



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ALESSANDRA STEPHANY BEZERRA DE MORAES

APLICAÇÃO DE CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSA SEQUENCIAL (CG-MS/MS) NA
DETERMINAÇÃO DE DISRUPTORES ENDÓCRINOS EM MATRIZES
AMBIENTAIS

FORTALEZA

2025

ALESSANDRA STEPHANY BEZERRA DE MORAES

APLICAÇÃO DE CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE
MASSA SEQUENCIAL (CG-MS/MS) NA DETERMINAÇÃO DE DISRUPTORES
ENDÓCRINOS EM MATRIZES AMBIENTAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante.

FORTALEZA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- M818a Moraes, Alessandra Stephany Bezerra de.
Aplicação de Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massa Sequencial (CG-MS/MS) na determinação de disruptores endócrinos em matrizes ambientais / Alessandra Stephany Bezerra de Moraes. – 2025.
64 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2025.
Orientação: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante.
1. Disruptores endócrinos. 2. Cromatografia gasosa acoplada em série à espectrometria de massa sequencial. 3. Dissociação induzida por colisão. 4. Ion-trap. I. Título.

CDD 540

ALESSANDRA STEPHANY BEZERRA DE MORAES

APLICAÇÃO DE CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE
MASSA SEQUENCIAL (CG-MS/MS) NA DETERMINAÇÃO DE DISRUPTORES
ENDÓCRINOS EM MATRIZES AMBIENTAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica.

Aprovada em: 19/03/2025.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dra. Gisele Simone Lopes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a Dra. Ana Caroline Cabral
Universidade Federal do Paraná (UFPR)

A Deus, o único digno de todo louvor.

A minha mãe e minha irmã.

As minhas gatas, Lora e Charlotte.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sobretudo, por me ajudar a superar as atribulações da vida e estar aqui.

A mim, por nunca ver as adversidades como empecilhos e, sim, como oportunidades para mudança e por nunca deixar de acreditar que sou merecedora do mundo.

À minha mãe, por sempre lutar incansavelmente para que eu tivesse acesso a uma educação de qualidade, mesmo diante das dificuldades, e por ser meu maior exemplo de coragem, resiliência e dedicação.

A minha irmã, por sempre me divertir e me distrair das minhas preocupações, minha confidente e eterna companheira, obrigada por acreditar em mim, por me apoiar nos momentos difíceis e celebrar comigo cada conquista.

As minhas duas gatas, Lora e Charlotte por sempre me acompanharem durante todo esse processo e serem meu conforto durante as madrugadas solitárias.

Ao Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante, por sempre ajudar, transmitindo seus conhecimentos e sugestões que auxiliaram esse trabalho refinando os conceitos e a transformando pensamentos dispersos em um trabalho sólido e significativo, além de mostrar que nascemos para brilhar e levar a vida com senso de humor e curiosidade. Seu comprometimento com o meu desenvolvimento acadêmico foi além das expectativas; suas orientações não se limitaram ao campo do conhecimento, mas também incluíram valiosas lições de vida e profissionalismo contribuindo para que me tornar um pesquisador mais maduro e preparado para os desafios que virão por tudo isso, sou profundamente grata.

As professoras participantes da banca examinadora, Prof.^a Dra. Gisele Simone Lopes e Prof.^a Dra. Ana Caroline Cabral, pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões para a construção deste trabalho.

Aos meus colegas do Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos, por me ajudarem a aflorar meu lado mais dinâmico e extrovertido. A experiência de trabalhar com pesquisa foi transformadora, por isso agradeço pela oportunidade de trabalhar durante esses dois anos com todas aquelas pessoas maravilhosas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFC (PGQUIM).

“A coragem é mais estimulante que o medo e, em longo prazo, é mais fácil. Não precisamos nos tornar heróis da noite para o dia. Basta dar um passo de cada vez, encarando cada coisa que surge, percebendo que não é tão terrível quanto parecia, descobrindo que temos a força para encará-la.”

(Eleanor Roosevelt, 1960)

RESUMO

Os disruptores endócrinos (DEs) são agentes exógenos que interferem nas funções hormonais, afetando o desenvolvimento, crescimento e reprodução de seres vivos, como redução na eclosão de ovos e feminização de peixes machos. Esses compostos, naturais ou sintéticos, são persistentes e amplamente dispersos no ambiente. Essas características tornam imprescindível desenvolver métodos analíticos capazes de quantificá-los de forma confiável. Contudo, as concentrações extremamente baixas em que se apresentam dificultam sua detecção, exigindo, portanto, o emprego de técnicas instrumentais avançadas que ofereçam maior sensibilidade e precisão. Diante disso, este trabalho tem como objetivo aplicar a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas sequencial (CG-MS/MS) na determinação de disruptores endócrinos (DEs), validar este método instrumental e aplicá-lo em amostras de sedimento. Foram analisados 12 compostos com características DEs: 5 α -Androstan-3 β -ol, Dietilestilbestrol (DES), Dienestrol (DNS), 17 α -Metiltestosterona (MET), Estrona (E1), 17 α -Ethinilestradiol (EE2), Trenbolona (TB), Mestranol (MeEE2), Oxandrolona (OXA), Etisterona, Coprostan-3-ol (Cop) e Megestrol (MGA) com o auxílio do agente derivatizante BSTFA/TMCS (N,O-bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida/Trimetilclorosilano) que possibilitou o estudo cromatográfico. Para as análises de CG-MS/MS, a variação da voltagem CID (Dissociação Induzida por Colisão) e de energia de excitação (baixa, média, alta) com janela do íon precursor fixada em 1 foram os dados estudados para a otimização dos parâmetros de fragmentação. As soluções padrão de calibração foram preparadas em acetonitrila, a fim de alcançar uma faixa de concentrações entre 0,5 e 50,0 $\mu\text{g/mL}$, empregando padronização interna. Referente aos parâmetros de desempenho escolhidos para validação do método, para linearidade, os coeficientes de correlação dos DEs foram acima de 0,99, variando entre 0,9907 e 0,9997. Para os limites de detecção (LD) variando de 0,01 a 0,31 $\mu\text{g/mL}$ e os limites de quantificação (LQ) de 0,11 a 0,83 $\mu\text{g/mL}$. Para precisão, os DPR% (desvio padrão relativo) não ultrapassou o estabelecido pelo INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia) (DPR% < 7,3) para os três níveis de concentração de cada curva de calibração (baixa, média e alta). As taxas de recuperação apresentaram-se dentro da faixa estabelecida (80 – 110%). Após aplicação em amostras de sedimento os resultados demonstraram que esse método é válido para aplicação em sedimentos.

Palavras-chave: disruptores endócrinos; cromatografia gasosa acoplada em série à espectrometria de massa sequencial; dissociação induzida por colisão; *ion-trap*.

ABSTRACT

Endocrine disruptors (EDs) are exogenous agents that interfere with hormonal functions, affecting the development, growth and reproduction of living beings, such as reduced egg hatching and feminization of male fish. These compounds, whether natural or synthetic, are persistent and widely dispersed in the environment. Such characteristics make it essential to develop analytical methods capable of reliably quantifying them. However, the extremely low concentrations at which they are found make detection challenging, thereby requiring the use of advanced instrumental techniques that provide greater sensitivity and precision. In this context, the present study aims to apply Gas Chromatography coupled with Tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS) for the determination of endocrine disruptors, validate this instrumental method, and apply it to sediment samples. Twelve ED-related compounds were analyzed: 5 α -Androstan-3 β -ol, Diethylstilbestrol (DES), Dienestrol (DNS), 17 α -Methyltestosterone (MET), Estrone (E1), 17 α -Ethinylestradiol (EE2), Trenbolone (TB), Mestranol (MeEE2), Oxandrolone (OXA), Ethisterone, Coprostan-3-ol (Cop), and Megestrol (MGA), with the aid of the derivatizing agent BSTFA/TMCS (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide/Trimethylchlorosilane), which enabled chromatographic analysis. For the GC-MS/MS analyses, variations in CID (Collision-Induced Dissociation) voltage and excitation energy (low, medium, high), with the precursor ion window fixed at 1, were studied to optimize the fragmentation parameters. Calibration standard solutions were prepared in acetonitrile to achieve a concentration range of 0.5 to 50.0 $\mu\text{g/mL}$, using internal standardization. Regarding the performance parameters selected for method validation, correlation coefficients for linearity were all above 0.99, ranging from 0.9907 to 0.9997. Limits of detection (LOD) ranged from 0.01 to 0.31 $\mu\text{g/mL}$, while limits of quantification (LOQ) ranged from 0.11 to 0.83 $\mu\text{g/mL}$. For precision, the relative standard deviation (RSD%) did not exceed the threshold established by INMETRO (National Institute of Metrology, Quality and Technology), with $\text{RSD\%} < 7.3\%$ for the three concentration levels (low, medium, and high) of each calibration curve. Recovery rates were within the acceptable range of 80–110%. After application to sediment samples, the results demonstrated that this method is valid for the determination of endocrine disruptors in sediment matrices.

Keywords: endocrine disruptors; gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry; collision-Induced dissociation; ion-trap.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estruturas dos principais disruptores endócrinos analisados: a. 5 α -Androstan 3 β -ol, b. Dietilestilbestrol, c. Dienestrol, d. 17 α -Metiltestosterona, e. Estrona, f 17 α -Etinilestradiol, g. Trenbolona, h. Mestranol, i. Oxandrolona, j. Etisterona, k Coprostran-3-ol e l. Megestrol.....	22
Figura 2	– Estrutura da a) testosterona e b) estilbeno.....	23
Figura 3	– Origem de disruptores endócrinos e rotas para o meio ambiente.....	24
Figura 4	– Esquema do mecanismo de derivatização por sililação.....	28
Figura 5	– Gráfico esquemático dos principais componentes dos instrumentos CG-MS.....	29
Figura 6	– MSn em uma armadilha de íons.....	29
Figura 7	– Câmara do detector: <i>PolarisQ Ion-Trap</i>	30
Figura 8	– Cromatógrafo Gasoso com detector de espectrometria de massa (CG-MS/MS)...	33
Figura 9	– Rampa da corrida do método para CG-MS/MS.....	33
Figura 10	– Fluxograma de extração de sedimento para análises CG-MS/MS.....	34
Figura 11	– Procedimento de derivatização.....	35
Figura 12	– Reação de derivatização por mecanismo de sililação do disruptor estrona.....	37
Figura 13	– Cromatogramas dos íons de diagnóstico dos DEs por CG-MS/MS.....	40

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	– Distribuição de disruptores de acordo com as condições estabelecidas: Voltagem CID, Variação: 1 a 5 eV e Energia de Excitação: alta: 0,45q; média: 0,30q; Baixa: 0,225q.....	38
Gráfico 2	– Concentrações ($\mu\text{g/g}$) dos disruptores endócrinos nos sedimentos.....	46
Gráfico 3	– Percentual (%) dos Σ DEs para as amostras de sedimentos.....	46
Gráfico 4	– Níveis de Σ DEs das amostras de sedimentos por localidade.....	47
Gráfico 5	– Concentrações individuais dos Σ DEs para hormônios naturais e sintéticos.....	48
Gráfico 6	– Níveis para Σ DEs referente à pluviosidade.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Resumo de aplicações dos hormônios no corpo humano.....	19
Tabela 2	– Características dos principais disruptores endócrinos analisados.....	21
Tabela 3	– Coeficientes dos principais disruptores endócrinos analisados.....	25
Tabela 4	– Configurações detalhadas das condições e quantificação dos íons de diagnóstico usados para a análise dos DEs por CG-MS/MS.....	40
Tabela 5	– Parâmetros de desempenho do método por CG-MS/MS: Linearidade, LD e LQ.....	43
Tabela 6	– Precisão do método por CG-MS/MS: repetibilidade.....	44
Tabela 7	– Exatidão do método por CG-MS/MS: recuperação.....	45
Tabela 8	– Características dos disruptores analisados.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
BPA	Bisfenol A
BSTFA	N,O-bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida
CG	Cromatografia gasosa
CG-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
CG-MS/MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa sequencial
CID	Dissociação Induzida por Colisão
CL	Cromatografia líquida
CMD	Concentração média determinada
Cop	Coprostan-3-ol
DDT	<i>Dichlorodiphenyltrichloroethane</i> (Diclorodifeniltricloroetano)
DEs	Disruptores endócrinos
DES	Dietilestilbestrol
DLLME	<i>Dispersive Liquid–Liquid Microextraction</i> (Microextração Dispersiva Líquido-Líquido)
DPR%	Desvio padrão relativo
DP	Desvio padrão
DNS	Dienestrol
E1	Estrona
E2	17 β -estradiol
E3	Estriol
EE2	17 α -Ethinilestradiol
EI	<i>Electron impact</i> (Impacto de elétrons)
ETE	Estações de tratamento de esgoto
HF-LPME	<i>Hollow Fiber–Liquid Phase Microextraction</i> (Microextração de Fibra Oca em Fase Líquida)
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia <i>Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem</i>
IPBES	<i>Services</i> (Plataforma Intergovernamental de Políticas Científicas sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos)
IPCS	<i>International Programme on Chemical Safety</i> (Programa Internacional de Segurança Química)
LD	Limite de detecção
LLE	<i>Liquid-liquid Extraction</i> (Extração Líquido-líquido)
LQ	Limite de quantificação
MAE	<i>Microwave-Assisted Extraction</i> (Extração assistida por micro-ondas)
MeEE2	Mestranol
MET	17 α -Metiltestosterona
MGA	Megestrol
MS	<i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de massa)
MSn	Multi-stage scan mode (Modo de varredura multiestágio)
MSPD	<i>Matrix Solid-Phase Dispersion</i> (Dispersão em fase sólida de matriz)
m/z	Razão massa/carga
OCPs	<i>Organochlorine Pesticides</i> (Pesticidas Organosclorado)
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPEs	<i>Organophosphorus Esters</i> (Ésteres Organofosforado)
OXA	Oxandrolona
PAHs	<i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbons</i> (Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos)
PCBs	<i>Polychlorinated Biphenyls</i> (Bifenilos policlorados)
PFA	<i>Per-and Polyfluoroalkyl Substances</i> (Substâncias perfluoroalquílicas e polifluoroalquílicas)
PI	Padrão Interno
PLE	<i>Pressurized Liquid Extraction</i> (Extração de Líquido Pressurizado)
PS	Padrão Surrogate
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe</i> (Rápido, fácil, barato, eficaz, robusto, seguro)
R	Coefficientes de correlação

% R	Taxa de recuperação
SIM	<i>Selected ion monitoring</i> (Monitoramento de íons selecionados)
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i> (Extração com Fluido Supercrítico)
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> (Extração em Fase Sólida)
SME	<i>Small and Medium-sized Enterprises</i> (Microextração Sólida)
SPME	<i>Solid-Phase Microextraction</i> (Microextração em Fase Sólida)
DSPE	<i>Dispersive Solid-Phase Extraction</i> (Extração Dispersiva em Fase Sólida)
DSPME	<i>Dispersive Solid-Phase Microextraction</i> (Microextração Dispersiva em Fase Sólida)
TB	Trembolona
TMCS	Trimetilclorossilano
TR	Tempos de retenção
UA-LLME	<i>Ultrasound-Assisted Liquid–Liquid Microextraction</i> (Microextração líquido-líquido assistida por ultrassom)
UN	<i>United Nations</i> (Nações Unidas)
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)
WADA	<i>World Anti Doping Agency</i> (Agência Mundial Antidoping)

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	<i>Registered trademark</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1	Hormônios	19
2.2	Disruptores endócrinos	20
2.3	Fontes de exposição aos DEs	23
2.4	Métodos de extração de analitos	26
2.5	Métodos analíticos de quantificação de DEs	27
2.5.1	<i>Derivatização.....</i>	<i>27</i>
2.5.2	<i>Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa sequencial (CG-MS/MS).....</i>	<i>28</i>
3	OBJETIVOS	31
3.1	Objetivo geral	31
3.2	Objetivos específicos	31
4	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1	Solventes e reagentes.....	32
4.2	Equipamentos utilizados.....	32
4.2.1	<i>Curvas analíticas de calibração.....</i>	<i>32</i>
4.2.2	<i>Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa sequencial (CG-MS/MS).....</i>	<i>32</i>
4.3	Extração de amostra de sedimento.....	34
4.4	Derivatização.....	35
4.5	Validação.....	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
5.1	Estudos dos parâmetros de para análises por meio de CG-MS/MS.....	37
5.2	Estudo de validação.....	43
5.3	Determinação de disruptores endócrinos em amostras de sedimento.....	45
6	CONCLUSÃO	52
	REFERÊNCIAS.....	53
	APÊNDICE A – DADOS COMPLEMENTARES.....	64

1 INTRODUÇÃO

O recente desenvolvimento econômico tem elevado significativamente o padrão de vida material de muitas pessoas ao redor do mundo (UN, 2021). Contudo, essa trajetória de crescimento, é baseada na exploração de recursos naturais, na perda de biodiversidade e serviços ecossistêmicos, impulsionada principalmente por fatores como mudanças no uso da terra e do mar, exploração excessiva, mudanças climáticas, poluição e introdução de espécies invasoras, especialmente em países subdesenvolvidos, onde a população depende diretamente dos ecossistemas para sua economia, subsistência e bem-estar humano. (IPBES, 2019).

