

II-518 - OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE MICROEXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO DISPERSIVA PARA DETERMINAÇÃO DE BISFENOL-A E BISFENOL-S EM EFLUENTES SANITÁRIOS

Marco Tadeu Gomes Vianna

Químico pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Mestre em Engenharia Ambiental pela Faculdade de Engenharia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Doutorando em Engenharia Ambiental FEN/DEAMB/UERJ.

Rodrigo Coutinho⁽¹⁾

Químico pela Universidade do Grande Rio (Unigranrio) e Graduado em Processos Químicos pelo Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ). Mestrando em Engenharia Ambiental pelo PEAMB/UERJ.

André Luís de Sá Salomão

PhD em Environmental Science pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro UERJ e *Linnaeus University* (Suécia). Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente (DESMA), da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Marcia Marques Gomes

PhD em Engenharia Química pelo *Royal Institute of Technology*-KTH, Suécia. Professora Titular em Engenharia Ambiental do Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente (DESMA) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Endereço⁽¹⁾: Rua São Francisco Xavier, 524, Sala 5024F, Maracanã - Rio de Janeiro/RJ – CEP: 20.550-900, Tel: (21) 2334-0959, e-mail: marco.vianna@uerj.br; rodrigo.silva@uerj.br; marciam@uerj.br

RESUMO

A micro-extracção líquido-líquido dispersiva (MELLD) é uma técnica de extração e concentração de compostos-alvo que vem sendo aplicada para análises cromatográficas de compostos orgânicos-alvo em matrizes aquosas de alta complexidade, tais como esgotos. O presente trabalho teve como objetivo a otimização do processo de extração/recuperação do bisfenol A (BPA) e de seu substituto em produtos “BPA free”, o Bisfenol S (BPS) por MELLD utilizando o planejamento experimental. Após a otimização da metodologia da MELLD em duas etapas sucessivas de ensaios com a variação e a fixação das variáveis independentes relevantes, segundo a literatura, foi estabelecido um protocolo que foi aplicado na extração/recuperação do BPA e BPS em 5 amostras de esgoto municipal e condonial bruto e tratado e água superficial da Baía de Guanabara, RJ com características distintas quanto ao teor de carbono orgânico dissolvido e salinidade. A técnica MELLD otimizada possibilitou quantificar 4 das 5 amostras dentro da faixa linear estabelecida, sendo que o BPA e o BPS foram encontrados nas faixas de 0,047 a 0,342 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,011 a 0,382 $\mu\text{g L}^{-1}$ respectivamente. As amostras de esgoto municipal bruto não necessitaram do uso da MELLD devido às altas concentrações encontradas das 2 substâncias, superando inclusive, a faixa de trabalho da curva analítica. Com isso, foram construídas curvas de maiores concentrações e as amostras foram injetadas diretamente no cromatógrafo (após filtração). A associação da metodologia MELLD com a cromatografia de ultra eficiência (UPLC-MS/MS) possibilita maior agilidade analítica, além de reduzir os volumes de solventes e dispensar dispositivos de extração descartáveis de alto custo. Com a otimização da MELLD por meio do desenho experimental aplicado foi possível selecionar as condições que proporcionaram o melhor rendimento, em termos de recuperação, tanto para o BPA (108 %) quanto para BPS (92 %).

PALAVRAS-CHAVE: Micro-extracção líquido-líquido, Bisfenol A, Bisfenol S, Cromatografia Líquida, Desenho Experimental.

INTRODUÇÃO

O grupo de compostos orgânicos denominado de bisfenol é aplicado principalmente na manufatura de produtos plásticos em diferentes setores da indústria (alimentos, construção civil, eletrônica e de dispositivos médicos entre outros), sendo considerado como o grupo de compostos mais utilizados no mundo (VANDENBERG *et al.*, 2007). Tais compostos, assim como outros plastificantes, são cada vez mais detectados nas diferentes

matrizes ambientais e biológicas (CHEN, DA *et al.*, 2016; ROCHA *et al.*, 2016; SUN *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2014). Devido aos comprovados efeitos prejudiciais à saúde humana e aos ecossistemas aquáticos, o bisfenol A (BPA) em particular o mais conhecido e utilizado na manufatura de produtos plásticos - foi enquadrado como substância desreguladora do sistema endócrino (DE) de origem sintética (KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015). Com isso, ao longo da última década, vários países têm adotado restrições e até mesmo o banimento do BPA de seus produtos industrializados, especialmente em produtos para crianças e recém-nascidos. O setor industrial vem buscando novos compostos com propriedades análogas para substituir o BPA. O Bisfenol S (BPS), por exemplo, também apresenta aplicação em diversos produtos industriais, tais como na fabricação do papel térmico muito comercializado como “papel livre de BPA” ou “BPA free” (CLARK, 2000; LIAO; LIU; KANNAN, 2012; ROCHESTER; BOLDEN, 2015). Preocupações ambientais em relação à substituição do BPA têm sido elencadas, pois alguns estudos relatam uma biodegradabilidade mais baixa do BPS em relação ao BPA, aumentando o tempo de permanência desses micropoluentes no ambiente (DANZL *et al.*, 2009; IKE *et al.*, 2006), assim como efeitos de toxicidade e estrogenicidade em ensaios ecotoxicológicos com BPS (CHEN, MIN-YU; IKE; FUJITA, 2002; JI *et al.*, 2013; NADERI; WONG; GHOLAMI, 2014).

A detecção e a quantificação adequadas dos tipos de bisfenol e, em especial, do BPA em matrizes aquosas é uma preocupação justificada pela frequente liberação desses micropoluentes em efluentes das estações de tratamento efluentes domésticos e industriais com tecnologias convencionais de tratamento (FLINT *et al.*, 2012; GUERRA *et al.*, 2015). As concentrações do BPA em esgotos municipais registradas na literatura atingem 12 µg/L (concentração tóxica para algumas espécies aquáticas) (SANTOS *et al.*, 2016). No Japão foram registradas concentrações de até 370 µg/L em águas residuais (FLINT *et al.*, 2012; FUKAZAWA *et al.*, 2002);. O BPS, bem menos estudado do que o BPA, tem sido detectado em águas superficiais e sedimentos nas concentrações de 7,2 µg/L e 1,1 ng/g respectivamente (YAMAZAKI *et al.*, 2015; YANG *et al.*, 2014). O BPA e o BPS são analisados por várias técnicas analíticas, sendo as mais aplicadas, as cromatografias em fase gasosa e em fase líquida com detecção por espectrometria de massas CG-MS e LC-MS/MS. No entanto, devido à baixa concentração desses compostos ($\mu\text{g L}^{-1}$ a ng L^{-1}), há necessidade de preparação da amostra para concentração dos compostos-alvo passível de detecção e quantificação pelos métodos analíticos aplicados. A maior parte dos métodos de análise descritos na literatura utiliza um processo de preparo de amostras em cartuchos de extração em fase sólida (EFS ou SPE em inglês) antes da identificação e quantificação dos analitos pela cromatografia (WANG *et al.*, 2018). Apesar da técnica de preparo de amostra por SPE ser bastante consolidada, sua utilização envolve altos custos analíticos e a necessidade de descarte do cartucho de extração, como resíduo sólido (ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK; GRZEŚKOWIAK, 2011).

