the toxic potency in vivo of long-chain perfluoroalkyl acids and fluorinated alternatives. **Environ. Int**, v. 113, p. 1-9, 2018.
- 28- HE, N.; PAPP, S.; LINDFORS, T.; HÖFLER, L.; LATONEN, R. M.; GYURCSÁNYI, R. E. Pre-Polarized Hydrophobic Conducting Polymer Solid-Contact Ion-Selective Electrodes with Improved Potential Reproducibility. **Anal. Chem**, v. 4, n. 89, p. 2598–2605, 2017.
- 29- HUERTA, B.; MCHUGHB, B.; REGAN, F. Development and application of an LC-MS method to the determination of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in drinking, sea and surface water samples. **Anal Methods**, v. 14, p. 2090-2099, 2022.
- 30- HOKE, R.A.; FERRELL, B.D.; SLOMAN, T.L.; BUCK, ROBERT C. L. WILLIAM BUXTON. Aquatic Hazard, Bioaccumulation and Screening Risk Assessment for Ammonium 2,3,3,3-tetrafluoro-2-(heptafluoropropoxy)-propanoate. **Chemosphere**, v. 149, p. 336-342, 2016.
- 31- ISO 25101:2009 - **Water quality determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA)** – method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/42742.html>. Acesso em: 23 fev. 2023.
- 32- ITRC - Interstate Technology and Regulatory Council. **PFAS - Per and polyfluoroalkyl substances. (2022)**. Disponível em: <https://pfas-1.itrcweb.org/4-physical-and-chemical-properties/>. Acesso em: 05 de jan. 2023.
- 33- JIA, S.; SANTOS, M. M. Dos; LI, C.; SNYDER, S. A. Recent advances in mass spectrometry analytical techniques for per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). **Anal Bioanal Chem**, v. 414, p. 2795–2807, 2022.
- 34- KATO, K.; KALATHIL, A.A.; PATEL, A.M.; YE, X.; CALAFAT, A. Per- and Polyfluoroalkyl substances and fluorinated alternatives in urine and serum by on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Chemosphere**, v.209, p.338-345. 2018.
- 35- KIM, T.H.; LEE, S.H.; KIM, H. Y.; DOUDRICK, K.; YU, S.; KIM, S. D. Decomposition of perfluorooctane sulfonate (PFOS) using a hybrid process with electron beam and chemical oxidants. **J. Chem. Eng**, v. 361, p. 1363-1370, 2019.
- 36- KIRK, A. B.; CORREA-MICHELSSEN, S.; ROSEN, C.; MARTIN, C. F.; BLUMBERG, B. PFAS and potential adverse effects on bone and adipose tissue through interactions with PPAR $\gamma$ . **J. Endocrinol**, v. 162, n. 12, 2021.
- 37- KURWADKAR, S.; DANE, J.; KANEL, S. R.; NADAGOUDA, M. N.; CAWDREY, R.W.; AMBADE, B.; STRUCKHOFF, G.C.; WILKIN, R. Per- and polyfluoroalkyl substances in water

- and wastewater: A critical review of their global occurrence and distribution. **Sci. Total Environ**, v. 809: 151003, 2022.
- 38- LEEUWEN, S.P.J.; BOER, J.de. Extraction and clean-up strategies for the analysis of poly- and perfluoroalkyl substances in environmental and human matrices. **J Chromatogr A**, 15;1153, 172-85.
- 39- LIANG, L.; PAN, Y.; BIN, L.; LIU, Y.; HUANG, W.; LI, R.; LAI, K. P. Immunotoxicity mechanisms of perfluorinated compounds PFOA and PFOS. **Chemosphere**, v. 291, p. 1-12, 2022.
- 40- LINDSTROM, A. B., STRYNAR, M. J., LIBELO, E. L. Polyfluorinated compounds: Past, present, and future. **Environ. Sci.Technol**, v. 45, n. 19, p. 7954-7961, 2011.
- 41- LIU, J.; DU, J.; SU, Y.; ZHAO, H. A facile solvothermal synthesis of 3D magnetic MoS<sub>2</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposites with enhanced peroxidase-mimicking activity and colorimetric detection of perfluorooctane sulfonate. **Microchem. J**, v. 149, 2019.
- 42- LOOS, R.; TAVAZZI, S.; MARIANI, G.; SUURKUUSK, G.; PARACCHINI, B.; UMLAU, G. Analysis of emerging organic contaminants in water, fish and suspended particulate matter (SPM) in the Joint Danube Survey using solid-phase extraction followed by UHPLC-MS-MS and GC-MS analysis. **Sci. Total Environ**, v. 607-608, p. 1201-1212, 2017.