Diante desse panorama mundial, a frequente detecção dos contaminantes chamados disruptores endócrinos no ambiente nas últimas décadas tem levantado preocupações sobre seus impactos na saúde humana, na vitalidade de ecossistemas, pois interfere no metabolismo e sistema endócrino dos animais (ATTILA ZSARNOVSZKY *et al.*, 2024).

Os disruptores são, em sua maioria, compostos naturais ou sintéticos como pesticidas organoclorados (OCPs), bifenilpoliclorados (PCBs), retardantes de chama, perfluoroalquiladas (PFAS), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), parabenos, ésteres organofosforado (OPEs) ou hormônios (MARÍN-SÁEZ, 2024). As principais formas de exposição humana ocorrem por meio da ingestão de alimentos, água e poeira, inalação de gases e partículas, além do contato dérmico (ASON *et al.*, 2022). São distribuídos para os ecossistemas aquáticos por meio de esgotos domésticos, municipais, industriais, hospitalares e pecuários (LÓPEZ-VELÁZQUEZ *et al.*, 2025).

O estudo desses poluentes levou à implementação de medidas regulatórias, como proibições e a definição de doses de referência para estabelecer limites de exposição segura (USEPA, 1995). No entanto, essas pesquisas evidenciam os riscos à saúde associados à exposição a baixas doses dos compostos, especialmente devido à persistência dos DEs no ambiente, o que gera preocupações, uma vez que concentrações extremamente baixas podem interferir no equilíbrio hormonal, afetar a reprodução e causar anomalias no desenvolvimento (TRAN *et al.*, 2020 e KLEIN *et al.*, 2024).

Devido à complexidade de identificar estes micropoluentes no ambiente, associada à sua diversidade química e às baixas concentrações em que geralmente estão presentes, torna-se imprescindível o desenvolvimento de métodos analíticos avançados. Esses métodos devem ser capazes de detectar e quantificar essas substâncias em matrizes ambientais complexas, como água, sedimentos e biota, garantindo alta sensibilidade, precisão e especificidade. Além disso, é necessário considerar as interferências de outros compostos presentes nas amostras e

os desafios relacionados à extração e preparação das mesmas, para obter resultados confiáveis que auxiliem na compreensão e mitigação dos impactos ambientais causados por esses poluentes. Portanto, o objetivo deste trabalho é aplicar um método cromatográfico acoplado à espectrometria em massa sequencial para quantificar 12 disruptores endócrinos a fim de demonstrar que esse método é válido para aplicação em matrizes ambientais para fins de verificação de riscos à saúde decorrente da exposição prolongada a esses poluentes.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Hormônios

Composto por glândulas que liberam hormônios diretamente na circulação, o sistema endócrino desempenha um papel essencial na regulação do equilíbrio hormonal, controlando funções biológicas fundamentais (PLUNK, 2020). Na Tabela 1 está uma síntese das diversas funções dos hormônios no organismo humano.

Tabela 1- Resumo da ação dos hormônios no corpo humano.

REGIÃO	HORMÔNIO	EFEITOS PRINCIPAIS
Glândula pineal	Melatonina	Ritmos circadianos; função imune
Hipotálamo	Hormônios tróficos	Liberar ou inibir hormônios da adeno-hipófise
Neuro-hipófise	Ocitocina Vasopressina (ADH)	Ejeção do leite; trabalho de parto e expulsão do feto; Reabsorção de água
Glândula tireoide	Tri-iodotironina e tiroxina Calcitonina (CT)	Metabolismo; crescimento e desenvolvimento Níveis plasmáticos de cálcio (efeito mínimo em seres humanos)
Paratireoide	Hormônio da paratireoide (PTH)	Regula os níveis plasmáticos de Ca^{2+} e fosfato
Coração	Peptídeo atrial natriurético	Aumenta a excreção de Na^+
Fígado	Angiotensinogênio Fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGFs)	Secreção de aldosterona; aumento da pressão sanguínea Crescimento
Estômago e intestino delgado	Gastrina, colecistocinina (CCK), secretina e outros	Auxílio na digestão e na absorção de nutrientes
Pâncreas	Insulina, glucagon, somatostatina, polipeptídeo pancreático	Metabolismo de nutrientes
Rins	Eritropoietina Calciferol	Produção de eritrócitos Aumento da absorção de cálcio
Testículos	Androgênios Inibina	Produção de espermatozoides, características sexuais secundárias Inibe a produção de FSH
Ovários	Estrogênios e progesterona Inibina Relaxina (gestação)	Produção de ovócitos; características sexuais secundárias Inibe a produção de FSH Relaxa o músculo
Tecido adiposo	Leptina, adiponectina, resistina	Ingestão alimentar, metabolismo, reprodução

Fonte: Adaptado de Silverthorn (2017).

De acordo com Guyton *et al.* (2017), há três classes gerais de hormônios:

- 1) Proteínas e polipeptídios, que incluem hormônios produzidos pela hipófise anterior e posterior, pelo pâncreas (como insulina e glucagon), pela paratireoide (paratormônio) e por diversos outros órgãos e glândulas;
- 2) Esteroides produzidos pelo córtex adrenal (como cortisol e aldosterona), pelos ovários (estrogênio e progesterona), pelos testículos (testosterona) e pela placenta (estrogênio e progesterona);
- 3) Substâncias derivadas do aminoácido tirosina, produzidas pela tireoide (como tiroxina e tri-iodotironina) e pela medula adrenal (epinefrina e norepinefrina).

Os hormônios são responsáveis por uma série de funções corporais contínuas e persistentes, esses processos abrangem áreas como metabolismo, a homeostase do meio interno (temperatura, balanço hídrico e iônico), reprodução, crescimento e o desenvolvimento em diversos animais (SILVERTHORN, 2017).

2.2 Disruptores endócrinos

O conceito de Disruptores endócrinos (DEs) foi apresentado pela primeira vez em 1991 na Conferência Wingspread por meio da Dra. Theo Colborn, na ocasião foi apresentada evidências que produtos químicos podiam desencadear efeitos adversos como resultados de sua natureza hormonalmente ativa (MARKEY, 2002). Durante o evento, foram discutidos casos como os efeitos desencadeados pelo uso excessivo do inseticida DDT na vida selvagem, afetando sua capacidade reprodutiva. Tais efeitos, além de contaminação em humanos, foram descritos no livro *Silent Spring*, de Rachel Carson, popularizando os perigos inerentes à utilização de DDT. A prescrição errônea do medicamento dietilestilboestrol (DES), durante a década de 40, com o intuito de prevenir aborto espontâneo e outras dificuldades durante a gravidez, também foi discutida, pois o uso de tal medicamento gerou efeitos adversos como câncer de mama em mães e câncer vaginal em meninas nascidas de mães que foram expostas a DES (DEMENEIX, 2019).

Posteriormente, em 1995, Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) realizou um workshop para discutir os efeitos adversos dos disruptores endócrinos em espécies da vida selvagem, animais domésticos e seres humanos. O objetivo foi pontuar pesquisas específicas que pudessem subsidiar decisões do governo federal de forma embasada. Além disso, os desreguladores endócrinos (DEs) são substâncias químicas externas capazes de alterar o funcionamento dos hormônios do corpo, afetando etapas como a

produção, circulação, transformação, atuação e excreção desses compostos, o que pode comprometer o equilíbrio do organismo e o desenvolvimento. (KAVLOCK, 1996).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) e com o Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) a definição para DE é apresentada como:

Um desregulador endócrino é uma substância ou mistura exógena que altera a(s) função(ões) do sistema endócrino e, conseqüentemente, causa efeitos adversos à saúde de um organismo intacto, ou de sua progênie ou (sub)populações. (IPCS, 2002, p. 1)

Os disruptores endócrinos abrangem uma diversidade de substâncias químicas de origem sintética ou natural: hormônios sintéticos como o dietilestilbestrol (DES) e o 17 α -etinilestradiol (EE2), plastificantes e monômeros como ftalatos, bisfenol A (BPA), hidrocarbonetos poliaromáticos (HPA), hormônios naturais como estrona (E1), 17 β -estradiol (E2) e estriol (E3) (PESSOA *et al.*, 2012; MARKEY *et al.*, 2002; GÁLVEZ-ONTIVEROS *et al.*, 2020). A maneira como os DEs agem não se restringe apenas aos agentes que interagem diretamente com os receptores hormonais. Outros mecanismos relevantes incluem a inibição da síntese, transporte ou metabolismo hormonal, bem como a ativação dos receptores por meio de processos como a fosforilação do receptor ou a liberação de complexos celulares necessários para a ação hormonal (IPCS, 2002).

Tabela 2 - Características dos disruptores endócrinos analisados.

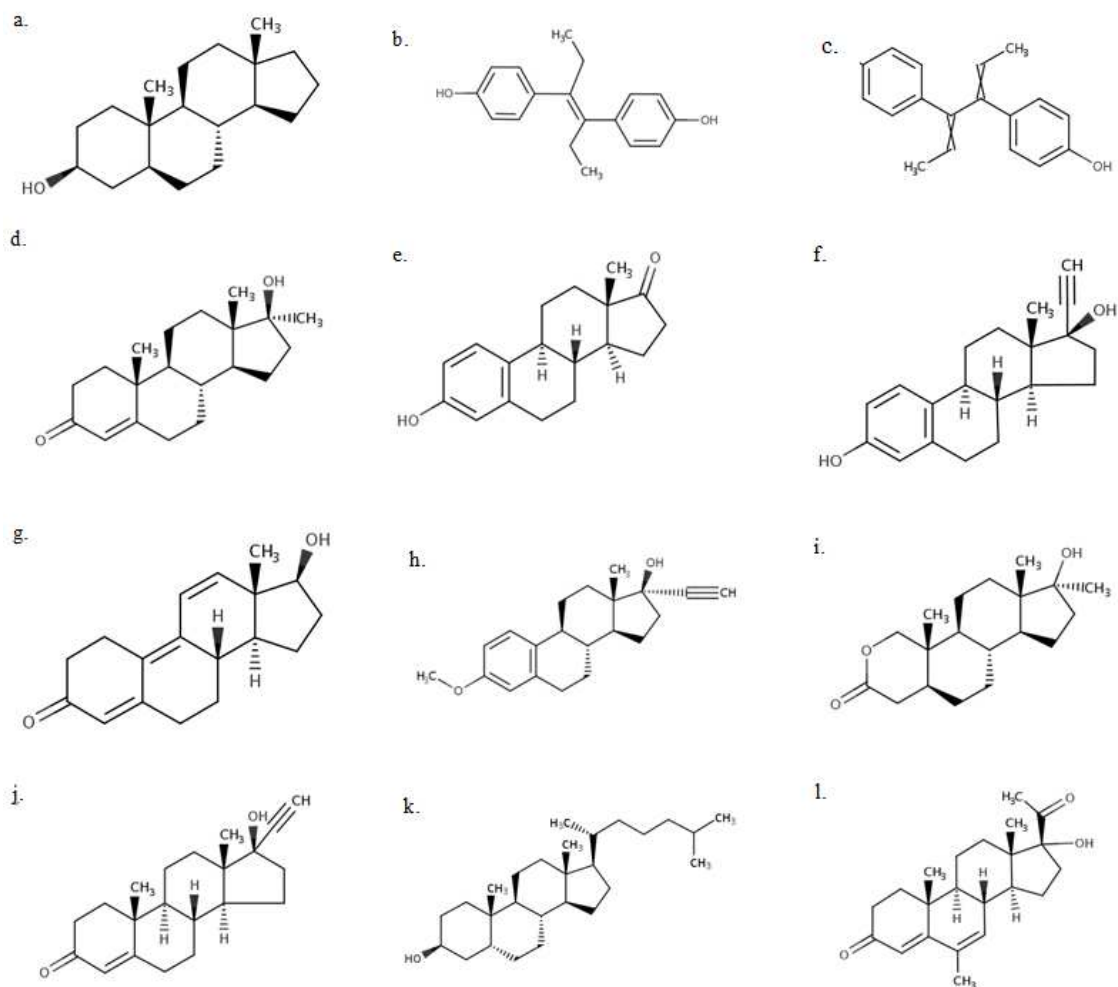
DEs	Fórmula	CAS	Abreviação
5α-Androstran-3β-ol	C ₁₉ H ₃₂ O	1224-92-6	-
Dietilestilbestrol	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	56-53-1	DES
Dienestrol	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	84-17-3	DNS
17α-Metiltestosterona	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	58-18-4	MET
Estrona	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	53-16-7	E1
17α-Etinilestradiol	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	57-63-6	EE2
Trembolona	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	10161-33-8	TB
Mestranol	C ₂₁ H ₂₆ O ₂	72-33-3	MeEE2
Oxandrolona	C ₁₉ H ₃₀ O ₃	53-39-4	OXA
Etisterona	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	434-03-7	-
Coprostran-3-ol	C ₂₇ H ₈ O	360-68-9	Cop
Megestrol	C ₂₂ H ₃₀ O ₃	3562-63-8	MGA

Fonte: US, 2024; BERNARDINA *et al.*, 2021; ZUO *et al.*, 2024.

A problemática central referente aos DEs são as doenças que eles podem proporcionar aos seres humanos ou na vida selvagem (AL SHARABATI, 2021). Os disruptores desencadeiam diferentes efeitos na biota incluindo, segundo Manahan (2003), alterações nas

taxas de fecundidade, fertilização e eclosão; alteração comportamental de animais, como agressividade; histopatologias (fígado, gônadas, rins); imunodepressão; desenvolvimento de características sexuais femininas em machos ou o oposto, inibição do desenvolvimento dos órgãos sexuais e reversão sexual. Para os humanos, esses poluentes estão associados à obesidade, disfunções metabólicas, câncer, alterações no neurodesenvolvimento, efeitos na função cardíaca, defeitos reprodutivos e tireoide (AL SHARABATI, 2021; VAN DER MEERET *al.*, 2021; GORE, 2014).

Figura 1 – Estruturas moleculares dos disruptores endócrinos analisados: a. 5 α -Androstan-3 β -ol, b. Dietilestilbestrol, c. Dienestrol, d. 17 α -Metiltestosterona, e. Estrona, f. 17 α -Etinilestradiol, g. Trenbolona, h. Mestranol, i. Oxandrolona, j. Etisterona, k. Coprostran-3-ol e l. Megestrol.

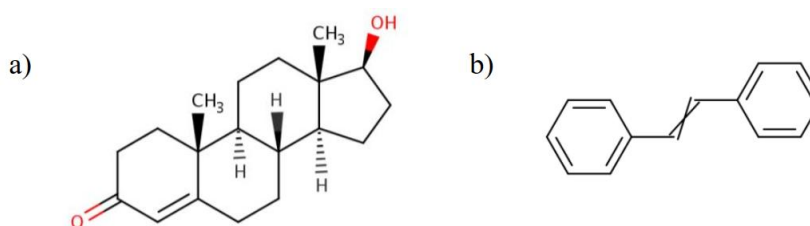


Fonte: Adaptada de US (2024).