A micro-extração líquido-líquido dispersiva (MELLD) é técnica de extração e concentração de compostos-alvo desenvolvida em 2006 (BERIJANI *et al.*, 2006; REZAEI *et al.*, 2006) e mais recentemente vem sendo aplicada no desenvolvimento de metodologias específicas para análise de compostos orgânicos-alvo em matrizes aquosas de alta complexidade, como urina, plasma, efluentes e amostras ambientais (AMIN; EBRAHIM; POURSAFA, 2017; ROCHA *et al.*, 2016; RYU *et al.*, 2012; VAGHAR-LAHIJANI *et al.*, 2018; VELA-SORIA *et al.*, 2014). Essa técnica vem se mostrando como uma alternativa em potencial para a extração de compostos orgânicos em esgotos sanitários.

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo a otimização do processo de extração/recuperação do bisfenol A e bisfenol S por micro-extração líquido-líquido dispersiva (MELLD) utilizando uma abordagem estatística de planejamento experimental como ferramenta de avaliação de um conjunto de variáveis consideradas relevantes segundo a literatura. Assim como a aplicação da MELLD na extração/recuperação destes compostos em 5 matrizes aquosas complexas.

METODOLOGIA

Analitos: Os padrões analíticos bisfenol A (98,7%, CAS 80-05-7), bisfenol S (98,0%, CAS 80-09-1) e bisfenol A d₁₆ (100,0%, CAS 96210-87-6) foram fornecidos pela da Sigma-Aldrich, assim como os solventes utilizados

na extração. As soluções estoque (1000 mg L⁻¹) foram preparadas individualmente com dissolução em metanol e armazenadas a 10°C.

Amostras reais: Foram coletadas amostras de cinco matrizes distintas: esgoto bruto (MB) e tratado (MT) de uma ETE municipal, com tratamento preliminar, primário e secundário; esgoto bruto (CB) e tratado (CT) de uma ETE condominial, com sistema de tratamento preliminar e primário, localizada na Zona Oeste do Estado do Rio de Janeiro; e água superficial do ponto (-22809317, -43177559) da Baía de Guanabara/RJ (BG). O procedimento de coleta e a armazenagem das amostras para posterior análise seguiram o Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (CETESB - ANA, 2011). As amostras foram filtradas em membrana de fibra de vidro (0,2 – 0,6 µm). O padrão interno (PI) BPA d₁₆ foi adicionado em todas as amostras a fim de amenizar os efeitos de supressão iônica ou aumento superestimado de sinal.

Técnica de MELLD: Foi realizada através da aplicação de volumes definidos da mistura dos solventes de extração e dispersão em uma pequena quantidade de amostra (5-10 mL). Após a formação da dispersão, os analitos foram rapidamente extraídos. A separação do solvente extrator contendo os analitos foi realizada por centrifugação e removida com o auxílio de uma micropipeta. A secagem do extrato foi realizada em fluxo lento de nitrogênio gasoso. A reconstituição foi realizada com 200 µL de Metanol:Água, mesma solução da fase móvel aplicada no método cromatográfico, para posterior injeção no cromatógrafo.

Desenho experimental: As Tabelas 1 e 2 apresentam o desenho experimental em etapas.

Tabela 1: Primeira matriz (condição de otimização 1) Plackett-Burman decodificada nas condições de ensaio para otimização da recuperação dos analitos na micro-extração líquido-líquido dispersiva.

Ensaio	SD	SE	VSD (µL)	VSE (µL)	VA (mL)	pH	AS (%)	TM (s)	Sonic (s)	BG (min)
1	Acetonitrila	Clorofórmio	200	200	10	4	0	30	60	0
2	Acetonitrila	Diclorometano	200	200	5	11	0	0	60	05:00
3	Acetonitrila	Diclorometano	1000	200	5	4	10	0	0	05:00
4	Acetonitrila	Diclorometano	1000	1000	5	4	0	30	0	0
5	Acetona	Diclorometano	1000	1000	10	4	0	0	60	0
6	Acetonitrila	Clorofórmio	1000	1000	10	11	0	0	0	05:00
7	Acetona	Diclorometano	200	1000	10	11	10	0	0	0
8	Acetonitrila	Clorofórmio	1000	200	10	11	10	30	0	0
9	Acetonitrila	Diclorometano	200	1000	5	11	10	30	60	0
10	Acetona	Diclorometano	1000	200	10	4	10	30	60	05:00
11	Acetona	Clorofórmio	1000	1000	5	11	0	30	60	05:00
12	Acetonitrila	Clorofórmio	200	1000	10	4	10	0	60	05:00
13	Acetona	Diclorometano	200	200	10	11	0	30	0	05:00
14	Acetona	Clorofórmio	1000	200	5	11	10	0	60	0
15	Acetona	Clorofórmio	200	1000	5	4	10	30	0	05:00
16	Acetona	Clorofórmio	200	200	5	4	0	0	0	0
17	1:1 ^(a)	1:1 ^(b)	600	600	7,5	7,5	5	15	30	02:30
18	1:1 ^(a)	1:1 ^(b)	600	600	7,5	7,5	5	15	30	02:30
19	1:1 ^(a)	1:1 ^(b)	600	600	7,5	7,5	5	15	30	02:30

SD=Solvente dispersivo; SE=Solvente extrator; VSD=Volume de solvente dispersivo VSE=Volume de solvente extrator; VA=Volume da amostra; AS=Adição de sal; TM=Tempo de mistura; Sonic=Sonicação; BG=Banho de Gelo;

^(a)Acetonitrila:Acetona (1:1); ^(b)Clorofórmio:Diclorometano (1:1).

Tabela 2: Segunda matriz (condição de otimização 2) Plackett-Burman decodificada nas condições de ensaio para otimização da recuperação dos analitos na MELLD com 5 variáveis independentes com níveis fixados e 5 variáveis independentes testadas em diferentes níveis.

Ensaio	SD	SE	pH	AS (%)	TM (s)
1	Acetonitrila	Clorofórmio	4	0	30
2	Acetonitrila	Diclorometano	2	10	30
3	Metanol	Diclorometano	4	0	60
4	Acetonitrila	Clorofórmio	4	10	30
5	Acetonitrila	Diclorometano	2	10	60
6	Acetonitrila	Diclorometano	4	0	60
7	Metanol	Diclorometano	4	10	30
8	Metanol	Clorofórmio	4	10	60
9	Metanol	Clorofórmio	2	10	60
10	Acetonitrila	Clorofórmio	2	0	60
11	Metanol	Diclorometano	2	0	30
12	Metanol	Clorofórmio	2	0	30
13	1:1 ^(a)	1:1 ^(b)	3	5	45
14	1:1 ^(a)	1:1 ^(b)	3	5	45
15	1:1 ^(a)	1:1 ^(b)	3	5	45
16	1:1 ^(a)	1:1 ^(b)	3	5	45

SD=Solvente dispersivo; SE=Solvente extrator; AS=Adição de sal; TM=Tempo de mistura; ^(a)Acetonitrila:Acetona (1:1); ^(b)Clorofórmio:Diclorometano (1:1).