- 43- MASSBANK. Disponível em: <https://massbank.eu/MassBank/> Acesso em: 08 de set. 2022.
- 44- MIRANDA, D. de A. **Compostos Per-e Polifluoroalquilados em ambientes tropicais: degradação, dispersão e biomagnificação**. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal da Bahia, Bahia, 2021.
- 45- MORETA, C.; TENA, M. T. Determination of perfluorinated alkyl acids in corn, popcorn and popcorn bags before and after cooking by focused ultrasound solid-liquid extraction, liquid chromatography and quadrupole-time of flight mass spectrometry. **J Chromatogr. A**, v. 1355, p. 211-218, 2014.
- 46- MULABAGAL, V; LIU, L; QI, J; WILSON, C; HAYWORTH; J.S. A rapid UHPLC-MS/MS method for simultaneous quantitation of 23 perfluoroalkyl substances (PFAS) in estuarine water. **Talanta**, v. 190, p. 95 -102, 2018.
- 47- MZCLOUD. Disponível em: <https://www.mzcloud.org/>. Acesso em: 12 de out. 2022.
- 48- O'HAGAN, D. Understanding organofluorinated chemistry. An Introduction to C-F. Bonding. **Chem. Soc. Rev**, v. 37, p. 308-319, 2008.
- 49- OECD - Organization for Economic Co-operation and Development. **Towards a new comprehensive global database of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs)**. 2018. Disponível em: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/portal-perfluorinated-chemicals/>. Acesso em: 08 de fev. 2023.
- 50- OLIVEIRA, F. S. M. de. **Desenvolvimento de um método analítico explorando o aumento da fluorescência de quantum Dots de Cdte para determinação do ácido perfluorooctanossulfônico (PFOS) em águas**. Dissertação (Mestre em Química) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.
- 51- PARK, H.; VECITIS, C. D.; CHENG, J.; CHOI, W.; MADER, T. M.; HOFFMANN. R. M. Reductive Defluorination of Aqueous Perfluorinated Alkyl Surfactants: Effects of Ionic Headgroup and Chain Length. **J. Phys. Chem. A**, v.113, n.4, p. 690-696, 2009.

- 52- PÉREZ, F.; NADAL, M.; NAVARRO-ORTEGA, A.; FÀBREGA, F.; DOMINGO, J. L.; BARCELÓ, D.; FARRÉ, M. Accumulation of perfluoroalkyl substances in human tissues. **Environ. Int.**, v. 59, p. 354–362, 2013.
- 53- PREVEDOUROS, K.; PRIMOS, I. T; BUCK, R.C; KORZENIOWSKI, S.H. Sources, Fate and Transport of Perfluorocarboxylates. **Environ. Sci. Technol.**, v. 40, n.1, p. 32-44, 2006.
- 54- SCHWANZ, T. G. **Resíduos de Pesticidas e compostos perfluorados em águas: avaliação da exposição da população através do consumo.** Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2015.
- 55- SILVA, J. F. M. **Determinação de Ácido Perfluorooctanossulfónico (PFOS) na matriz água e biota por UPLC-MS/MS.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Portugal, 2017.
- 56- SILVA, S. C. **Avaliação da Toxicidade de Sete Marcas Comerciais de Espuma Formadora de Filme Aquoso – AFFF ao Ambiente Aquático com Daphnia similis.** Dissertação (mestrado em Sustentabilidade de Ecossistemas Costeiros e Marinhos Universidade Santa Cecília), 2019.
- 57- SOSNOWSKA, A.; BULAWSKA, N.; KOWALSKA, D.; PUZYN, T. Towards higher scientific validity and regulatory acceptance of predictive models for PFAS. **Green Chemistry**, v. 25, n. 4, p. 1261-1275, 2023.
- 58- SUN, T.F.; XIANG, L.; CHEN, L.E.; XIAO, T.; MO, C-H.; LI, Y-W. Research Progresses of Determination of Perfluorinated Compounds in Environmental Water and Solid Samples. **Chinese J Anal Chem**, v. 45, n. 4, p. 601-10, 2017.
- 59- TAHZIZ, A.; HARON, D. E. MO.; AZIZ, M. Y. Liquid Chromatographic Tandem Mass Spectrometric (LC-MS/MS) Determination of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoic Acid (PFOA) in the Yolk of Poultry Eggs in Malaysia. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 2335, 2020.
- 60- THANHTHUY, T.T.; LI, J.Z.; FENG, H.; CAI, J.; YUAN, L.J.; CAI, Q.Y. Molecularly imprinted polymer modified TiO<sub>2</sub> nanotube arrays for photoelectrochemical determination of perfluorooctane sulfonate (PFOS). **Sens. Actuators B Chem**, v.190, p. 745-751, 2014.