A Figura 1 e Tabela 2 apresentam os dados referentes aos disruptores analisados nesse

trabalho, o Dienestrol, por exemplo, é um estrogênio sintético não esteroidal com uma estrutura derivado do estilbeno (Figura 2b) que tem sido usado como um creme para o tratamento de sintomas da menopausa em mulheres mais velhas, além de aditivos para ração para crescimento aprimorado em animais (DAVIS E JANE, 2010; GUAN *et al.*, 2019). De acordo com os últimos dados das Nações Unidas, o DNS foi oficialmente retirado da Áustria, Itália, Kuwait, Arábia Saudita e Venezuela (SCHREIBER *et al.*, 2020). O 17 α -Metiltestosterona é um composto sintético derivado da testosterona (Figura 2a) utilizado em humanos em casos de deficiência andrógênica, infertilidade e câncer de mama, além de ser aplicado na regulação de sexo em peixes (SAVARIS *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2011). Esse poluente está associado à masculinização de espécies de tilápia através de banhos de imersão ou rações suplementares (BOMBARDELLI *et al.*, 2007).

Figura 2 – Estrutura da a) testosterona e b) estilbeno.



Fonte: Adaptada de US (2024).

A Oxandrolona e Trembolona são alguns dos anabolizantes mais utilizados no Brasil (PIRES, 2022). A Trembolona é um andrógeno e esteroide anabólico do grupo da nandrolona (U.S, 2025). A Oxandrolona é também um esteroide anabólico usado para ganho de peso em casos de catabolismo, recuperação de queimaduras, dores ósseas da osteoporose, síndrome de Turner e outras condições (U.S, 2025). Outro disruptor que chama atenção é o Mestranol, ele é um composto inativo que se torna biologicamente ativo na conversão para etinilestradiol, além disso, estava na composição da primeira pílula hormonal, contudo, devido aos efeitos colaterais foi substituído por outros compostos. Apesar disso, ainda existem medicamentos que o utilizam em sua composição (GOLDZIEHER *et al.*, 1990; CHRISTIN-MAITRE, 2013).

2.3 Fontes de exposição aos DEs

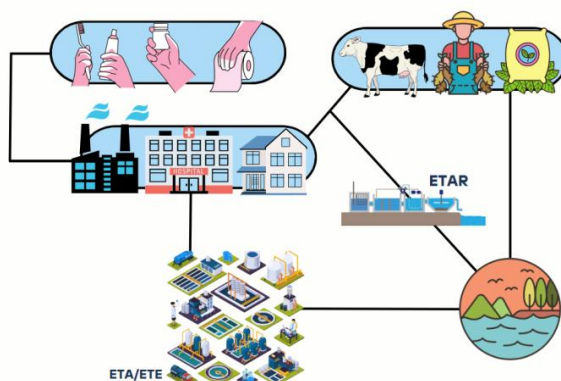
Grandes aglomerações de centros populacionais representam uma fonte crucial de disseminação de hormônios (sintéticos ou naturais) no meio ambiente (GOEURY, 2022).

Diferentes seres vivos podem ser expostos a DEs por meio de diversas vias, incluindo ingestão durante consumo de alimentos e água, absorção cutânea, oral ou por transferência da mãe para o feto através da placenta e/ou amamentação (DENUZIÈRE, 2022). Somado a isso, alguns desses compostos também são persistentes, lipofílicos, suscetíveis à bioacumulação e devido à baixa pressão de vapor, apresenta facilidade para dispersar-se e difundir-se no meio ambiente (BILA, 2007).

Disruptores endócrinos, sejam de origem natural ou artificial, são liberados no meio ambiente devido a atividades humanas, pelos animais e pela indústria. Isso ocorre principalmente por meio de sistemas de tratamento de esgoto, antes de serem eventualmente depositados no solo, em corpos d'água superficiais e aquíferos subterrâneos (GOGOI *et al.*, 2018).

O avanço da poluição resultante da produção e do consumo de compostos químicos sintéticos supera o impacto de todos os demais agentes disruptores ambientais. Um exemplo disso é o expressivo aumento no uso de produtos farmacêuticos, que alcançou cerca de 4,5 trilhões de doses de medicamentos consumidas apenas no ano de 2020 (ORIVE *et al.*, 2022). Seu destino, em sua maioria, são estações de tratamento projetadas para remover matéria orgânica e que não possuem tecnologia adequada para eliminar de forma eficaz esses microcontaminantes causando contaminação tanto no meio aquático, quanto em sedimentos e lodos de tratamento, destacando um problema ambiental crescente e preocupante (ALZOLA-ANDRÉS *et al.*, 2024). O uso ampliado de medicamentos tanto na saúde humana como animal tem levado à disseminação de disruptores endócrinos em diversos ambientes, como águas superficiais, subterrâneas, costeiras e até na água potável (WILKINSON *et al.*, 2022).

Figura 3 - Origem de disruptores endócrinos e rotas para o meio ambiente.



Fonte: Adaptada de Vélez, 2019.

A Figura 3 apresenta um resumo das possibilidades de contaminação de ecossistemas. A liberação de efluentes diretamente ou após processamento é o principal meio de contaminação de corpos hídricos, seja decorrente da falta de infraestrutura de saneamento ou ineficácia tecnológica e/ou operacional das estações de tratamento (REIS, 2006; SIMAZAKI *et al.*, 2015). O tratamento biológico de águas residuais industriais é amplamente utilizado, mas enfrenta limitações como necessidade de grandes áreas (lagoas aeróbias, anaeróbias e facultativas), emissão de odores e ineficácia contra substâncias tóxicas ou não biodegradáveis (JOÃO *et al.*, 2018). De acordo com Lzaod e Dutta (2022), pesquisadores desenvolveram tecnologias alternativas para remover disruptores, como filtração, osmose reversa e processos de oxidação avançada. Contudo, essas abordagens apresentam limitações, incluindo alto consumo de energia, custos elevados de instalação e operação, além do uso de produtos químicos tóxicos.

Os disruptores endócrinos possuem a capacidade de se distribuir em diversas matrizes ambientais (água, solo e sedimentos) e sofrerem influência de condições ambientais, incluindo o pH, temperatura, umidade, microrganismos) (Singh *et al.*, 2021). De acordo com Singh *et al.* (2023) e Huang *et al.* (2001), os coeficientes de partição octanol-água ($\log K_{ow}$) e constante de sorção ($\log K_{oc}$) podem influenciar em qual partição (aquosa ou sólida) esses poluentes são encontrados:

- 1) Compostos com $\log K_{ow} < 2,5$ pode ser facilmente solúvel em água;
- 2) Compostos com $\log K_{ow}$ entre 2,5 e 4,0 podem ser moderadamente solúveis em água;
- 3) Compostos com $\log K_{ow} \geq 4,0$ pode ser facilmente adsorvidos em matéria orgânica (e/ou particulada).

Tabela 3- Coeficientes dos principais disruptores endócrinos analisados.

DEs	$\log K_{ow}$	$\log K_{oc}$	DEs	$\log K_{ow}$	$\log K_{oc}$
5α-Androstran-3β-ol	5,39	5,60	Trembolona	2,59	4,90
Dietilestilbestrol	5,36	4,10	Mestranol	4,57	5,73
Dienestrol	4,64	4,19	Oxandrolona	3,15	6,68
17α-Metiltestosterona	3,66	5,73	Etisterona	3,43	5,72
Estrona	3,41	5,56	Coprostran-3-ol	9,19	4,98
17α-Etilestradiol	4,05	5,71	Megestrol	11,8	4,99

Fonte: US, 2024; Bernardina *et al.*, 2021; Zuo *et al.*, 2024.

Observando a Tabela 3, os disruptores desse estudo devem ser encontrados em sua maioria adsorvidos em matéria orgânica (e/ou particulada) com cinco sendo moderadamente solúveis em água.

2.4 Métodos de extração de analitos

A etapa de extração da amostra é fundamental em qualquer procedimento analítico, cujo principal objetivo é uma recuperação eficiente para uma variedade de analitos em matrizes diversas, garantindo que os extratos estejam limpos e com o mínimo de interferências possível (SANTANA-MAYOR *et al.*, 2019). Esta etapa desempenha papel fundamental para análises ambientais, dado que, para os compostos alvos deste estudo, as concentrações são baixas e as matrizes altamente complexas (DIMPE *et al.*, 2016). Portanto, esta etapa pode envolver processos como filtração, ajuste de pH, extração, *clean up* e técnicas de pré-concentração (PADRÓN *et al.*, 2014).

A extração em fase sólida (SPE, do inglês, *Solid Phase Extraction*) é uma técnica eficiente, rápida e que desloca compostos das matrizes aquosas para solventes orgânicos (BILA, 2007). Além de extrair os analitos de interesse, possibilita a concentração de grandes volumes adequados para as próximas etapas analíticas (VÉLEZ *et al.*, 2019; MONTAGNER *et al.*, 2017). Outra metodologia é a extração líquido-líquido (LLE, do inglês, *Liquid-Liquid Extraction*), a qual é baseada nas propriedades de imiscibilidade de solventes orgânicos para particionar as substâncias alvo do concentrado bruto para a fase líquida na qual o analito é miscível (DIMPE *et al.*, 2016). No entanto, essas técnicas possuem desvantagens como, requerer grandes volumes de solventes perigosos. Somado a isso, a LLE demanda muitas etapas ocasionando perda de analito bem como exposição de contaminações ao longo da análise (ALPENDURADA, 2000; VÉLEZ *et al.*, 2019).

Uma abordagem alternativa para reduzir o uso de solventes é a aplicação de técnicas de microextração. Para Padrón *et al.* (2014), essas técnicas são frequentemente caracterizadas como métodos de preparação de amostras não exaustivos, que utilizam volumes reduzidos (faixa de μL) em comparativo com o volume total da amostra. Dentre essas técnicas temos microextração em fase sólida (SPME), microextração com solvente (SME), microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME), microextração líquido-líquido assistida por ultrassom (UA-LLME), microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME), microextração em fase sólida dispersiva (DSPE/DSPME) (ANASTASSIADES *et al.*, 2003).

No ano de 2003, Anastassiades *et al.* propôs um método de preparação de amostra para extração de resíduos, denominado QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*), o qual foi apresentado pela primeira vez em 2002 no IV Workshop Europeu de Resíduos de Pesticidas em Roma. Inicialmente, o método QuEChERS foi criado para extração de resíduos de agrotóxicos de frutas e vegetais, porém atualmente, é aplicado para lipídios, antioxidantes, aditivos alimentares, disruptores endócrinos e surfactantes em matrizes diversas (SOKOŁOWSKI *et al.*, 2024). O procedimento consiste na extração com acetonitrila, seguida de adição de sal e limpeza por extração em fase sólida dispersiva (DSPE/DSPME) (ALSEFRI *et al.*, 2023). Em comparativo com abordagens convencionais, o QuEChERS utiliza poucos equipamentos e pequenos volumes de solvente, além de trabalhar com recipientes fechados minimizando a exposição do operador (SANTANA-MAYOR *et al.*, 2023).

Somado a isso, existem várias outras metodologias de extração de compostos químicos como a extração de Soxhlet, extração por dispersão de matriz em fase sólida (MSPD) ou físicas como extração ultrassônica, extração assistida por micro-ondas (MAE), extração com fluido supercrítico (SFE) e extração de fluido pressurizado (PLE) (SILVA, 2011; DIMPE *et al.*, 2016; ANASTASSIADES, 2003).

2.5 Métodos analíticos de quantificação de DEs

Existem diversos métodos analíticos com o intuito de quantificar disruptores endócrinos em matrizes complexas (águas naturais, solo, sedimentos, lodo biológico, efluente de estações de tratamento de esgoto (ETE) e biota). Devido às baixas concentrações em que esses poluentes são encontrados, faz-se necessário o uso de procedimentos analíticos altamente sensíveis para identificação e quantificação (ISMAIL *et al.*, 2019). Os procedimentos cromatográficos são os mais representativos, principalmente a integração da cromatografia gasosa (GC) ou líquida (LC) à espectrometria de massa (MS) possibilitando o desenvolvimento de técnicas instrumentais hífenadas (GAFFNEY *et al.*, 2014; PADRÓN *et al.*, 2014).

2.5.1. Derivatização

Este estudo utilizará como técnica de determinação CG-MS/MS, diante disso, pela cromatografia requerer compostos voláteis e termicamente estáveis e muitos analitos possuírem propensão a serem adsorvidas e decompostos nas colunas ou no injetor, reações de derivatização são necessárias (PADRÓN *et al.*, 2014).

Segundo Pessoa *et al.* (2012), a derivatização consiste num processo químico utilizado para modificar compostos, conduzindo na formação de novos produtos com propriedades cromatográficas melhoradas. Esta etapa pode resultar em um aumento significativo na sensibilidade de detecção, eficiência da separação e seletividade, e a derivatização de reagentes quirais melhorando a resolução (ATAPATTU, 2023).

Figura 4 – Esquema do mecanismo de derivatização por sililação.



Fonte: Adaptada de Kappur, 1969.

As reações são geralmente realizadas por substituição no grupo polar do analito e podem ser de três tipos: alquilação, acetilação e sililação, sendo a última a mais utilizada e a aplicada nesse estudo (KÜHNEL, 2007). O mecanismo da sililação envolve a substituição dos hidrogênios ativos podendo ser originário dos grupos –OH, –COOH, –NH, –NH₂ e –SH por um grupo trimetilsilil (–Si(CH₃)₃) (ORATA, 2012). A sililação ocorre via um mecanismo de ataque nucleofílico (S_N2), no qual a eficiência da reação é diretamente proporcional à qualidade do grupo de saída (KÜHNEL, 2007). Diferente da derivatização por acilação, a sililação normalmente não necessita de uma etapa de purificação e os derivados podem ser injetados diretamente no equipamento (SCHUMMER *et al.*, 2009). De acordo com Orata (2012), a reatividade do grupo funcional segue a ordem: Álcool > Fenol > Carboxila > Amina > Amida/hidroxila.

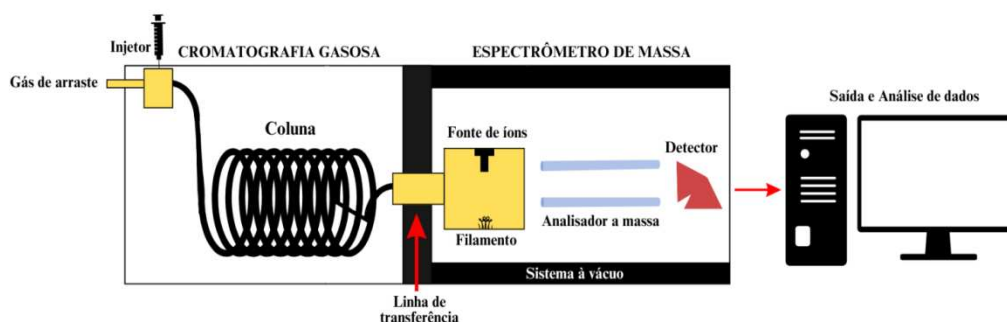
Para Schummer *et al.* (2009), por vezes, moléculas não derivatizadas, como anfetaminas e seus metabólicos, produzem cromatogramas ineficazes devido a múltiplos picos ou separações deficientes de estereoisômeros. Diante disso, a derivatização é uma ferramenta indispensável na detecção de compostos de matrizes complexas, amplamente empregada em química forense, médica e ambiental.

2.5.2. Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa sequencial (CG-MS/MS)

O CG-MS é um método analítico instrumental hifenado o que relaciona a técnica de separação cromatografia gasosa, em que o analito em estado gasoso é conduzido através da coluna por uma fase móvel (gás de arraste) ao detector de espectrometria de massa, que fornece dados de caráter quantitativos e qualitativos (HARRIS, 2012). Os principais

componentes instrumentais são: injetor, coluna, linha de transferência, câmara de ionização, um analisador de massa e o detector, operando em um ambiente a vácuo e o sistema de aquisição de dados (EMWAS *et al.*, 2015), como observado na Figura 5.