A avaliação e seleção das variáveis e condições consideradas relevantes para otimização da MELLD foram realizadas a partir da construção de duas matrizes sucessivas de Plackett-Burman (PB). As matrizes foram construídas e analisadas utilizando-se o software Statsoft Statistica 8.0. A primeira matriz (PB1) foi construída utilizando 10 variáveis independentes e relevantes para a otimização do processo, resultando em 19 ensaios, com triplicata nos pontos centrais (Tabela 1). As seguintes variáveis independentes foram incluídas com níveis máximo e mínimo obtidos da revisão bibliográfica na literatura especializada: solvente extrator (SE); solvente dispersivo (SD); volume do solvente extrator (VSE); volume do solvente dispersivo (VSD); volume da amostra (VA); pH; adição de sal (AS); tempo de mistura (TM); sonicação (SONIC) e; banho de gelo (BG) (Tabela 1). A segunda matriz (PB2) foi elaborada a partir dos resultados da primeira matriz. Nesta segunda, algumas as variáveis independentes de maior relevância foram fixadas em suas melhores respostas (condições que propiciaram uma melhor recuperação do analito de interesse) e foram escolhidos níveis a serem testados para as variáveis de menor relevância (Tabela 2). As variáveis de menor relevância foram avaliadas com o intuito de refinar a otimização das respostas de recuperação, nas condições preditas pela primeira matriz.

As condições de centrifugação (4000 rpm, 20°C, 15 min – centrífuga Eppendorf 5810R) e a utilização de tubo de ensaio de vidro no formato cônico foram fixadas e mantidas constantes em todo experimento (matrizes 1 e 2) para realização da extração. A solução utilizada nos ensaios nas matrizes 1 e 2 foi constituída com a mistura dos 3 compostos (BPA, BPS e BPA d₁₆) em iguais proporções (1:1:1) na concentração de 25 µg L⁻¹. As respostas de recuperação foram obtidas por meio da comparação das áreas cromatográficas.

Análise cromatográfica e físico-química: Os analitos foram identificados e quantificados por cromatografia em fase líquida de ultra eficiência, sistema Waters ACQUITY®, acoplado ao espectrômetro de massas tipo *in tandem*, Xevo TQD®, triplo quadrupolo (UPLC-MS/MS Waters) do laboratório LABIFI da UERJ. Foi utilizada a coluna AQUITY UPLC® BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 50 mm (Waters) a 50 °C, com fluxo de 0,4 mL min⁻¹ e com as fases móveis A=água e B=metanol, ambas com 0,01 % hidróxido de amônio. O volume de injeção foi de 5 µL e o tempo de corrida de 8 min, em modo gradiente, com condição inicial de 90 % da fase A até 4 min, em seguida, sendo reduzida para 1 % desta fase até 5 min e finalmente, retornando e mantendo-se no estado inicial até o final da corrida. O detector de massas com fonte de electrospray (ESI) foi operado em modo negativo com monitoramento de reações múltiplas (MRM). A voltagem capilar foi de -3,2 kV. A temperatura da fonte e de dessolvatação serão de 150 °C e 600 °C, respectivamente. N₂ será usado como gás de cone e de dessolvatação (150 e 1100 L/h, respectivamente). O Argônio foi usado como gás de colisão no detector MS/MS (0,15mL min⁻¹). Para cada analito, duas transições (confirmação e quantificação) foram utilizadas para identificação, de acordo com uma voltagem de cone e energia de colisão otimizadas para

máxima intensidade. Os parâmetros do detector são listados na Tabela 3. Os dados foram processados pelo Mass Lynx v4.1 (Waters).

O carbono orgânico dissolvido (COD) foi quantificado por meio do analisador de carbono orgânico total (Shimadzu, Modelo TOC-V CPN) onde a porção filtrada das amostras foi utilizada para análise. A salinidade foi medida com o auxílio de refratômetro portátil (Nova Instruments, Modelo REF 211).

Tabela 3: Parâmetros otimizados do detector MS/MS (Waters) para compostos BPA, BPS e BPA d₁₆.

Composto	Modo de Ionização (ESI ^(b))	Precursor (m/z)	Quantificação			Confirmação		
			Produto (m/z)	EC ^(a) (V)	Cone (V)	Produto (m/z)	EC (V)	Cone (V)
BPA	(-)	227.0	212.0	18	45	133.0	25	45
BPS	(-)	249.0	108.0	25	35	159.0	25	35
BPA d₁₆	(-)	241.3	223.3	19	45	142.3	25	45

^(a)EC: Energia de colisão; ^(b)ESI: Ionização por electrospray.

Validação do método: A metodologia de análise cromatográfica em fase líquida foi validada utilizando os parâmetros de linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), exatidão (recuperação – REC%), precisão (desvio padrão relativo - DPR%) e efeito de matriz (ICH, 2005). As curvas de calibração foram construídas por regressão linear da razão entre a área de cada substância com seu PI e a concentração do analito, utilizando Metanol: H₂O como solvente. A recuperação (REC%) e o efeito de matriz (EM%) foram avaliados por meio de três conjuntos de amostras (Equação 1 e 2), um consistindo de padrões puros (C1), um preparado em uma matriz em branco (fontes diferentes de esgoto) extraído e fortificado após a extração (C2) e o outro enriquecido antes da extração (C3) (B. K. MATUSZEWSKI; M. L. CONSTANZER; CHAVEZ-ENG, 2003).

$$\text{REC\%} = (\text{Área C3} / \text{Área C2}) \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

$$\text{EM\%} = (\text{Área C2} / \text{Área C1}) \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desenho experimental PB1: Os resultados de recuperação dos analitos nas condições preditas na primeira matriz Plackett-Burman – condição 1 foram apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4: Recuperação do BPA, BPS e BPA d₁₆ obtidos na primeira Matriz Plackett-Burman (PB1) – Condição de otimização 1. Em negrito ensaio com o melhor resultado de recuperação dos 3 compostos.