- 61- UNIÃO EUROPEIA. **Diretiva 2020/2184 do Parlamento Europeu e do Conselho, relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano, 16 de dezembro de 2020.** Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/HTML/?uri=CELEX:32020L2184&from=m=PT>. Acesso em: 15 de março. 2023.
- 62- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). Provisional Health Advisories for Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). Washington: U.S. Environmental Protection Agency, 2009a.
- 63- WANG, Z.; WITT; J. C.; HIGGINS, C.P.; COUSINS, I.T. A Never-Ending Story of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs)? **Environ. Sci. Technol.**, v. 51, n. 5, p. 2508-2518, 2017.
- 64- WANG, J.; SHI, Y.; CAI, Y. A highly selective dispersive liquid-liquid microextraction approach based on the unique fuorous affinity for the extraction and detection of per- and polyfuoroalkyl substances coupled with high performance liquid chromatography tandem-mass spectrometry. **J Chromatogr A**. v. 1544, p. 1-7, 2018.
- 65- WATANABE, N.; TAKATA, M.; TAKEMINE, S.; YAMAMOTO, K. Thermal mineralization behavior of PFOA, PFHxA, and PFOS during reactivation of granular activated carbon (GAC) in nitrogen atmosphere. **Environ Sci Pollut Res Int**, v. 25, n. 8, p.7200-7205, 2018.

- 66- WASHINGTON, J.W.; RANKIN, K.; LIBELO, E.L; LYNCH, D.G.; CYTERSKI, M. Determining the global bottom soil PFAS loads and the rates of fluorotelomere-based conflict degradation that may account for these loads. **Sci. Total Environ**, v. 651, p. 2444-2449, 2019.
- 67- WILKINSON, J.L.; PETER, S. H.; JULIAN, S.; STEPHEN, BARTON. Spatial distribution of organic contaminants in three rivers of Southern England bound to suspended particulate material and dissolved in water. **Sci. Total Environ**, 593-594:487-497, 2017.
- 68- XIA, X.; DAI, Z.; RABEARISOA, A. H.; ZHAO, P.; JIANG, X. Comparing humic substance and protein compound effects on the bioaccumulation of perfluoroalkyl substances by *Daphnia magna* in water. **Chemosphere**, v.119, p. 978-986, 2015.
- 69- XIAO, F. Emerging poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review of current literature. **Water Res**, v.124, p. 482-495, 2017.
- 70- YU, N.; GUO, H.; YANG, J.; JIN, L.; WANG. X.; SHI, W.; ZHANG, X.; YU, H.; WEI, S. Non-Target and Suspect Screening of Per- and Polyfuoroalkyl Substances in Airborne Particulate Matter in China. **Environ Sci Technol**, v.52, n.15, p. 8205-8214, 2018.
- 71- YUKIOKA, S.; TANAKA, S.; SUZUKI, Y.; FUJII, S.; ECHIGO, S. A new method to search for per-and polyfluoroalkyl substances (PFASs) by linking fragmentation flags with their molecular ions by drift time using ion mobility spectrometry, **Chemosphere**, v. 239, n. 23, p. 1-10, 2020.
- 72- ZHAO, Z.; XIE, Z.; MOLLER, A.; STURM, R.; TANG, J.; ZHANG, G.; EBINGHAUS, R. Distribution and long-range transport of polyfluoroalkyl substances in the Arctic, Atlantic Ocean and Antarctic coast. **Environ. pollution**, v.170, p. 71-77, 2012.
- 73- ZHENG, G.; SCHREDER, E.; DEMPSEY, J.C.; UDING, N.; CHU, V.; SATHYANARAYANA, S.; SALAMOVA, A. Per-and Polyfuoroalkyl Substances (PFAS) in Breast Milk: Concerning Trends for Current Use PFAS. **Environ Sci Technol**, v.55, n.11, p.7510-7520, 2021.