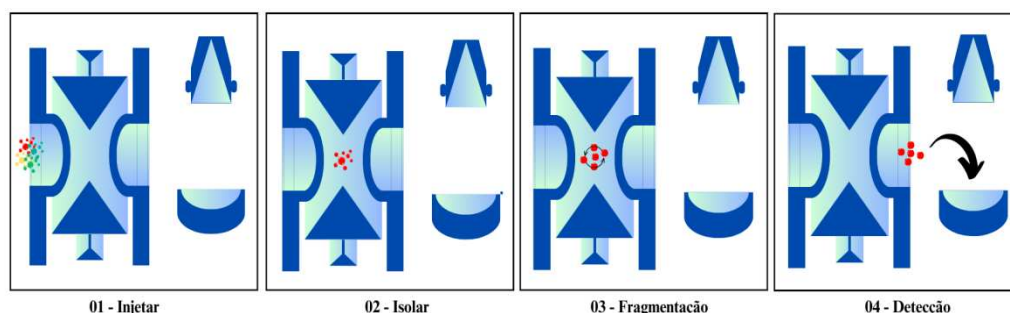
Figura 5 – Gráfico esquemático dos principais componentes dos instrumentos CG-MS.



Fonte: Elaborado pela Autora.

De acordo com Emwas *et al.* (2015), na ionização por impacto de elétrons (EI), as moléculas do analito são submetidas a colisão de elétrons de alta energia (aproximadamente 70eV), ocasionando a remoção de um elétron da molécula da amostra, resultando na formação de um cátion radical (íon molecular). Em seguida, a energia excedente (aproximadamente 50eV) proporciona a fragmentação do íon molecular gerando um espectro de massa (cromatograma) onde cada pico corresponde a um íon fragmentado, permitindo a identificação da molécula original. Para análise de varredura no modo SIM (*selected ion monitoring*), seleciona-se os principais fragmentos do espectro e monitora-se em intervalos de tempos de retenção (TR) específicos para cada analito, proporcionando maior resposta do detector (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

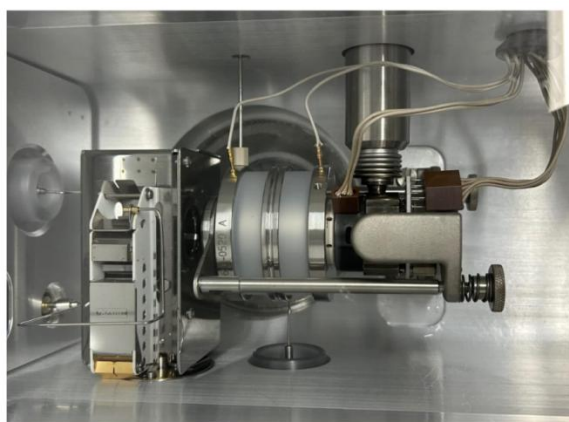
Figura 6 – MSⁿ em uma armadilha de íons.



Fonte: Adaptada de Thermo Fisher Scientific USA.

Por fim, na espectrometria de massa sequencial (Figura 6), um analisador de massa é utilizado para isolar o íon de interesse e o outro estabelece uma correlação entre esse íon isolado e outros íons que resultam na fragmentação induzida (NASCIMENTO *et al.*, 2018). A espectrometria de massa com armadilha de íons realiza uma operação seletiva de massa após a outra, proporcionando alta sensibilidade e especificidade. No modo de operação do íon-trap (Figura 7), os íons são injetados na armadilha e, em milissegundos, um campo é configurado para estabilizar apenas o íon de interesse na armadilha. O íon recebe um pulso de voltagem CID (Dissociação Induzida por Colisão) fazendo com que ele se fragmente em íons de produto únicos. Finalmente, esses íons de produto são escaneados para gerar um espectro para identificação (STEINIGER *et al.*, 2008). Ao contrário do quadrupolo, que age como um filtro de íons, o íon-trap é capaz de aprisionar íons por tempos relativamente longos e liberá-los em sequência para um detector, porém uma desvantagem desta técnica é a baixa precisão para massas elevadas ($m/z > 1000$) (NASCIMENTO *et al.*, 2018). Além disso, o baixo custo comparado com outras técnicas cromatográficas a destaca (MARCH, 2017).

Figura 7 – Câmara do detector: PolarisQ Ion-Trap



Fonte: Elaborado pela Autora.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Aplicar a Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa sequencial (CG-MS/MS) na determinação de disruptores endócrinos (DEs) em matrizes ambientais.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar os íons moleculares dos disruptores estudados;
- Determinar os melhores parâmetros para o método de CG-MS/MS;
- Validar método instrumental para técnica CG-MS/MS;
- Aplicar a metodologia do CG-MS/MS em amostras de sedimentos;
- Identificar e quantificar os DEs presentes nas amostras de sedimentos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Solventes e reagentes

Padrões analíticos dos disruptores possuíam pureza superior a 95%: 5 α -Androstan-3 β -ol (CAS 1224-92-6), Dietilestilbestrol (CAS 56-53-1, DES), Dienestrol (CAS 84-17-3, DNS), 17 α -Metiltestosterona (CAS 58-18-4, MET), Estrona (CAS 53-16-7, E1), 17 α -Etinilestradiol (CAS 57-63-6, EE2), Trembolona (CAS 10161-33-8, TB), Mestranol (CAS 72-33-3, MeEE2), Oxandrolona (CAS 53-39-4, OXA), Etisterona (CAS 434-03-7), Coprostan-3-ol (CAS 360-68-9, Cop), Megestrol (CAS 3562-63-8, MGA) e, foi utilizado 5 α -Androstane (CAS 438-22-2) como padrão interno (PI) e 2,4-Estrona D₂ (CAS 350820-16-5) como padrão surrogate (PS), para quantificação dos analitos, ambos da Sigma-Aldrich® (SIGMA). As soluções estoque dos padrões foram preparadas em acetonitrila e armazenadas a -4 °C. O derivatizante utilizado foi BSTFA (N,O-bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida) e TMCS (trimetilclorossilano) (SIGMA). Além disso, todos os produtos químicos utilizados neste trabalho, como acetonitrila, acetona, diclorometano eram grau HPLC e obtidos da *Sigma-Aldrich Chemie*® e da *Thermo Scientific*®.

4.2 Equipamentos utilizados

Os equipamentos utilizados durante a etapa experimental foram: Balança analítica, vórtex, pipeta automática. Como também, vidrarias auxiliares, béquer, bastão de vidro, espátulas.

4.2.1 Curvas analíticas de calibração

Após a etapa de derivatização e identificação os disruptores de acordo com seus respectivos tempos de retenção e fragmentação, foram construídas 12 curvas analíticas de calibração de uma solução trabalho (MIX) de 100 μ g/mL. As soluções padrão de calibração foram preparadas em acetonitrila, a fim de alcançar uma faixa de concentrações entre 0,5 e 50,0 μ g/mL com PI de 10 μ g/mL.

4.2.2 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa íon-trap (CG-MS/MS)

Para determinações e quantificações dos disruptores endócrinos foi utilizado o equipamento de cromatografia gasosa FOCUS GC (*Thermo Fisher Scientific*) acoplado a um espectrômetro de massa com armadilha de íons PolarisQ (*Thermo Fisher Scientific*) (CG-

MS/MS) equipado com coluna DB-5 MS (60 m de comprimento $\times$ 0,25 mm i.d $\times$ 0,25 μ m de espessura de filme) (Figura 8).

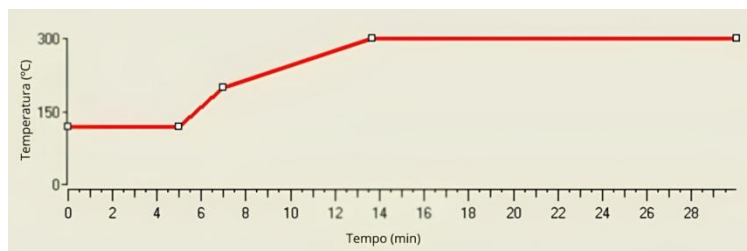
A programação de temperatura do forno (Figura 9) foi de 5 minutos a 120 °C, 40 °C/min até 200 °C, 15 °C/min até 300 °C por 16,33 min com gás de arraste H₂ de alta pureza a vazão constante de 1mL/min e a linha de transferência em 270°C, a fonte de íons para 200°C e 70eV. A aquisição de dados foi realizada no modo de ionização por impacto de elétrons (EI) e modo de varredura de múltiplos estágios (MSn). Alíquotas de 1 μ L de cada solução foram injetadas usando o injetor automático AI/AS 3000 a 270°C com fluxo dividido de 60 mL/min e tempo sem divisão de 1 minuto. O estudo focou em duas etapas de fragmentação para identificar os compostos. Para os parâmetros de otimização de excitação e fragmentação examinados consistiram na variação da tensão CID (*Collision Induced Dissociation*) de 1V a 5V, somada à energia de excitação entre níveis baixo (0,225q), médio (0,30q) e alto (0,45q) com largura fixa em 1 amu, tempo de isolamento de 12 ms e tempo de aplicação de tensão de 30ms. O *software TotalChrom Navigator-GC* foi usado para controle do instrumento e análise de dados.

Figura 8 – Cromatógrafo Gasoso com detector de espectrometria de massa (CG-MS/MS).



Fonte: Elaborado pela Autora.

Figura 9 – Rampa da corrida do método para CG-MS/MS.



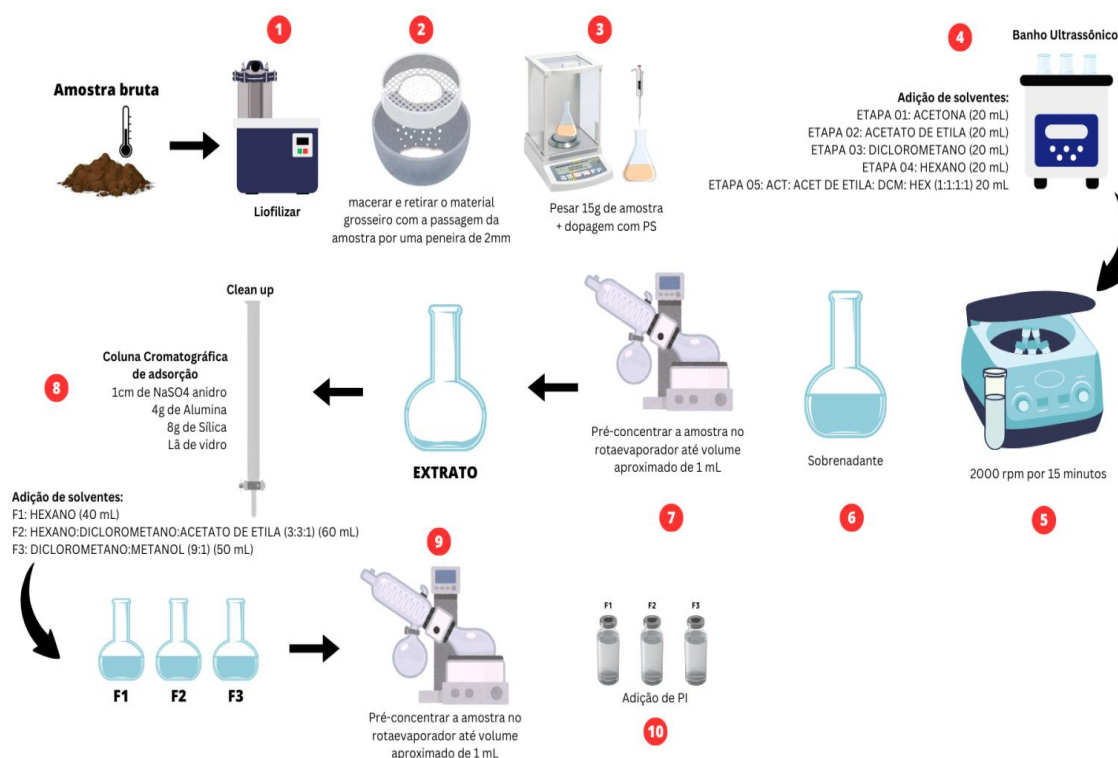
Fonte: Elaborado pela Autora.

4.3 Extração de amostra de sedimento

A extração dos DEs nas amostras de sedimentos seguiu os Métodos 3500C, 3550C e 3630C descritos nos Métodos de Teste de Resíduos perigosos/SW-846 da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) ([//www.epa.gov/sw846](http://www.epa.gov/sw846) on-line).

As amostras de sedimento foram submetidas à liofilização e seguida de peneiramento (2 µm). Posteriormente, padrões substitutos (50 ng/g) foram adicionados e homogeneizados (Método 3500C-EPA). Foram pesados a partir de 15g de sedimento para extrair os analitos alvo utilizando ultrassom conforme Método 3550C-EPA. A extração envolveu cinco etapas sequenciais com duração de 20 minutos cada, com adição de diferentes solventes: acetona (20 mL), acetato de etila (20 mL), diclorometano (20 mL), hexano (20 mL), e por fim, uma mistura contendo 5 mL de cada solvente na quinta etapa, totalizando 20 mL da mistura. Após cada etapa de extração, o substrato foram submetidos à centrifugação (2.000 rpm) seguida de pré-concentração utilizando nitrogênio para o volume final de 1 mL (Figura 10).

Figura 10 - Fluxograma de extração de sedimento para análises CG-MS/MS.



Fonte: Elaborado pela Autora.

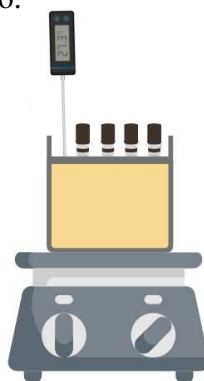
Os extratos de sedimentos foram particionados usando cromatografia líquida em coluna aberta (8 gramas de sílica, 4 gramas de alumina) como dita o Método 3630C-EPA.

Nesse procedimento, para a Fração 1 (extrair substâncias altamente apolares) utilizou-se 40 mL de hexano, para a Fração 2 (extrair substâncias moderadamente apolares) foi usado 60 mL de uma mistura de hexano: acetato de etila (3:1) e, por fim, a Fração 3 (extrair substâncias mais polares) utilizando 50 mL de uma mistura de diclorometano: metanol (9:1).

4.4 Derivatização

Para a derivatização dos padrões dos DEs (5 α -Androstran-3 β -ol, Dietilestilbestrol, Dienestrol, 17 α -Metiltestosterona, Estrona, 17 α -Etinilestradiol, Trembolona, Mestranol, Oxandrolona, Etisterona, Coprostran-3-ol e Megestrol), foi pesado 1 mg de cada padrão e diluído em 1 mL de acetonitrila. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 100 μ L, que foi secada com auxílio de nitrogênio. Posteriormente, adicionaram-se 50 μ L do agente derivatizante e 50 μ L de solvente (acetonitrila), homogeneizando a solução com vórtex. A mistura foi então submetida a um sistema de aquecimento (Figura 11) a 60 °C por 30 minutos. Após esse período, a temperatura foi gradualmente aumentada até 80 °C (aproximadamente 22 minutos), momento em que a solução foi retirada do aquecimento.

Figura 11 – Procedimento de derivatização.



Fonte: Elaborado pela Autora.

4.5 Validação e controle de qualidade do método

A validação de métodos analíticos é essencial para garantir resultados confiáveis, rastreáveis e comparáveis, evitando decisões equivocadas e prejuízos financeiros, além de assegurar que o método forneça dados precisos e interpretáveis sobre a amostra analisada. (RIBANI *et al.*, 2004). Para avaliar o desempenho do método utilizado, foi realizada uma validação analítica seguindo o documento INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia) DOQ-CGCRE-008 de junho/2020 e usando os parâmetros de

desempenho: seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão.

Para calcular os limites de detecção e quantificação foi utilizando as expressões abaixo utilizando o padrão do branco (INMETRO, 2020):

$$LD = \frac{3,3 \times s}{b}$$

$$LQ = \frac{10 \times s}{b}$$

Onde, s: desvio padrão amostral dos brancos e b: inclinação (coeficiente angular) da curva analítica.

A precisão foi determinada usando o desvio padrão relativo (DPR, expresso em %) em três concentrações: baixa, média e alta (em triplicata) (INMETRO, 2020), calculado pela seguinte expressão:

$$DPR = \left(\frac{DP}{CMD} \right) \times 100$$

Onde, DP: desvio padrão e CMD: concentração média determinada.