Ensaios	Recuperação BPA (%)	Recuperação d16 (%)	BPA (%)	Recuperação BPS (%)
1	33,4	36,1	0,98	
2	8,8	9	0	
3	30,9	36,3	0	
4	99,53	110,6	63,3	
5	26,22	29,9	19,7	
6	18,3	20,2	0	
7	9,7	11,5	0	
8	68,35	75,9	0	
9	82,15	91,2	0	
10	55,5	62,7	8,02	
11	90,82	101,1	0,1	
12	15,9	18,1	0,8	
13	8,52	9,1	0,1	
14	25,9	28,4	0	
15	91,9	81,1	22,7	
16	9,7	11	5,47	
17	34,7	39,1	6,3	
18	39,6	44,5	4,6	
19	56,4	53,2	5,3	

Dessa forma verificou-se recuperação otimizada na condição 4: Solvente Extrator (SE): Diclorometano; Solvente Dispersivo (SD): Acetonitrila; Volume do Solvente Extrator (VSE): 1000 µL; Volume do Solvente Dispersivo (VSD): 1000 µL; Volume da Amostra (VA): 5 mL; pH: 4; Sem adição de sal (AS); tempo de mistura (TM): 30 segundos; sem sonificação (SONIC) e sem banho de gelo (BG); onde foram encontrados 99,53% de recuperação para o analito Bisfenol A, 110% de recuperação para o analito Bisfenol D16, 63,3% de Recuperação para o Bisfenol S, que são condições excelentes de recuperação para o Bisfenol A e Bisfenol A d16, onde as recuperações já alcançam os níveis exigidos pelas agências de controle para as recuperações de analitos-alvo (70 - 120%)(AOAC, 2011; EPA, 1992; INMETRO, 2007). Os principais resultados dos efeitos primários das variáveis nas respectivas recuperações foram apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Efeitos principais no nível de recuperação dos analitos-alvo na MELLD – Condições de Otimização 1 (PB1).

Analito	Variável	Efeito	Erro Padrão	t calculado	p-valor
BPA	Média	42,22	2,39	17,63	4,65E-07
	VSD	19,43	4,78	4,05	0,00483
	VSE	24,18	4,78	5,04	0,00148
	VA	-25,47	4,78	-5,31	0,00115
	TM	48,09	4,78	10,04	2,08268E-05
BPA d₁₆	Média	39,35	2,24	17,51	4,87E-07
	SD	8,93	4,49	1,98	0,08723
	VSD	20,59	4,49	4,58	0,002537
	VSE	22,92	4,49	5,10	0,001396
	VA	-24,91	4,49	-5,54	0,000864
	TM	45,14	4,49	10,04	2,074E-05
BPS	Média	7,57	2,95	2,56	0,037489
	VSE	11,50	5,91	1,94	0,092743
	pH	-15,09	5,91	-2,55	0,037914

SD=Solvente dispersivo; SE=Solvente extrator; AS=Adição de sal; TM=Tempo de mistura.

Interpretação das condições de ensaio para o Bisfenol A: Quanto maior o volume de solvente dispersor (VSD), melhor a recuperação, ou seja, na condição de 1000 µL foram obtidos os melhores resultados em comparação como os de 200 µL; Quanto maior o volume de solvente extrator (VSE), melhor foi a recuperação, ou seja, na

condição de 1000 µL foram verificados os melhores resultados comparando com os de 200 µL; Quanto menor o volume da amostra, melhor a recuperação, ou seja, a condição de 5 mL foi melhor do que a de 10 mL; Quanto maior o tempo de mistura, melhor a recuperação, ou seja, misturar a amostra por 30 segundos tem efeito superior para a recuperação do que a não mistura da amostra. As demais variáveis não apresentaram influência significativa nos resultados em um nível de confiança de 95%.

Interpretação das condições de ensaio para o Bisfenol A d16: O solvente dispersivo com melhor recuperação foi a Acetonitrila; Quanto maior o volume de solvente dispersor (VSD), melhor a recuperação, ou seja, a condição de 1000 µL foi superior que a de 200 µL; Quanto maior o volume de solvente extrator (VSE), melhor a recuperação, ou seja, a condição de 1000 µL foi superior que a de 200 µL; Quanto menor o volume da amostra, melhor a recuperação, ou seja, a condição de 5 mL foi melhor que a de 10 mL; Quanto maior o tempo de mistura, melhor a recuperação, ou seja, misturar a amostra por 30 segundos tem efeito superior para a recuperação em relação a não mistura da amostra. As demais variáveis não apresentaram influência significativa nos resultados em um nível de confiança de 95%.

Interpretação das condições de ensaio para o Bisfenol S: Quanto maior o volume de solvente extrator (VSE), melhor a recuperação, ou seja, em 1000 µL obtém-se melhores resultados do que na de 200 µL. Quanto menor o pH, melhor a recuperação, ou seja, pH 4 foi melhor do que pH 11. As demais variáveis não apresentaram influência significativa nos resultados em um nível de confiança de 95%.

Desenho experimental PB2: Com o intuito de obter uma condição experimental que abranja uma melhor recuperação de todos os analitos-alvo foi elaborado um novo PB, visando aumentar, sobretudo a recuperação do analito Bisfenol S. Nessa segunda etapa foram fixadas as variáveis de maior influência: volume de solvente dispersor (VSD) em 1000 µL; volume de solvente extrator (VSE) em 1000 µL; volume de amostra (VA) em 5mL. O PB2 foi elaborado nas condições previstas na Tabela 2, com 5 variáveis e 15 ensaios (Tabela 6).

Tabela 6: Recuperação de BPA, BPS e BPA d16 obtidos na segunda Matriz Plackett-Burman (PB2) – Condições de otimização 2.

Ensaios	Recuperação BPA (%)	Recuperação BPAD16 (%)	Recuperação BPS (%)
1	101,9	99,9	85,1
2	93,2	91,5	33,2
3	73,3	69,4	6,2
4	105,1	102,2	33,4
5	104,2	103,4	33,2
6	97,4	91,9	85,6
7	88	82,1	8,5
8	84,9	82,1	3,4
9	85,4	81	4,4
10	97,1	93,8	81,1
11	70,9	66,7	6,6
12	63,6	58,9	2,8
13	107	102,4	54,3
14	111,8	108,4	51,8
15	111,1	107,5	51,4

Os principais resultados dos efeitos primários das variáveis nas respectivas recuperações encontram-se na Tabela 7. Os melhores cenários de recuperação dos analitos-alvo foram obtidos no ensaio 1, 6 e 10 (Tabela 6), com uma condição superior de otimização para a recuperação do Bisfenol S, se comparado ao PB realizado na condição 1 (PB1). Sendo assim, os ensaios 1, 6 e 10 atenderam aos requisitos de excelência preconizados para a recuperação dos analitos (AOAC, 2011; EPA, 1992; INMETRO, 2007) conforme abaixo:

- Condições experimentais do Ensaio 1: Solvente Dispersivo (SD): Acetonitrila; Solvente Extrator (SE): Clorofórmio; pH: 4; sem adição de sal (AS); tempo de mistura (TM): 30 s.
- Condições experimentais do Ensaio 6: Solvente Dispersivo (SD): Acetonitrila; Solvente Extrator (SE): Diclorometano; pH: 4; sem adição de sal (AS); tempo de mistura (TM): 60 s.