**APÊNDICE A — Resultados PFAS no modo de ionização negativo e positivo**

	COMPOSTO - modo de ionização [M-H]	Ponto 01										Ponto 02										Ponto 03									
		1	2	5	8	11	14	17	20	23	26	3	6	9	12	15	18	21	24	27	4	7	10	13	16	19	22	25	28		
		5447	5448	5451	5455	5459	5462	5466	5469	5473	5477	5448	5451	5455	5459	5462	5466	5469	5473	5477	5448	5451	5455	5459	5462	5466	5469	5473	5477		
1	(157) H-PFAA (5)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
2	(158) H-PFAA (6)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
3	(159) H-PFAA (7)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
4	(160) H-PFAA (8)	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
5	(219) PFSA 4,4-difluoro-3-(trifluorometil)							✓			✓										✓		✓	✓							
6	(375) HPFLCA n=9					✓		✓	✓	✓								✓	✓	✓			✓			✓	✓	✓	✓		
7	(1139)6:2 FTMAC				✓													✓													
8	(1148) 3..icosafluoro-11-(trifluoromethyl)																						✓		✓						
9	(1233) 2-Propenoic acid													✓		✓	✓							✓			✓	✓			
10	(1343)1H,1H,5H-perfluoropentanol								✓				✓						✓					✓	✓				✓		
11	(1453) 1-Heptanesulfonic acid			✓	✓		✓	✓		✓	✓					✓		✓	✓												
		4	4	5	6	5	5	7	5	5	6	6	4	5	5	4	6	7	7	6	4	5	5	6	8	6	5	6	6		

	COMPOSTO - modo de ionização [M+H]	Ponto 01										Ponto 02										Ponto 03									
		1 5521	2 5522	5 5525	8 5529	11 5533	14 5536	17 5540	20 5543	23 5547	26 5551	3 5523	6 5527	9 5530	12 5534	15 5537	18 5541	21 5545	24 5548	27 5552	4 5524	7 5528	10 5531	13 5535	16 5539	19 5542	22 5546	25 5549	28 5553		
1	(32) (PFHpS)		✓						✓		✓																				
2	(1001) PFAmCACEs n=13			✓			✓		✓			✓			✓	✓	✓						✓	✓	✓	✓					
3	(1017) dPFAmCACEs n=6		✓								✓	✓																			
4	(106) (7:1 PFOS) n:1		✓	✓	✓		✓				✓	✓	✓								✓	✓	✓	✓							
5	(1078) 4..icosafuoro	✓	✓		✓	✓		✓		✓		✓		✓			✓														
6	(1141) 2-Propenoic acid				✓				✓				✓			✓															
7	(1152) 3..tetracosafuoro	✓		✓					✓		✓	✓	✓									✓		✓							
8	(1182) 3...hexadecafluoro					✓																				✓					
9	(1223) 2-Propenoic acid				✓						✓										✓										
10	(1243) 3..(trifluoromethyl)						✓				✓											✓		✓	✓						
11	(1291) amonium 8-chlorohexadecafluoro									✓						✓											✓				
12	(1320)2H-Pyran, 2..nofluorotetrahydro	✓										✓																			
13	(1343) 1H,1H,5H-perfluoropentanol		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
14	(1401) Octanoyl fluoride		✓	✓	✓	✓					✓					✓			✓		✓		✓								
15	(1469) 1-Octanesulfonamide		✓	✓		✓						✓	✓		✓								✓	✓	✓				✓		
16	(183) (FPeSAA)			✓	✓		✓	✓		✓				✓	✓	✓	✓					✓	✓			✓		✓			
17	(204) Ácido Perflúor Dieteroctano		✓	✓		✓		✓					✓	✓								✓		✓			✓	✓	✓		
18	(209) Ácido (8-hexadecafluorooctoxi)								✓											✓	✓										
19	(281) N-HOEAmP- FASAPS (2)				✓	✓	✓				✓		✓	✓	✓					✓	✓	✓	✓			✓	✓	✓	✓		
20	(311) N-TAmP-FASA (7)							✓					✓																✓		
21	(372) 14:2 FTOH)	✓												✓					✓			✓		✓							
22	(4) (6:2 FTS)					✓					✓																✓				
23	(417) dPFLCA_5_n, n=6			✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓				✓		✓			
24	(435) dHOPFLCA n=9			✓										✓								✓							✓		
25	(436) dHOPFLCA n=10		✓							✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓		
26	(496) mOPFLSA n=6	✓		✓						✓				✓									✓	✓					✓		
27	(505) HOPFLSA n=5						✓							✓		✓	✓	✓				✓		✓			✓	✓	✓		
28	(580) n:2 FTSPRAs n=4	✓		✓	✓	✓					✓			✓	✓	✓							✓	✓					✓		
29	(663) EtFHpSE			✓	✓	✓	✓							✓		✓					✓		✓	✓	✓	✓					
30	(738) Am-CA-PFSMb n=7		✓		✓											✓										✓		✓			
31	(962) dPAs n=4		✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓		✓	✓			✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
32	(992) PFAmCEs_i, n=3		✓			✓								✓		✓							✓						✓		
		6	12	13	13	13	8	9	9	6	8	16	10	12	7	15	9	9	9	9	7	12	11	13	10	10	8	8	12		