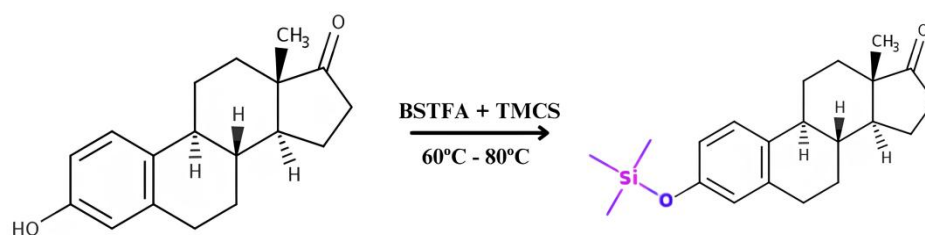
A exatidão foi determinada através de ensaios de recuperação no qual as amostras teste foram enriquecidas (concentração final de 10 µg/mL) com todos os padrões, e posteriormente, seguindo o protocolo analítico de extração. A eficiência da extração foi avaliada com base nas taxas de recuperação (% R) para cada analito de interesse (INMETRO, 2020).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Estudos dos parâmetros de para análises por meio de CG-MS/MS.

Conforme descrito na literatura, métodos analíticos frequentemente utilizam procedimentos de derivatização. Neste estudo, optou-se pelo uso do BSTFA+TCMS (Figura 12) devido à sua rápida reatividade com compostos que possuem grupos hidroxila, alta volatilidade, que evita a co-eluição de picos, baixa degradação térmica e excelente solubilidade em solventes orgânicos (HERNANDO *et al.*, 2004). Através da análise cromatográfica é possível observar que os analitos que possuem dois grupos hidroxila podem sofrer derivatização de duas maneiras, em ambas e/ou apenas em uma. O Dietilestilbestrol sofre derivatização em apenas uma hidroxila.

Figura 12 – Reação de derivatização por mecanismo de sililação do disruptor estrona.



Fonte: Elaborado pela Autora.

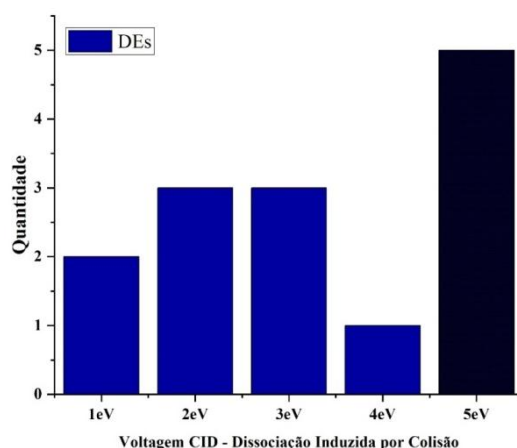
A quantificação dos compostos alvos foi realizada com auxílio de padrão interno (5 α -androstane) e foi usada a razão da área das m/z com o padrão interno (PI) com o propósito de reduzir eventuais erros decorrentes do efeito matriz que podem diminuir ou aumentar o sinal do analito. O 5 α -androstane possui estrutura semelhante aos DEs e não sofre derivatização. Através da análise de varredura no modo SCAN e SIM por CG-MS foi possível obter informações referente ao íon precursor de cada analito e seu tempo de retenção (Tabela 4). Observou-se que a razão m/z variando de 73 a 75 é comum para todos os DEs, tornando-o fragmento de confirmação do processo de derivatização, identificada como o íon $[\text{CH}_3=\text{Si}(\text{CH}_3)_2]^+$ e/ou $[\text{OH}=\text{Si}(\text{CH}_3)_2]^+$. O Coprostran-3-ol foi o disruptor com o maior íon principal, 370 m/z , produto da perda do íon com aproximadamente 18 m/z , e o Mestranol com o menor, 187 m/z , produto da perda do íon com aproximadamente 141 m/z (Figura 13).

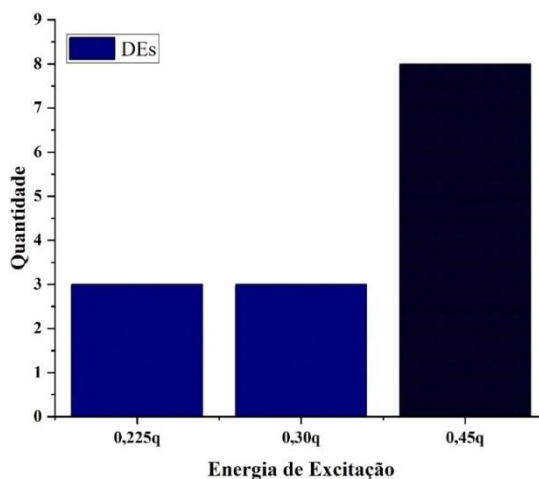
Métodos baseados em CG-MS têm sido amplamente utilizados por décadas para analisar diversos poluentes no meio ambiente (BALKAN E KARAAĞAÇLI, 2022; HRISTOZOVA *et al.*, 2024). Contudo, esses métodos podem apresentar desafios, como

falsos positivos e negativos causados por interferências iônicas (NASCIMENTO *et al.*, 2018). Além disso, em concentrações muito baixas, a precisão pode diminuir porque os íons da matriz interferente se tornam muito mais intensos do que os íons do poluente conforme a concentração se aproxima do limite de detecção. A complexidade das amostras ambientais também pode dificultar as análises, já que as matrizes podem conter íons com características e tempos de retenção semelhantes aos dos poluentes. Para lidar com essas limitações, técnicas com maior seletividade são importantes, pois ajudam a reduzir interferências. Por isso, sucessivas etapas de fragmentação no processo analítico aumentam a segurança na identificação e quantificação de poluentes.

O fragmento de íon mais intenso no espectro SIM dos compostos alvo foi selecionado como íon precursor em todos os casos para obter a sensibilidade máxima. Os parâmetros do MS/MS foram selecionados individualmente para cada analito (Gráfico 1). Para cada etapa da espectrometria de massa, é necessário determinar a janela para o isolamento, a qual foi fixada em 1. Para o Mestranol, por exemplo, com íon precursor igual a 187 m/z será isolado com uma largura de 1amu (unidade de massa atômica), como resultado, íons compreendidos entre 186,5 e 187,5amu serão retidos na armadilha de íons enquanto todos os outros íons são ejetados. A energia de excitação possui três níveis diferentes: a excitação máxima padrão é 0,45, esta define a faixa de massa mínima permitida para $\frac{1}{2}$ do valor do íon precursor; a energia média padrão é 0,30 reduz a faixa de massa mínima permitida para $\frac{1}{3}$ do íon precursor e, por fim, a energia mínima padrão é 0,225 reduz a faixa de massa mínima permitida para $\frac{1}{4}$ (SCIENTIFIC, 2012).

Gráfico 1 – Distribuição de disruptores de acordo com as condições estabelecidas: Voltagem CID, Variação: 1 a 5 eV e Energia de Excitação: Alta: 0,45q; Média: 0,30q; Baixa: 0,225q.





Fonte: Elaborado pela Autora.

O Gráfico 1 apresenta um resumo dos DEs de acordo com as condições escolhidas após avaliação. Uma voltagem CID de 1eV foi o necessário para fragmentação do PI e padrão surrogate (PS) ambas com energia de excitação máxima. Seguindo por 2eV, com Megestrol, 17 α -Metiltestosterona e Etisterona, 5 α -Androstran-3 β -ol com energia de excitação alta, média e baixa, respectivamente. Para 3eV, com Dienestrol e Coprostran-3-ol, Trembolona com energia alta, média e baixa, respectivamente. O 17 α -Ethinilestradiol foi o único a necessitar 4eV com energia baixa. Por fim, 5eV para Oxandrolona, Estrona, Dietilestilbestrol com energia alta e Mestranol com energia média. As maiores m/z variando de 333 a 370 necessitaram energia de excitação baixa a média exceto o 17 α -Metiltestosterona que também usaram energia média, somado a isso, os DEs com menor m/z (187 a 272 e 291) usaram alta energia de excitação.

Para todos os contaminantes, foram estabelecidos três íons de confirmação para identificação precisa do analito. O tempo de isolamento na armadilha de íons foi definido em 12ms de massa em todos os casos, a fim de obter uma boa sensibilidade e seletividade, mostrando-se suficiente para fragmentação. No que se refere à excitação, foi aplicada energia suficiente para uma quebra eficiente, mas evitando o desaparecimento completo do analito para auxiliar na precisão da quantificação. Após avaliação dos disruptores levando em consideração as condições estabelecidas, a escolha dos melhores parâmetros foi baseada na resolução dos picos e na abundância dos fragmentos produzidos. As configurações selecionadas para cada contaminante estão dispostos na Tabela 4 e Figura 13.

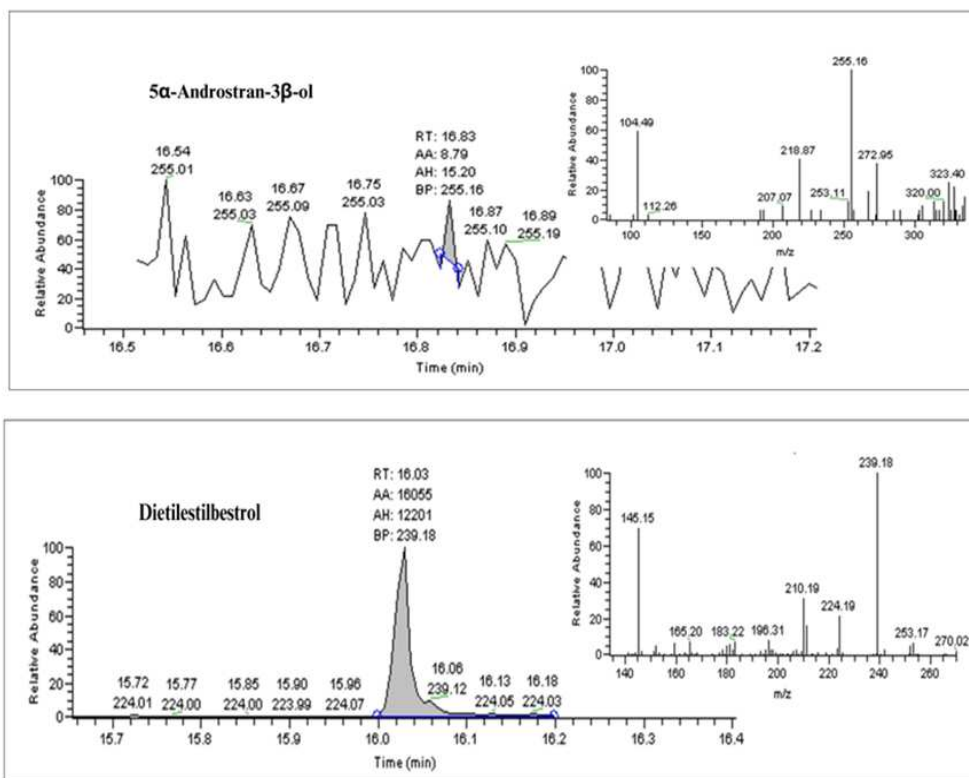
Tabela 4 - Configurações detalhadas das condições e quantificação dos íons de diagnóstico usados para a análise dos DEs por CG-MS/MS.

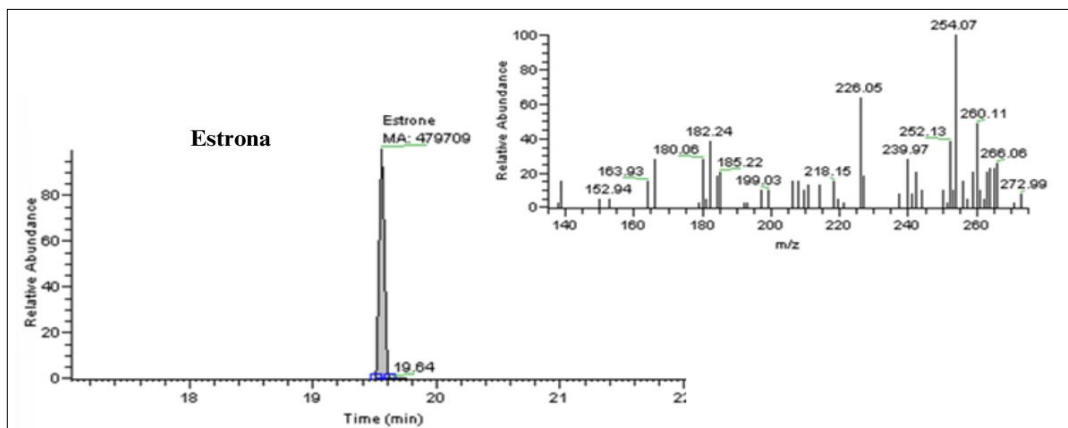
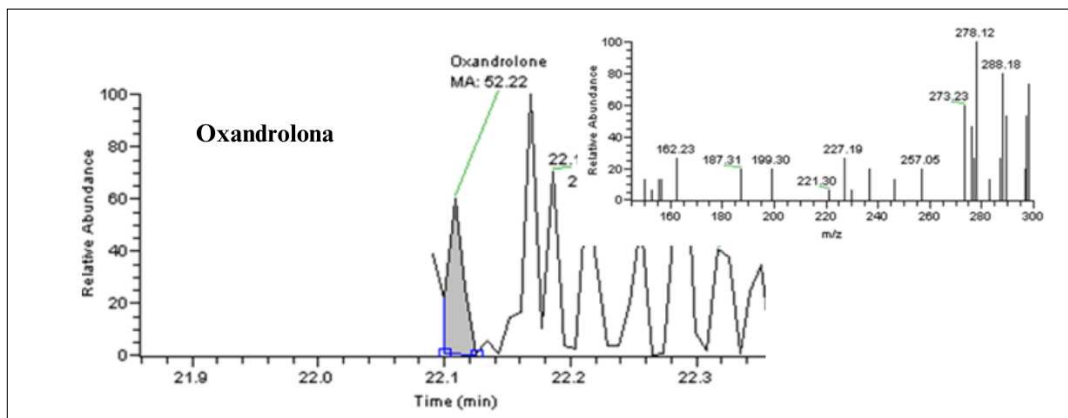
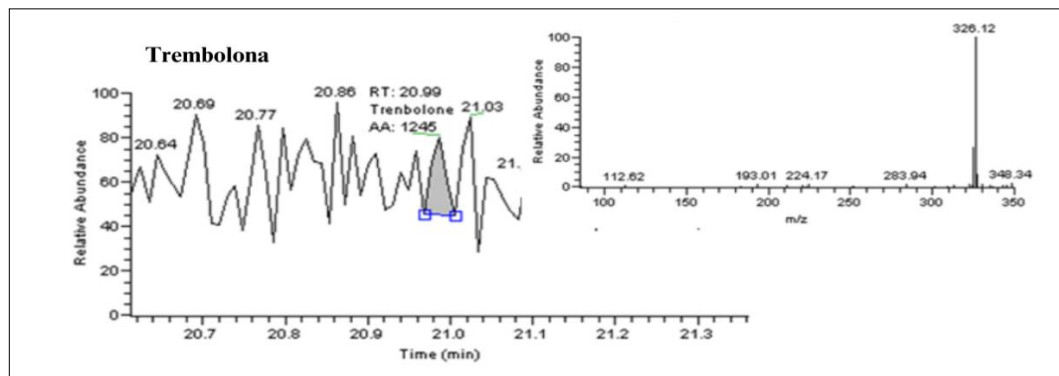
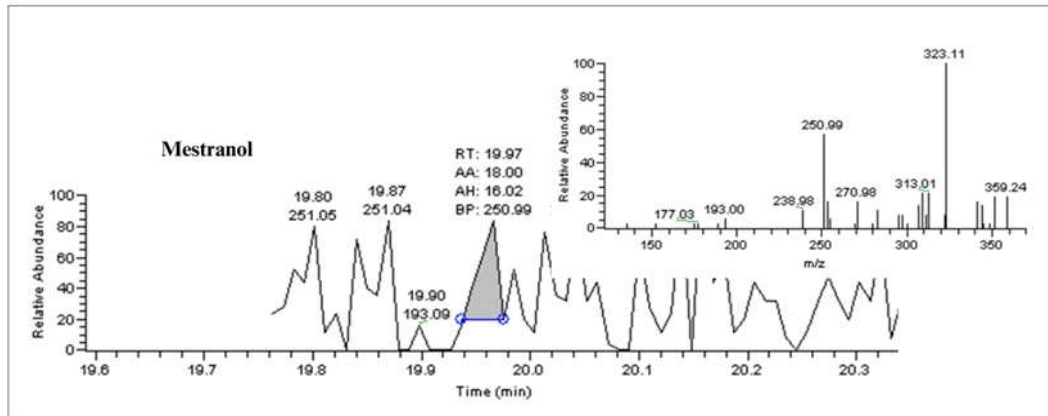
DEs	Largura (amu)	CID (eV)	EC (q)	Íon precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Íon Produto (m/z)	Íon Produto (m/z)	TR (min)
PI	1	1	0,45	245	189	148	203	14,61
DES	1	5	0,45	268	239	145	210	16,03
DNS	1	3	0,45	266	204	250	178	16,42
5 α -And	1	2	0,225	333	255	104	313	16,75
EE2	1	4	0,225	342	326	327	148	18,78
PS	1	1	0,45	272	256	228	272	19,64
E1	1	5	0,45	270	254	226	185	19,67
MeBB2	1	5	0,3	367	251	323	360	19,97
TB	1	3	0,225	342	325	310	237	20,95
MET	1	5	0,45	284	252	270	268	21,90
Etisterona	1	2	0,3	369	325	167	193	22,04
OXA	1	5	0,45	291	273	227	183	22,10
Cop	1	3	0,3	370	327	328	344	27,04
MGA	1	2	0,45	187	110	157	172	27,15