- Condições experimentais do Ensaio 10: Solvente Dispersivo (SD): Acetonitrila; Solvente Extrator (SE): Clorofórmio; pH: 2; sem adição de sal (AS); tempo de mistura (TM): 60 s.

Tabela 7: Efeitos principais no percentual de recuperação dos analitos-alvo na MELLD – Condição de Otimização 2 (PB2).

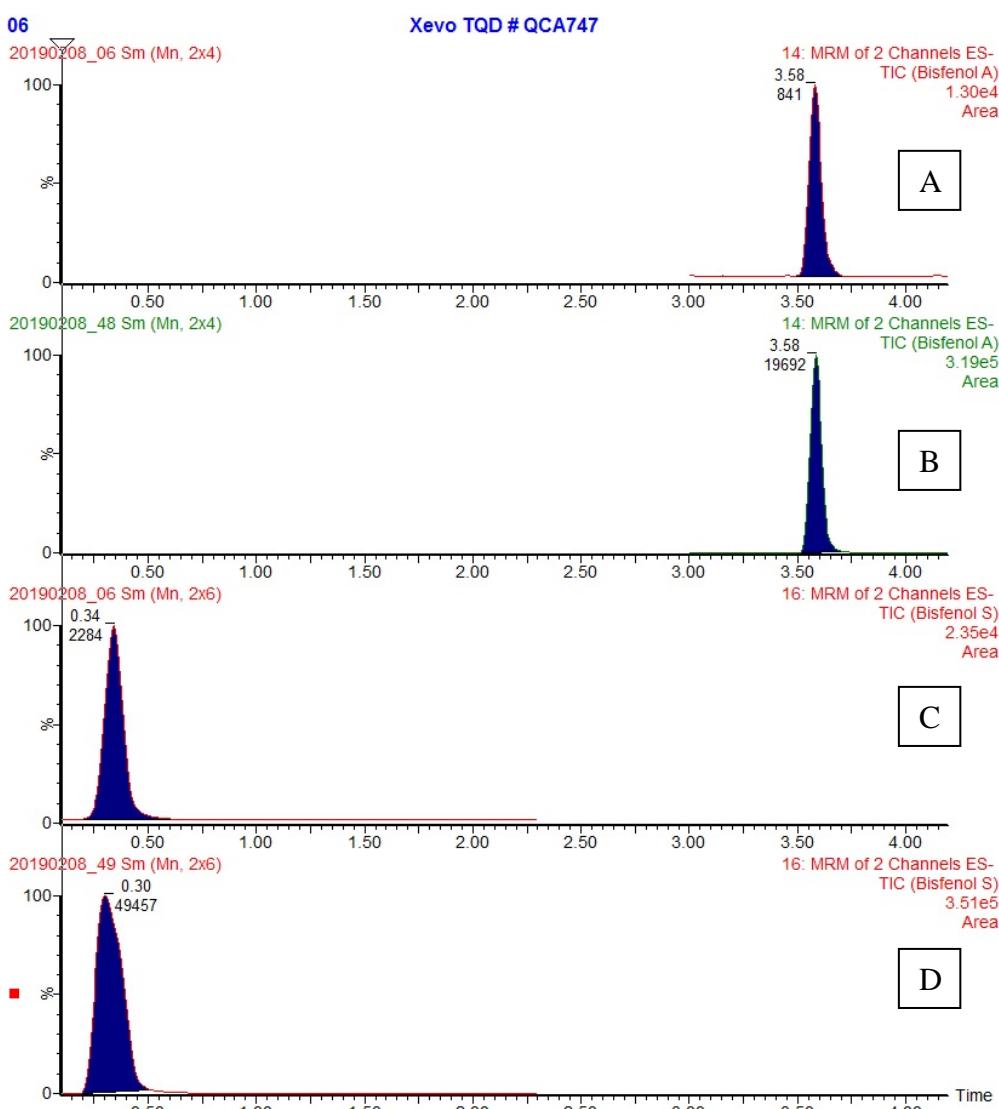
Analito	Variável	Efeito	Erro Padrão	t calculado	p-valor
BPA	Média	88,75	1,389	63,88	4,01E-12
	SD	22,13	2,778	7,96	4,50E-05
	AS	9,43	2,778	3,39	0,00942
BPA d16	Média	85,24	1,412	60,33	6,33E-12
	SD	23,75	2,825	8,40	3,06E-05
	AS	10,28	2,825	3,64	0,00659
BPS	Média	31,95	3,815	8,38	3,13E-05
	SD	53,28	7,630	6,98	0,000114
	AS	-25,21	7,630	-3,30	0,01

Legenda: SD – Solvente dispersivo; AS – Adição de sal.

Interpretação das condições de ensaio para o Bisfenol A, Bisfenol A d16: O solvente dispersivo que apresentou maior influência para uma melhor recuperação foi Acetonitrila. Quanto maior a adição de sal (S), melhor a recuperação do analito. As demais variáveis não apresentaram influência significativa nos resultados em um nível de confiança de 95%, nas condições estabelecidas no PB2.

Interpretação das condições de ensaio para o Bisfenol S: O solvente dispersivo que apresentou maior influência para uma melhor recuperação foi Acetonitrila. Quanto menor a adição de sal (S), melhor a recuperação do analito. As demais variáveis não apresentaram influência significativa nos resultados em um nível de confiança de 95%, nas condições estabelecidas no PB2. Cabe ressaltar que as variáveis relevantes obtidas no PB2, podem ser consideradas como secundárias, de menor relevância, se comparadas as variáveis fixadas, obtidas do PB1. Logo, existe alguma liberdade para a escolha das condições de ensaio aplicadas na manipulação cotidiana laboratorial. Devido a esse grau de liberdade, devem ser priorizados os reagentes com menor efeito tóxico e os de menor custo, assim como a não adição de sal e a manipulação em pH 4. Além disso, ressalta-se que se optou por não prosseguir os ensaios de otimização para aplicação de um delineamento central composto rotacional comumente utilizado, pois as recuperações obtidas já se encontram em uma faixa considerável ótima do ponto de vista da química analítica.

Aplicando-se as informações obtidas do desenho experimental PB1 e PB2, a MELLD ficou estabelecida em: Solvente Extrator (SE): Diclorometano; Solvente Dispersivo (SD): Acetonitrila;; 1000 μ L de acetonitrila (VSD), 1000 μ L de diclorometano (VSE), 5 mL de amostra (VA); pH:4 ; 30s de tempo de mistura (TM) no vórtex; sem adição de sal (AS); sem sonicação (SONIC); sem banho de gelo (BG). A Figura 1 apresenta cromatogramas com as condições PB1 e PB2 de extração. Nota-se um aumento da área dos cromatogramas após a MELLD (Figura 1A e 1C), quando comparados aos padrões injetados inicialmente com concentração de 25 μ g L⁻¹ (Figura 1B e 1C).



Aplicação do método: As 5 amostras reais (MB; MT; BG; CB; CT) foram testadas para avaliar o comportamento do método diante de matrizes complexas com características distintas de teor de carbono dissolvido (COD) e salinidade (Tabela 8).

Tabela 8: Teor de COD e salinidade das cinco amostras de matrizes aquosas.

Amostra	COD (mg L ⁻¹)	Salinidade (‰)
MB	511,5	3,0
MT	243,3	2,0
BG	264,0	23,0
CB	280,7	2,0
CT	264,6	3,5

Legenda: Efluente bruto (MB) e tratado (MT) de uma ETE municipal; Água superficial da Baía de Guanabara/RJ (BG); Efluente doméstico bruto (CB) e tratado (CT) de uma ETE condominial.

As recuperações variaram entre 83 a 121% para BPA e 76 a 91% para BPS (Tabela 9), demonstrando que para ambas as substâncias o método otimizado aproximou-se ao intervalo de recuperação de matrizes mais limpas orientados por guias nacionais e internacionais (AOAC, 2011; EPA, 1992; INMETRO, 2007). Os resultados do efeito de matriz foram satisfatórios, apresentando variações em torno de 20%, mesmo com as características

distintas de carga orgânica e salinidade das amostras. O BPA não apresentou efeito de matriz para o efluente da rede municipal (MB e MT), o que não ocorreu para o efluente bruto do condomínio (64%); tal resultado pode ser justificado pela comparação das vazões bem distintas das duas redes e a possível inibição gerada pela interação hidrofóbica do BPA, interferindo na distribuição sólido-líquido (TERNES *et al.*, 2004). Tal fenômeno também pode ter contribuído para o aumento de sinal observado para o BPS (192%), visto que este composto possui comportamento mais hidrofílico, o que pode ter favorecido sua solubilidade em matrizes com menor quantidade de sólidos em suspensão. Na amostra com maior salinidade (BG) foi observada uma supressão de sinal para o BPS. Este comportamento também foi observado nos testes de otimização experimental realizados, o que ressalta a importância da adição de padrão visando atenuar o efeito gerado pela característica da amostra (CALDAS *et al.*, 2016).

Tabela 9: Avaliação do efeito de matriz (EM %) e da recuperação (REC %) de BPA e BPS nas diferentes matrizes a partir da concentração de 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (n=3).

Bisfenol	Matriz	EM%	DPR%	REC%	DPR%
BPA	MB	99	11	121	7
	MT	109	4	95	3
	BG	115	8	83	11
	CB	64	9	108	19
	CT	76	5	103	6
BPS	MB	192	14	91	6
	MT	119	1	76	4
	BG	53	14	91	19
	CB	95	14	88	9
	CT	76	14	92	5

Legenda: Efluente bruto (MB) e tratado (MT) de uma ETE municipal; Água superficial da Baía de Guanabara – RJ (BG); Efluente doméstico bruto (CB) e tratado (CT) de uma ETE condominial.

Os parâmetros de validação propostos, por meio da técnica de MELLD, atenderam os critérios estabelecidos por guias nacionais e internacionais de validação de metodologias analíticas (AOAC, 2011; EPA, 1992; INMETRO, 2007). A linearidade ficou enquadrada de acordo com teste *lack of fit* ($p>0,05$) e coeficiente de determinação ($R^2>0,99$). O método apresentou precisão com DRP% <20%. O limite de detecção (LD) foi calculado por $3x\text{ S/R}$ (sinal ruído) e o limite de quantificação (LQ) foi definido como a menor concentração da curva de calibração, pelo método visual (Tabela 10) (ICH, 2005).

Tabela 10: Parâmetros de qualidade das análises de BPA e BPS por MELLD-UPLC-MS/MS.

Analito	Faixa Linear	LD	LQ	Equação	R^2	n ^(a)	Anova Lack-of-fit	
	($\mu\text{g L}^{-1}$)	($\mu\text{g L}^{-1}$)	($\mu\text{g L}^{-1}$)				Valor F	p-value
BPA	0,5 - 100	0,1	0,5	$y = 0,0682x - 0,0344$	0,9993	7	2,034	0,120
	25 - 200	-	-	$y = 0,0721x - 0,3236$	0,9994	6	1,642	0,227
BPS	0,5 - 50	0,1	0,5	$y = 0,1778x - 0,0092$	0,9997	6	1,567	0,246
	25 - 200	-	-	$y = 0,1747x - 1,8420$	0,9994	6	2,316	0,117

^(a)Número de níveis de concentração da curva de calibração.

A técnica MELLD otimizada possibilitou quantificar os analitos de interesse (BPA e BPS) em quatro amostras (MT, BG, CB e CT) dentro da faixa linear estabelecida (Tabela 11). O BPA foi encontrado na faixa de 0,047 a 0,342 $\mu\text{g L}^{-1}$ e o BPS na faixa de 0,011 a 0,382 $\mu\text{g L}^{-1}$, o que pode explicar a aproximação dos níveis de concentração desses compostos é a restrição em curso do uso de BPA e a gradual substituição pelo seu principal substituto, o BPS. Os valores encontrados em matrizes ambientais de BPA são superiores aos valores de BPS, segundo a literatura; porém observa-se também um aumento na ocorrência de BPS em corpos hídricos e a presença deste composto no lodo de ETEs (ROCHESTER; BOLDEN, 2015; SONG *et al.*, 2014; YAMAZAKI *et al.*, 2015).

As amostras da Baía de Guanabara (BG) apresentaram as menores concentrações BPA e BPS seguindo o comportamento da Baía de Tóquio para BPS que em média alcançou 0,008 $\mu\text{g L}^{-1}$ (YAMAZAKI *et al.*, 2015).

O tratamento condominial não foi capaz de reduzir as concentrações desses micropoluentes. Comparando-se o efluente bruto (CB) ao tratado (CT) percebe-se uma manutenção dos valores para os dois compostos. No caso do BPA sugere-se um possível acúmulo no tanque de tratamento, visto que foram encontradas concentrações levemente superiores no efluente tratado (CT).

A injeção direta da matriz MB foi necessária devido as altas concentrações encontradas das 2 substâncias, quando aplicada à MELLD, superando a faixa de trabalho da curva analítica. Com isso, foram preparadas as curvas com concentrações maiores ($25 - 200 \mu\text{g L}^{-1}$) para quantificação do BPA e BPS. Os elevados níveis BPA e BPS encontrados (150 e $18,2 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente), podem ser decorrentes da migração desses compostos de resíduos plásticos em degradação, oriundos de processos industriais e de esgotos domésticos (JIN; ZHU, 2016). A Figura 2 mostra os cromatogramas da injeção direta da amostra MB.

Tabela 11. Ocorrência de BPA e PBS em matrizes reais (n=3) com uso da MLLDE.