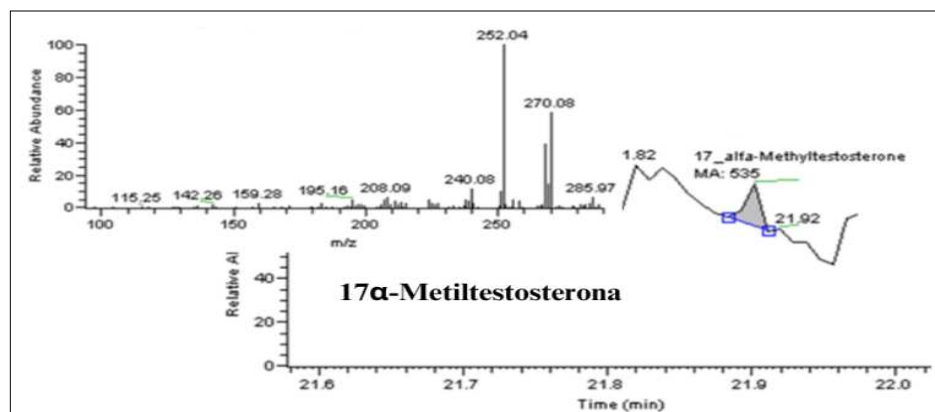
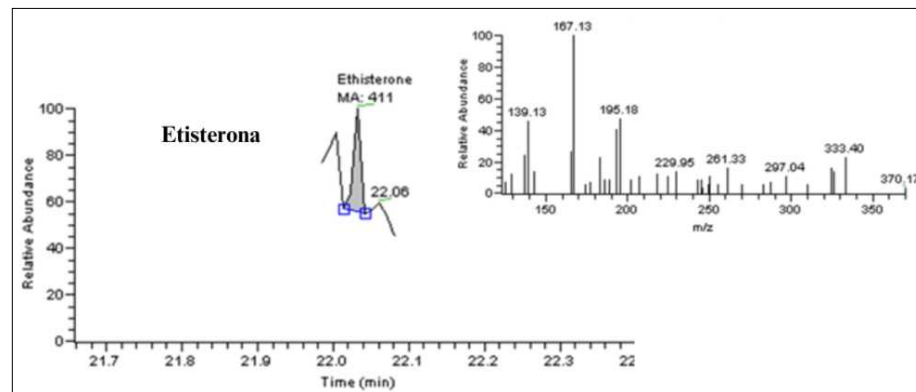
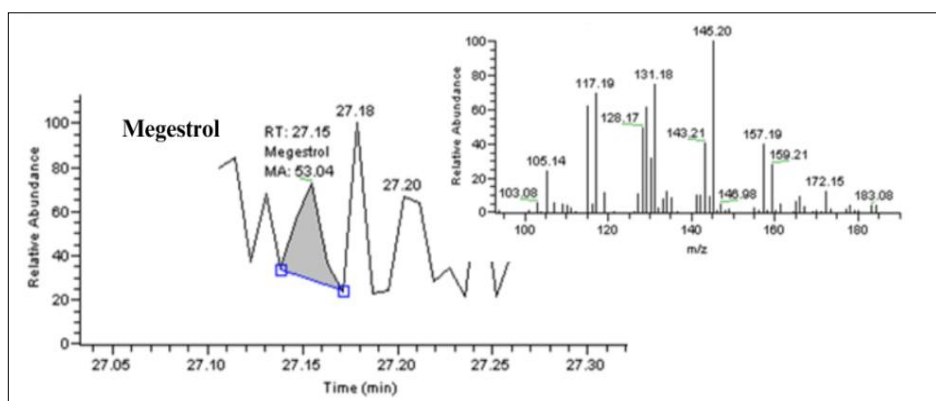
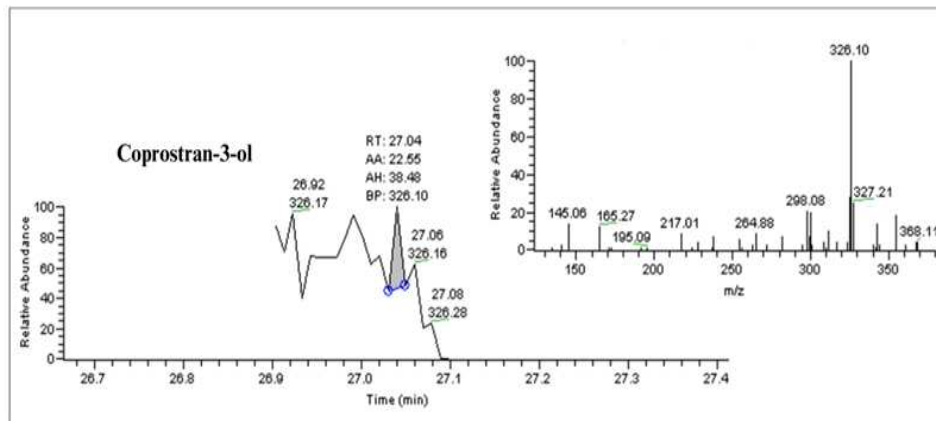
EC: Energia de Excitação. PI: 5 α -Androstane; PS: 2,4-Estrona D₂

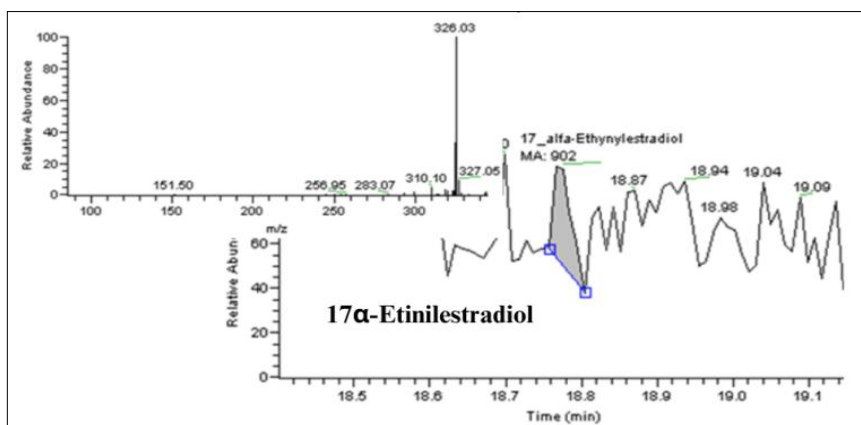
Fonte: Elaborado pela Autora.

Figura 13 – Cromatogramas dos íons de diagnóstico dos DEs por CG-MS/MS









Fonte: Elaborado pela autora.

5.2 Estudo de validação

O desempenho analítico da metodologia foi avaliado estimando-se sua seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão. De acordo com a AOAC (2002), a seletividade é a capacidade de um método quantificar um analito mesmo na presença de outras substâncias que podem causar interferências. Seguindo esse preceito, ensaios envolvendo os brancos instrumentais, brancos amostrais e solução com os analitos de interesse, demonstraram nenhuma presença de pico significativo nos tempos de retenção dos disruptores deste trabalho.

Tabela 5 - Parâmetros de desempenho do método por CG-MS/MS: Linearidade, LD e LQ.

DEs	Regressão Linear	R ²	R	Faixa (µg/mL)	LD (µg/mL)	LQ (µg/mL)
5α-And	$y = 0,0009x - 0,0004$	0,9842	0,9921	0 - 36	0,09	0,30
DES	$y = 0,0017x - 0,0001$	0,9933	0,9966	0 - 50	0,08	0,27
DNS	$y = 0,0011x - 0,0006$	0,9866	0,9933	0 - 36	0,05	0,41
EE2	$y = 0,0019x + 0,0048$	0,9815	0,9907	0 - 36	0,02	0,64
E1	$y = 0,0027x + 0,0014$	0,9945	0,9972	0 - 15	0,03	0,77
MeBB2	$y = 0,0034x + 0,0008$	0,9964	0,9982	0 - 50	0,01	0,17
TB	$y = 0,0072x - 0,0005$	0,9957	0,9978	0 - 15	0,09	0,11
MET	$y = 0,005x + 0,004$	0,9904	0,9952	0 - 20	0,02	0,83
Etist	$y = 0,0007x + 0,002$	0,9849	0,9924	0 - 40	0,01	0,74
OXA	$y = 0,0088x - 0,0026$	0,9994	0,9997	0 - 20	0,31	0,34
Cop	$y = 0,0002x + 0,0005$	0,9945	0,9972	0 - 50	0,01	0,87
MGA	$y = 0,0061x + 0,0015$	0,9907	0,9955	0 - 20	0,06	0,25

Fonte: Elaborado pela Autora.

De acordo com a Tabela 5, a faixa de linearidade das curvas analíticas para os 12 analitos variou de 0,5 a 50 µg/mL. A sensibilidade foi estimada com base nos limites de

detecção e quantificação (LD e LQ), para os LDs ocorreu variação de 0,01 a 0,31 µg/mL e para os LQs variação de 0,11 a 0,87 µg/mL.

Para o critério de precisão, especificamente quanto à repetibilidade, foram utilizados sete replicatas para três níveis de concentração (alta, média e baixa), conforme recomendado pelo INMETRO. A condição de repetibilidade refere-se ao mesmo procedimento de medição intra-dia (variabilidade dentro do mesmo dia) obtendo DPR% (desvio padrão relativo) variando de 0,09% a 7,11% para a concentração mais baixa; 0,01% a 7,20% para a média e 1,33% a 7,30% para a alta, sendo todas dentro do aceitável (Tabela 6).

Tabela 6 - Precisão do método por CG-MS/MS: repetibilidade.

DEs	Concentração (µg/mL)	DPR (%)	DEs	Concentração (µg/mL)	DPR (%)
5α-Androstran-3β-ol	0,5	0,09	TB	0,5	7,11
	5	0,01		5	4,89
	36	4,19		15	6,88
DES	0,5	7,10	MET	0,5	4,11
	5	5,09		5	4,50
	50	3,40		20	6,43
DNS	0,5	3,75	Etisterona	0,5	4,47
	5	0,27		5	6,51
	36	3,98		40	7,24
EE2	0,5	6,66	OXA	0,5	0,67
	5	5,68		5	1,38
	20	1,33		20	7,30
E1	0,5	2,46	Cop	0,5	6,80
	5	3,55		5	0,15
	15	1,36		50	5,24
MeBB2	0,5	6,18	MGA	0,5	0,17
	5	5,12		5	7,20
	20	2,72		20	6,85

Fonte: Elaborado pela Autora.

Por fim, com o objetivo de determinar a exatidão do método, foram realizados ensaios de recuperação para os disruptores estudados. Uma amostra de sedimento foi dopada com concentrações conhecidas dos padrões analíticos (10 µg/mL) e colocada para homogeneizar durante 24h, em seguida foi dada continuidade no procedimento de extração sólido-líquido. As taxas de recuperação (Tabela 7) encontradas para todos os analitos cada foi de: 5α-Androstran-3β-ol (94,40% ± 8,93), Dietilestilbestrol (84,18% ± 2,01), Dienestrol (88,73% ± 2,34), 17α-Metiltestosterona (87,50% ± 2,15), Estrona (94,28% ± 9,90), 17α-Etinilestradiol (96,05% ± 9,71), Trembolona (94,74% ± 9,46), Mestranol (89,01% ± 5,84), Oxandrolona

(94,90% $\pm$ 6,18), Etisterona (94,10% $\pm$ 2,76), Coprostran-3-ol (85,81% $\pm$ 4,53), Megestrol (84,24% $\pm$ 2,84) e 2,4-Estrona D₂ (85,73% $\pm$ 5,59), seguindo o recomendado (80% – 110%).

Tabela 7 - Exatidão do método por CG-MS/MS: recuperação.

DEs	Recuperação (%)	DEs	Recuperação (%)
Dietilestilbestrol	84,18 $\pm$ 2,01	Trembolona	94,74 $\pm$ 9,46
Dienestrol	88,73 $\pm$ 2,34	17α-Metiltestosterona	87,50 $\pm$ 2,15
5α-Androstran-3β-ol	94,40 $\pm$ 8,93	Etisterona	94,10 $\pm$ 2,76
17α-Ethinilestradiol	96,05 $\pm$ 9,71	Oxandrolona	94,90 $\pm$ 6,18
Estrona	94,28 $\pm$ 9,90	Coprostran-3-ol	85,81 $\pm$ 4,53
2,4-Estrona D₂ *	85,73 $\pm$ 5,59	Megestrol	84,24 $\pm$ 2,84
Mestranol	89,01 $\pm$ 5,84		

* 2,4-Estrona D₂ é o padrão *surrogate* da utilizado na metodologia.

Fonte: Elaborado pela Autora.

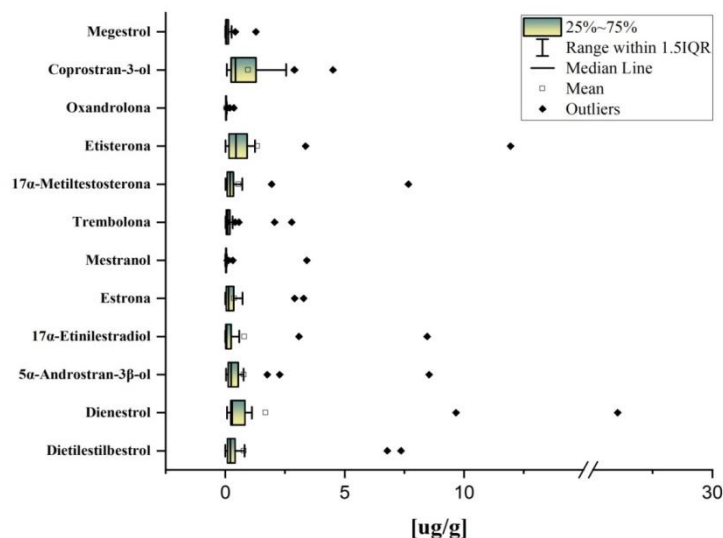
5.3 Determinação de disruptores endócrinos em amostras de sedimento

Após validação, o método proposto foi aplicado em 40 amostras de sedimentos de quatro regiões do nordeste: 6 do Rio Jaguaribe (J), 7 do Delta do Parnaíba (DP), 5 do Rio Cocó (C) e 22 da Plataforma continental interna de Fortaleza/Estuário do Rio Ceará (P/E), sendo este último comparativo chuvoso/seco.

A Área de Proteção Ambiental do Delta do Parnaíba foi criada conforme o Decreto s/n de 28.08.1996 cujo objetivo é garantir a preservação sustentável, exploração e conservação dos recursos naturais renováveis utilizados pelas populações tradicionais, incluindo pescadores, catadores de crustáceos e pequenos agricultores (ICMBio, 2020). A Área de Proteção Ambiental da Canoa Quebrada foi criada pela lei Municipal de Aracati n° 40/98, sua extensão vai do Porto Canoa à foz do Rio Jaguaribe onde inclui as mais variadas paisagens (MELLO *et al.*, 2024). O rio Cocó, faz parte da bacia dos rios do litoral cearense, portanto com o intuito de proteger e conservar os insumos existentes recuperando e mantendo o equilíbrio ecológico da região, os decretos N° 20.253/89 e N° 22.587/93 declaram o interesse social de desapropriação das áreas de terra compreendidas no contorno do Projeto do Parque Ecológico do Cocó e sua ampliação abrangendo o trecho da BR-116 à foz do Rio Cocó (BRASIL, 1990). Já a Plataforma continental interna de Fortaleza/Estuário do Rio Ceará, é uma área bastante abrangente e de grande proximidade a urbanização. É um ecossistema essencial tanto para o meio ambiente quanto para a vida das pessoas que dependem dele para

atividades como turismo, pesca e operações portuárias, mas sofre com o despejo de efluentes, descarte de resíduos sólidos e os impactos causados pelas dragagens (FREITAS, 2015).

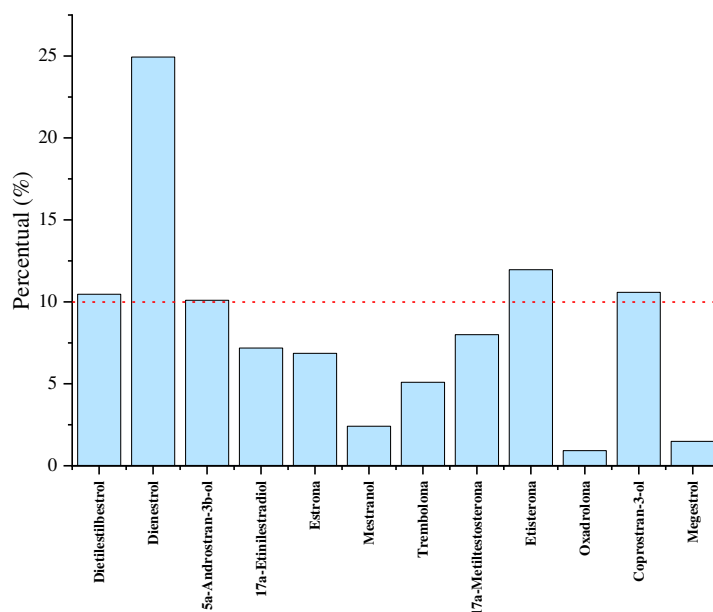
Gráfico 2 – Concentrações ($\mu\text{g/g}$) dos disruptores endócrinos nos sedimentos.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Neste estudo, como observado pelo Gráfico 2, o Dienestrol apresentou o maior nível de concentração entre os compostos analisados. Além disso, a variabilidade nos dados, especialmente pelos *outliers*, evidência que certas áreas apresentam contaminação muito acima da média, sugerindo pontos críticos de poluição.

Gráfico 3 – Percentual (%) dos DEs para as amostras de sedimentos.

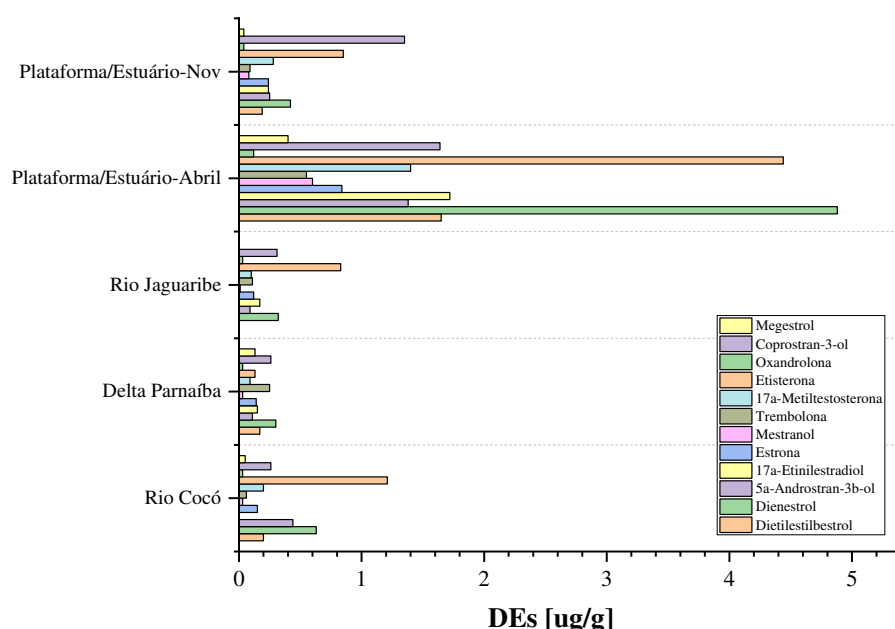


Fonte: Elaborado pela Autora.

No Gráfico 3 e Tabela S2, para o grupo amostral total, os disruptores mais notórios são Dienestrol com 24,94% seguido da Etisterona, Coprostran-3-ol, Dietilestilbestrol e 5 α -Androstran-3 β -ol, com 11,96%, 10,58%, 10,46% e 10,10%, respectivamente. A maior concentração observada foi em uma amostra da Plataforma/Estuário, especificamente para o Dienestrol (26,03 $\mu\text{g/g}$). Outros disruptores se destacam por níveis elevados como a Etisterona também em uma amostra da Plataforma/Estuário (11,95 $\mu\text{g/g}$). Ambos são hormônios sintéticos normalmente utilizados para tratamento hormonal. Em amostras de sedimento do estuário de Humen, na China (YUAN *et al.*, 2015) foi identificada a presença do poluente Dienestrol, juntamente com Estrona, Trembolona e Dietilestilbestrol resultado semelhante em outros estudos com o de Liao *et al.* (2024) no rio Xiangjiang e Ismail *et al.* (2019) na Malásia.

O Gráfico 4, Tabela S5 e S6 é possível observar um comparativo por localidade no qual a Plataforma/Estuário no mês de Abril apresenta os maiores índices de contaminação, enquanto, os Rios Jaguaribe, Delta Parnaíba e Cocó apresentarem menores concentrações com destaque para a presença de Estrona, Oxandrolona e Megestrol.

Gráfico 4 – Níveis de DEs das amostras de sedimentos por localidade.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Os hormônios são compostos químicos secretados por glândulas endócrinas e liberados na corrente sanguínea administrando diferentes funções no organismo (PAZ *et al.*, 2025). De acordo com Aires (2018) e Silverthorn (2017), os hormônios sexuais masculinos

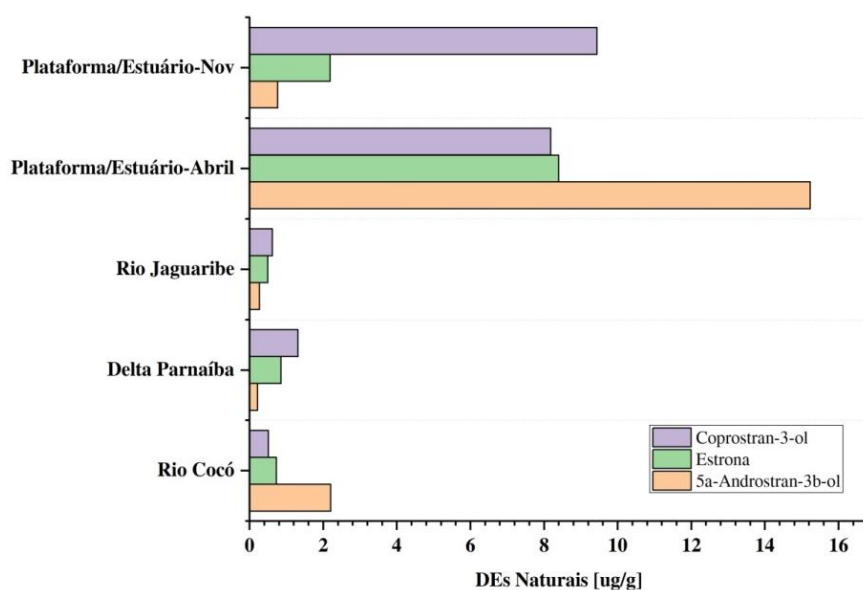
chamados androgênios são hormônios que promovem e mantem características masculinas, sendo a testosterona o mais abundante e sua conversão por enzimas produz esteroides ativos como o estradiol e di-hidrotestosterona (DHT). Os hormônios sexuais femininos exercem efeitos no organismo na reprodução e no crescimento, além de outras funções corporais (MONTAGNER *et al.*, 2011). Os três estrogênios essenciais na mulher são β -estradiol, estrona e estriol, derivados do colesterol originário de dieta ou formado pelo fígado, somado a esses hormônios, a androstenediona consiste no principal androgênio produzido pelos ovários (AIRES, 2018). Diante dessa premissa, os disruptores deste trabalho são divididos em naturais e sintéticos como descrito na Tabela 8.

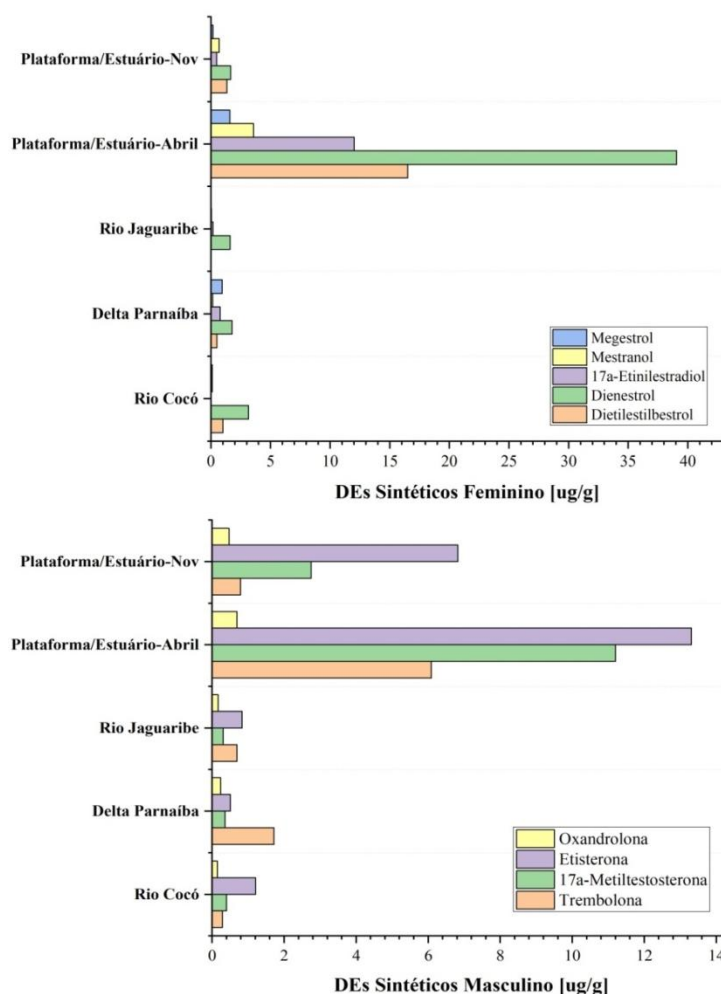
Tabela 8 – Características dos disruptores analisados.

Naturais	Sintéticos	
	Estrogênios e Progestinas (Feminino)	Androgênios e Esteroides Anabolizantes (Masculino)
Estrona	Dietilestilbestrol	Trembolona
5 α -Androstan-3 β -ol	Dienestrol	17 α -Metiltestosterona
Coprostan-3-ol	17 α -Ethinilestradiol	Oxandrolona
	Mestranol	Etisterona
	Megestrol	

Fonte: US, 2024; Aires, 2018.

Gráfico 5 - Concentrações individuais dos Σ DEs para hormônios naturais e sintéticos.



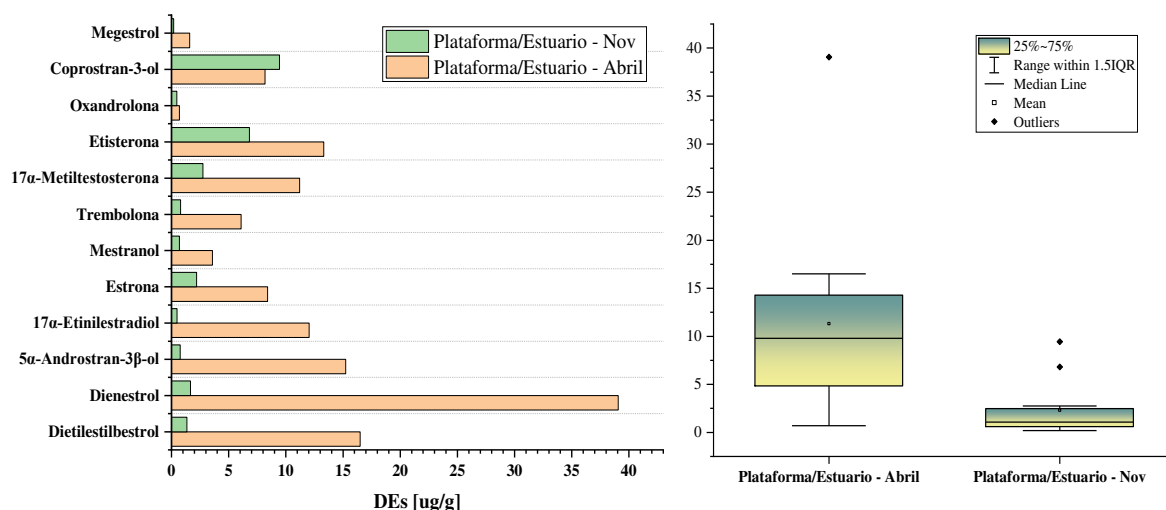


Fonte: Elaborado pela Autora.

Em relação aos hormônios naturais, observa-se o destaque do 5α -Androstran- 3β -ol em amostra da Plataforma/Estuário ($8,53 \mu\text{g/g}$). Entretanto, o Coprostan- 3-ol foi o contaminante com maior percentual em comparativo com o Σ DEs naturais totais ($39,02\%$), este poluente em específico é um esterol fecal amplamente utilizado para a determinação da poluição de esgoto em águas e sedimentos (LEEMING *et al.*, 1996). O Cop é detectado predominantemente em fezes humanas, sendo produzido pela redução enzimática do colesterol no intestino e utilizado como indicador de contaminação fecal decorrente do despejo de efluentes domésticos em ambientes aquáticos (ARAÚJO *et al.*, 2021). Os resultados deste estudo podem indicar contaminação domestica, especialmente na Plataforma/Estuário, uma região próxima à urbanização. No entanto, devido ao fato de que a hidrogenação anaeróbica ou microbiana podem também produzir esse disruptor em sedimentos (HE *et al.*, 2018), as análises com razões diagnóstico são necessárias para confirmação.

Com relação aos hormônios sintéticos, o Dienestrol é o poluente com maior percentual dentre o total de DEs sintéticos com 34,64% ($47,28 \mu\text{g/g} \pm 5$), destaque também para Etisterona com 16,61% ($22,68 \mu\text{g/g} \pm 2,76$). Referente aos esteroides androgênicos anabólicos, Trembolona e Oxandrolona, todas as amostras apresentaram concentrações significativas desses disruptores com $9,58 \mu\text{g/g} \pm 0,53$ e $1,72 \mu\text{g/g} \pm 0,06$, respectivamente. Devido ao aumento do uso de anabolizantes sem prescrição médica mundialmente, com 6,4% de prevalência global ao longo da vida masculina e 1,6% feminina (HARRIES *et al.*, 2024), o descarte indevido somado a poluição por efluentes são as principais causas para a presença desses poluentes no meio ambiente. De acordo com *World Anti Doping Agency* (WADA, 2024), esses dois contaminantes são proibidos em competições e fora delas, somado a isso, a Resolução (RE) Nº 791/2021 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) proibiu a comercialização, distribuição, fabricação, propaganda e uso da Trembolona. Porém, a Oxandrolona é um medicamento com atividade mais leve ainda comercializada e usada preferencialmente por mulheres, no tratamento de dor óssea, compensação do catabolismo proteico e síndrome de Turner (SIDDIQUI *et al.*, 2021 e OJOGHORO *et al.*, 2021). Portanto, a identificação e quantificação dessas substâncias nessas áreas são preocupantes.