Bisfenol	Matriz	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
BPA	MB^(a)	$150,0 \pm 1,69$
	MT	$0,106 \pm 0,003$
	BG	$0,047 \pm 0,002$
	CB	$0,173 \pm 0,013$
	CT	$0,342 \pm 0,025$
BPS	MB^(a)	$18,2 \pm 0,113$
	MT	$0,024 \pm 0,008$
	BG	$0,011 \pm 0,001$
	CB	$0,382 \pm 0,005$
	CT	$0,329 \pm 0,017$

^(a)Concentração quantificada pela injeção direta da amostra. Efluente bruto (MB) e tratado (MT) de ETE municipal; Água superficial da Baía de Guanabara/RJ; Efluente doméstico bruto (CB) e tratado (CT) de ETE condominial.

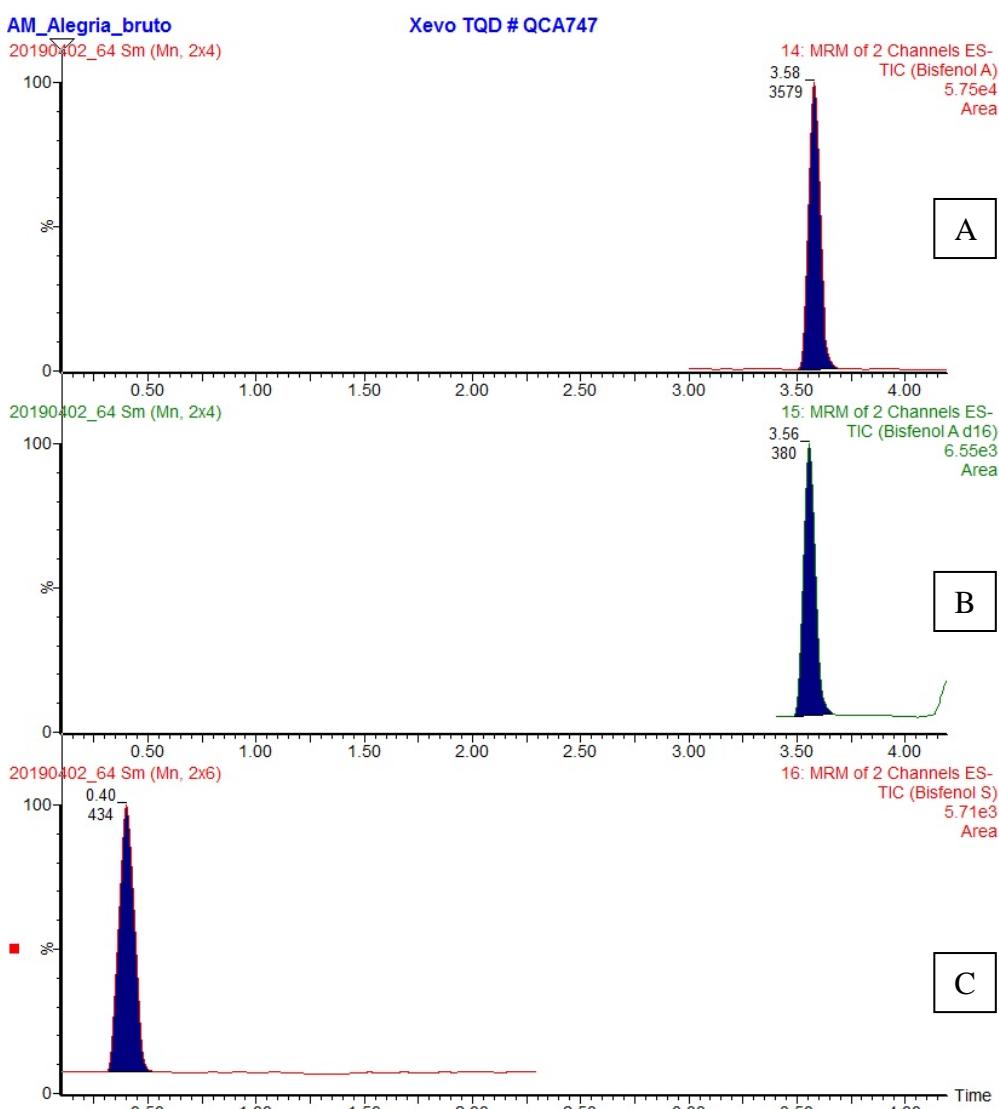


Figura 2: Cromatogramas de BPA (A), do padrão deuterado BPA d₁₆ (B) e BPS (C) na injeção direta da amostra no UPLC-MS/MS.

CONCLUSÃO

A associação da metodologia MELLD com a cromatografia em fase líquida de ultra eficiência (UPLC-MS/MS) atendeu os requisitos de validação adotados e possibilita maior agilidade analítica, além de minimizar o uso de grandes volumes de solvente e dispensar o uso de cartuchos EFS descartáveis. A otimização da MELLD através do desenho experimental aplicado permitiu selecionar as condições que proporcionaram o melhor rendimento, em termos de recuperação para BPA (108%) e BPS (92%). A MELLD demonstrou bom desempenho em matrizes complexas, permitindo quantificar BPA e BPS em todas amostras do estudo, sendo que para o esgoto municipal bruto, devido às altas concentrações iniciais nas amostras não foi necessária a aplicação da MELLD. Uma das vantagens adicionais da aplicação desta técnica de extração de forma otimizada com menor custo analítico e volume de coleta de amostras é a possibilidade de realização de análises cromatográficas de um número maior de amostras com maior rapidez, simplicidade e eficiência. Além de reduzir os custos de análise e volume de amostra coletada, a MELLD é também considerada como técnica ambientalmente mais amigável devido à menor geração de resíduos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPERJ (Proc. E-26/201.298/2016) e do CNPq (Proc. 308335/2017-1) para a última autora; e Bolsa de doutoramento CAPES (Processo 1533770) para o primeiro autor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMIN, Mohammad Mehdi; EBRAHIM, Karim; POURSAFA, Parinaz. Development of a dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) method coupled with GC/MS as a simple and valid method for simultaneous determination of phthalate metabolites in plasma. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, v. 97, n. 14–15, p. 1362–1377, 8 dez. 2017. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/03067319.2017.1422497>>. Acesso em: 27 out. 2018.
2. AOAC. Annex I : Validation Study Protocols. p. 1–27, 2011.
3. B. K. MATUSZEWSKI, *; M. L. CONSTANZER, And; CHAVEZ-ENG, C. M. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC–MS/MS. 2003. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac020361s>>. Acesso em: 30 out. 2018.
4. BERIJANI, Sana *et al.* Dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas chromatography–flame photometric detection: Very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water. *Journal of Chromatography A*, v. 1123, n. 1, p. 1–9, 4 ago. 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967306009411>>. Acesso em: 27 out. 2018.
5. CALDAS, Sergiane Souza *et al.* Talanta Multi-residue method for determination of 58 pesticides , pharmaceuticals and personal care products in water using solvent demulsi fi cation dispersive liquid – liquid microextraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, v. 146, p. 676–688, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.047>>.
6. CETESB - ANA. Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos. *COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO - CETESB; AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS.*, p. 326, 2011.
7. CHEN, Da *et al.* Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity—A Review. *Environmental Science & Technology*, v. 50, n. 11, p. 5438–5453, 7 jun. 2016. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.5b05387>>. Acesso em: 4 jun. 2018.
8. CHEN, Min-Yu; IKE, Michihiko; FUJITA, Masanori. Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of bisphenol-A and other bisphenols. *Environmental toxicology*, v. 17, n. 1, p. 80–6, fev. 2002.
9. CLARK, Earl. Sulfolane and Sulfones. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2000. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/0471238961.1921120603120118.a01>>. Acesso em: 27 out. 2018.
10. DANZL, Erica *et al.* Biodegradation of bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S in seawater. *International journal of environmental research and public health*, v. 6, n. 4, p. 1472–84, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19440529>>. Acesso em: 27 out. 2018.
11. EPA. *GUIDANCE FOR METHODS DEVELOPMENT AND METHODS VALIDATION FOR THE RCRA PROGRAM*.[S.l: s.n.], 1992. Disponível em: <<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/methdev.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2018.
12. FLINT, Shelby *et al.* Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective. *Journal of Environmental Management*, v. 104, p. 19–34, 15 ago. 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479712001405>>. Acesso em: 29 out. 2018.
13. FUKAZAWA, Hitoshi *et al.* Formation of Chlorinated Derivatives of Bisphenol A in Waste Paper Recycling Plants and Their Estrogenic Activities. v. 48, n. 3, p. 242–249, 2002.
14. GUERRA, P. *et al.* Bisphenol-A removal in various wastewater treatment processes: Operational conditions, mass balance, and optimization. *Journal of Environmental Management*, v. 152, p. 192–200, 1 abr. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301479715000602?via%3Dihub>>. Acesso em: 29 out. 2018.
15. ICH. ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology. *International Conference on Harmonization*, v. 1994, n. November 1996, p. 17, 2005.
16. IKE, M *et al.* Biodegradation of a variety of bisphenols under aerobic and anaerobic conditions. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, v. 53, n.

- 6, p. 153–9, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16749452>>. Acesso em: 27 out. 2018.
17. INMETRO. Orientação Sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos - DOQ-CGCRC-008. *Instituto Nacional de Metrologia e Normalização e Qualidade Industrial*, p. 25, 2007.
18. JI, Kyunghee *et al.* Effects of Bisphenol S Exposure on Endocrine Functions and Reproduction of Zebrafish. *Environmental Science & Technology*, v. 47, n. 15, p. 8793–8800, 6 ago. 2013. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es400329t>>. Acesso em: 27 out. 2018.
19. JIN, Hangbiao; ZHU, Lingyan. Occurrence and partitioning of bisphenol analogues in water and sediment from Liaohe River Basin and Taihu Lake, China. *Water Research*, v. 103, p. 343–351, 2016.
20. KABIR, Eva Rahman; RAHMAN, Monica Sharfin; RAHMAN, Imon. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 40, n. 1, p. 241–258, 1 jul. 2015. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668915300120>>. Acesso em: 28 out. 2018.
21. LIAO, Chunyang; LIU, Fang; KANNAN, Kurunthachalam. Bisphenol S, a New Bisphenol Analogue, in Paper Products and Currency Bills and Its Association with Bisphenol A Residues. *Environmental Science & Technology*, v. 46, n. 12, p. 6515–6522, 19 jun. 2012. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/10.1021/es300876n>>. Acesso em: 27 out. 2018.
22. NADERI, Mohammad; WONG, Marian Y.L.; GHOLAMI, Fatemeh. Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. *Aquatic Toxicology*, v. 148, p. 195–203, 1 mar. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166445X14000137>>. Acesso em: 27 out. 2018.
23. REZAEI, Mohammad *et al.* Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, v. 1116, n. 1–2, p. 1–9, 26 maio 2006. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967306005280>>. Acesso em: 27 out. 2018.
24. ROCHA, Bruno Alves *et al.* A fast method for bisphenol A and six analogues (S, F, Z, P, AF, AP) determination in urine samples based on dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, v. 154, p. 511–519, jul. 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914016302260>>.
25. ROCHESTER, Johanna R.; BOLDEN, Ashley L. Bisphenol S and F: A systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol a substitutes. *Environmental Health Perspectives*, v. 123, n. 7, p. 643–650, 2015.
26. RYU, Yeonsuk *et al.* Determination of endocrine disrupting chemicals in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, v. 42, n. 2, p. 77–82, 2012.
27. SANTOS, J.M. *et al.* Differential BPA levels in sewage wastewater effluents from metro Detroit communities. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 188, n. 10, 2016.
28. SONG, Shanjun *et al.* Occurrence and profiles of bisphenol analogues in municipal sewage sludge in China. *Environmental Pollution*, v. 186, p. 14–19, 1 mar. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026974911300612X>>. Acesso em: 9 jul. 2018.
29. SUN, X. *et al.* Determination of nine bisphenols in sewage and sludge using dummy molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1552, p. 10–16, 2018.
30. TERNES, Thomas A. *et al.* A rapid method to measure the solid–water distribution coefficient (Kd) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge. *Water Research*, v. 38, n. 19, p. 4075–4084, nov. 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15491655>>. Acesso em: 30 mar. 2019.
31. VAGHAR-LAHIJANI, Gholamreza *et al.* Extraction and Determination of Two Antidepressant Drugs in Human Plasma by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction–HPLC. *Journal of Analytical Chemistry*, v. 73, n. 2, p. 145–151, 2018. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1134/S1061934818020144>>.
32. VANDENBERG, Laura N. *et al.* Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*, v. 24, n. 2, p. 139–177, 1 ago. 2007.
33. VELA-SORIA, F. *et al.* A multiclass method for the analysis of endocrine disrupting chemicals in human urine samples. Sample treatment by dispersive liquid–liquid microextraction. *Talanta*, v. 129, p. 209–218, 1 nov. 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914014003919>>. Acesso em: 27 out. 2018.
34. WANG, Zhonghe *et al.* Simultaneous identification and quantification of bisphenol A and 12 bisphenol analogues in environmental samples using precolumn derivatization and ultra high performance liquid

- chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, n. January, p. 1–10, 2018.
- 35. YAMAZAKI, Eriko *et al.* Bisphenol A and other bisphenol analogues including BPS and BPF in surface water samples from Japan, China, Korea and India. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 122, p. 565–572, 2015.
 - 36. YANG, Yunjia *et al.* Simultaneous determination of seven bisphenols in environmental water and solid samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v. 1328, p. 26–34, 2014.
 - 37. ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, Agnieszka; GRZEŚKOWIAK, Tomasz. Dispersive liquid-liquid microextraction. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, v. 30, n. 9, p. 1382–1399, 2011.