Gráfico 6 – Níveis para Σ DEs referente à pluviosidade.



Fonte: Elaborado pela Autora.

Por fim, outro fator que influencia o transporte de contaminantes são as chuvas, pois a água é o agente transportador de contaminantes. A cidade de Fortaleza possui dois períodos pluviométricos bem definidos: o chuvoso, que abrange o primeiro semestre do ano de fevereiro a maio e, o período seco, que ocorre no segundo semestre do ano de agosto a

novembro (MOURA, 2015). No Gráfico 6, é possível observar um comparativo entre os DEs durante as duas campanhas da Plataforma/Estuário, abril (chuvoso) e novembro (seco), por meio dele, é possível observar a expressiva diferença de abril ($83,28\% \pm 20,92$) sobre novembro ($16,72\% \pm 1,42$). Dando destaque para os compostos como o Dietilestilbestrol e o Dienestrol (estrogênios sintéticos) com concentrações mais significativas no período chuvoso. A presença do Coprostan-3-ol em níveis elevados nos dois períodos demonstra que independentemente da sazonalidade a entrada de esgoto doméstico foi constante.

6 CONCLUSÃO

Mediante os parâmetros explanados neste trabalho, é possível afirmar que, para os 12 disruptores endócrinos, foi possível aplicar a derivatização pelo mecanismo de sililação permitindo a aplicação dos padrões nas técnicas cromatográficas. Para as análises de CG-MS/MS, após avaliação dos DEs levando em consideração os parâmetros de energia de excitação e a voltagem CID foi possível quantificar os íons de diagnóstico utilizando os dados de configuração escolhidos.

Além disso, os DEs estudados no método para CG-MS/MS, não sofreram co-eluição, a fragmentação foi eficiente permitindo a identificação dos compostos pelo TR e m/z e as curvas de calibração apresentaram boa linearidade ($>0,99$) com faixa variando de 0,5 a 50 $\mu\text{g/mL}$, DPR% ($<7,8\%$) e, LD e LQ variando de 0,01 a 0,31 $\mu\text{g/mL}$ e 0,11 a 0,87 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Referente às taxas de recuperação foi possível observar que todos os disruptores apresentaram valores dentro da faixa aceitável de 80% a 110%.

Após o estabelecimento e validação da metodologia foi possível identificar os níveis dos disruptores nas amostras de sedimento das regiões do Delta do Parnaíba, Jaguaribe, Rio Cocó e da Plataforma continental interna de Fortaleza/Estuário do Rio Ceará, sendo identificados maiores concentrações dos poluentes: Dienestrol, Etisterona, Coprostran-3-ol, Dietilestilbestrol e 5 α -Androstran-3 β -ol dentro desse grupo amostral.

Por fim, o método proposto demonstra-se aplicável para a identificação de poluentes em matrizes de sedimento. Sua eficácia permite detectar compostos específicos com precisão e exatidão, contribuindo para o monitoramento da qualidade ambiental e a aplicação de estratégias de remediação.

REFERÊNCIAS

AIRES, M.M. **Fisiologia**. Ed. Guanabara Koogan. 5ª edição, Rio de Janeiro, 2018. ISBN 978-85-277-3401-1

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **AOAC Official methods of analysis. Appendix D: guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis**. Washington: AOAC, 2002.

ALPENDURADA, M. F. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. **Journal of Chromatography. A**, v. 889, n. 1-2, p. 3–14, 2000. DOI: [10.1016/s0021-9673\(00\)00453-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(00)00453-2).

AL SHARABATI, M. *et al.* Biodegradable polymers and their nano-composites for the removal of endocrine-disrupting chemicals (EDCs) from wastewater: a review. **Environmental Research**. v. 202, p. 111694, 2021. DOI: [10.1016/j.envres.2021.111694](https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111694).

ALSEFRI, S. *et al.* Development of the QuEChERS extraction method for the determination of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) in soil samples by using GC-MS. **Separations**. v. 10, n. 4, p. 250, 2023. DOI: [10.3390/separations10040250](https://doi.org/10.3390/separations10040250).

ALZOLA-ANDRÉS, M. *et al.* El impacto ambiental de los medicamentos: una mirada desde la farmacia hospitalaria. **Farmacia Hospitalaria**, v. 48, p. S13–S20, jul. 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.farma.2023.09.010>.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; ŠTAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003. DOI: [10.1093/jaoac/86.2.412](https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412).

ARAÚJO, M. P., HAMACHER, C., FARIAS, C. O., & SOARES, M. L. G. Fecal sterols as sewage contamination indicators in Brazilian mangroves. **Marine pollution bulletin**. 2021, 165, 112149. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2021.112149](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112149)

ASON, B.; ARMAH, F. A.; ESSUMANG, D. K. Characterization and quantification of endocrine disruptors in female menstrual blood samples. **Toxicology Reports**, v. 9, p. 1877–1882, 2022. DOI: [10.1016/j.toxrep.2022.10.007](https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.10.007).

ATAPATTU, Sanka. Pollutant analysis applications of solid-phase analytical derivatizations. **Journal of Chromatography Open**, v. 3, 2023. DOI: [10.1016/j.jcoa.2023.100080](https://doi.org/10.1016/j.jcoa.2023.100080).

ATTILA, Z. *et al.* Endocrine disrupting effects on morphological synaptic plasticity. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 75, p. 101157–101157, 1 out. 2024.

BALKAN, TARIK & KARAAĞAÇLI, HASAN. **Determination of 301 pesticide residues in tropical fruits imported to Turkey using LC–MS/MS and GC-MS**. Food Control. 147. 109576.2022. DOI: [10.1016/j.foodcont.2022.109576](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109576).

BERNARDINA, N. R. D. *et al.* Oxandrolone treatment in juvenile rats induced anxiety-like behavior in young adult animals. **Neuroscience Letters**, v. 761, p. 136104, 2021. DOI: [10.1016/j.neulet.2021.136104](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136104).

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651-666, 2007. DOI: [10.1590/S0100-40422007000300027](https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000300027).

BOMBARDELLI, R. A. *et al.* Idade de maior sensibilidade de tilápias-do-nylo aos tratamentos de masculinização por banhos de imersão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 1–6, 1 fev. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000100001>.

BRASIL. Decreto nº 20.253, de 5 de setembro de 1989. **Declara de interesse social para fins de desapropriação as áreas de terra que indica e dá outras providências**. Diário Oficial da União. 23 julho de 1990.

CHRISTIN-MAITRE, S. **History of oral contraceptive drugs and their use worldwide. Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 27, n. 1, p. 3–12, 2013. DOI: [10.1016/j.beem.2012.11.004](https://doi.org/10.1016/j.beem.2012.11.004).

DAVIS, S. R.; JANE, F. Drugs for the treatment of menopausal symptoms. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 11, p. 1329–1341, 2010. DOI: [10.1517/14656561003742962](https://doi.org/10.1517/14656561003742962).

DEMENEIX, B.; MEDICAL RESEARCH, I. **Endocrine disruptors: from scientific evidence to human health protection**. Belgium: EPRS: European Parliamentary Research Service, 2019. DOI: <https://coilink.org/20.500.12592/j1dk9r>. Acesso em: 24 mar. 2023.

DENUZIÈRE, A.; GHERSI-EGEA, J. F. Cerebral concentration and toxicity of endocrine disrupting chemicals: the implication of blood-brain interfaces. **Neurotoxicology**, v. 91, p. 100-118, 2022. DOI: [10.1016/j.neuro.2022.04.004](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2022.04.004).

DIMPE, K. M.; NOMNGONGO, P. N. Current sample preparation methodologies for analysis of emerging pollutants in different environmental matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 82, 2016, p. 199-207. DOI: [10.1016/j.trac.2016.05.023](https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.05.023).

EMWAS, A. *et al.* **Gas Chromatography–Mass Spectrometry of Biofluids and Extracts**. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.), v. 1277, p. 91-112, 2015. DOI: [10.1007/978-1-4939-2377-9_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2377-9_8).

FREITAS, Pedro Paulo de. **Modelagem hidrodinâmica da circulação sobre a plataforma continental do Ceará** - Brasil. 2015. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

GAFFNEY, V. *et al.* Análise de fármacos em águas por SPE-UPLC-ESI-MS/MS. **Química Nova**, v. 37, p. 138-149, 2014. DOI: [10.1590/S0100-40422014000100023](https://doi.org/10.1590/S0100-40422014000100023).

GÁLVEZ-ONTIVEROS, Y.; PÁEZ, S.; MONTEAGUDO, C.; RIVAS, A. Endocrine disruptors in food: impact on gut microbiota and metabolic diseases. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1158, 2020. DOI: [10.3390/nu12041158](https://doi.org/10.3390/nu12041158).

GOEURY, K.; VO DUY, S.; MUNOZ, G.; PRÉVOST, M.; SAUVÉ, S. Assessment of automated off-line solid-phase extraction LC-MS/MS to monitor EPA priority endocrine disruptors in tap water, surface water, and wastewater. **Talanta**, v. 241, p. 123216, 1 maio 2022. DOI: [10.1016/j.talanta.2022.123216](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123216).

GOGOI, A.; *et al.* Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: a review. **Groundwater for Sustainable Development**, v. 6, p. 169-180, 2018. DOI: [10.1016/j.gsd.2017.12.009](https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009).

GOLDZIEHER, J. W.; BRODY, S. A. Pharmacokinetics of ethinyl estradiol and mestranol. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 163, n. 6 Pt 2, p. 2114–2119, 1 dez. 1990. DOI: [10.1016/0002-9378\(90\)90550-q](https://doi.org/10.1016/0002-9378(90)90550-q).

GORE, A. C. *et al.* **Introdução aos disruptores endócrinos (DEs): um guia para governos e organizações de interesse público**. In: Endocrine Society. 2014. p. 1-76.

GUAN, T. *et al.* Multi-residue method for the analysis of stilbene estrogens in milk. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, p. 744, 2019. DOI: [10.3390/ijms20030744](https://doi.org/10.3390/ijms20030744).

GUYTON, Arthur C.; HALL, John E. **Tratado de fisiologia médica**. 13. ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier Ltda, 2017. ISBN 9788535262858.

HARRIES, RL; NORMAN; C; *et al.* Detection of anabolic-androgenic steroids in e-cigarettes seized from prisons: A case study. **Forensic Sci Int.** 2024;356:111965. DOI: [10.1016/j.forsciint.2024.111965](https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2024.111965)

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora SA, 2012. ISBN 9788521620426.

HE, D., ZHANG, K., TANG, J., CUI, X., & SUN, Y. Using fecal sterols to assess dynamics of sewage input in sediments along a human-impacted river-estuary system in eastern China. **The Science of the total environment**. 2018, 636, 787–797. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.04.314](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.314)

HERNANDO, M. D. *et al.* Comparative study of analytical methods involving gas chromatography–mass spectrometry after derivatization and gas chromatography–tandem mass spectrometry for the determination of selected endocrine disrupting compounds in wastewaters. **Journal of Chromatography A**, v. 1047, n. 1, p. 129–135, ago. 2004. DOI: [10.1016/j.chroma.2004.06.123](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.06.123).

HRISTOZOVA, A., SIMITCHIEV, K.K., KMETOV, V., & ROSENBERG, E. Compatibility of cloud point extraction with gas chromatography: Matrix effects of Triton X-100 on GC-MS and GC-MS/MS analysis of organochlorine and organophosphorus pesticides. **Talanta**, 269, 125445. 2024. DOI: [10.1016/j.talanta.2023.125445](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125445)

HUANG, C. H.; RENEW, J. E.; PINKSTON, K.; SEDLAK, D. Occurrence and fate of antibiotic compounds in municipal wastewater and animal waste. **Water Environment Federation**, v. 11, p. 686-697, 2001. DOI: [10.2175/193864701790860236](https://doi.org/10.2175/193864701790860236).

ICMBIO. Instituto Chico Mendes de Conservação ao da Biodiversidade. **Plano de Manejo da Área de Proteção Ambiental Delta do Parnaíba**. Brasília, DF. 2020. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs -planos-de-manejo/plano_de_manejo_da_apo_delta_do_parnaiba.pdf.

INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY (IPCS). **Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors**. Geneva: World Health Organization, 2002. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/67357>.

IPBES. **Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services**. Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, v. 1, 25 nov. 2019. DOI: [10.5281/zenodo.3553579](https://doi.org/10.5281/zenodo.3553579).

ISMAIL, N. A. H. *et al.* Quantification of multi-classes of endocrine-disrupting compounds in estuarine water. **Environmental Pollution** (Barking, Essex: 1987), v. 249, p. 1019–1028, 2019. DOI: [10.1016/j.envpol.2019.03.089](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.089).

JOÃO, J. J. *et al.* Processo de eletrocoagulação-flotação: investigação dos parâmetros operacionais para o tratamento de águas residuais da indústria de pescados. **Química Nova**, v. 41, n. 2, p. 163–168, 2018. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170166>.

KAPPUR, B.; HALKET, J. **Handbook of Derivatives for Chromatography**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 1993. ISBN 978-0-471-92699-3.

KAVLOCK, R. J.; DASTON, G. P.; DEROSA, C. *et al.* Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, supl. 4, p. 715-740, 1996.

KLEIN, M. *et al.* Integrating Green and White Analytical Principles for Endocrine Disruptor Analysis in Aqueous Matrices: From Routine Methods to Emerging Technologies. **Green Analytical Chemistry**, v. 12, March 2025, 100186 2024. DOI: [10.1016/j.greeac.2024.100186](https://doi.org/10.1016/j.greeac.2024.100186).

KÜHNEL, E. *et al.* Mechanism of methyl esterification of carboxylic acids by trimethylsilyldiazomethane. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 46, n. 37, p. 7075–7078, 2007. DOI: [10.1002/anie.200702131](https://doi.org/10.1002/anie.200702131).

LEEMING, R., BALL, A., ASHBOLT, N., NICHOLS, P. Using faecal sterols from humans and animals to distinguish faecal pollution in receiving waters. **Water Res.** 1996, 30, 2893–2900. DOI: [10.1128/AEM.70.2.814-821.2004](https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.814-821.2004)

LIAO Z, JIAN Y, LU J, *et al.* Distribution, migration patterns, and food chain human health risks of endocrine-disrupting chemicals in water, sediments, and fish in the Xiangjiang River. **Sci Total Environ.** 2024. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2024.172484](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172484)

LÓPEZ-VELÁZQUEZ, K. *et al.* Endocrine-disrupting compounds in urban rivers of the southern border of Mexico: Occurrence and ecological risk assessment. **Emerging Contaminants**, v. 11, n. 1, 2025. DOI: [10.1016/j.emcon.2024.100456](https://doi.org/10.1016/j.emcon.2024.100456).

LZAOD, S.; DUTTA, T. Biotransformation of 4,4'-dihydroxybiphenyl and dienestrol by laccase from *Trametes versicolor*. **Journal of Hazardous Materials Advances**, v. 8, p. 100169, nov. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100169>.

MANAHAN, S. E. **Toxicological chemistry and biochemistry**. 3rd ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 2003. ISBN 1-56670-618-1.

MARKEY, C. M.; RUBIN, B. S.; SOTO, A. M.; SONNENSCHN, C. Endocrine disruptors: from Wingspread to environmental developmental biology. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 83, n. 1-5, p. 235-244, dez. 2002. DOI: 10.1016/s0960-0760(02)00272-8.

MARÍN-SÁEZ, J. *et al.* Analytical challenges and opportunities in the study of endocrine disrupting chemicals within an exposomics framework. **Talanta**, v. 279, 24 jul. 2024. DOI: [10.1016/j.talanta.2024.126616](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126616).

MELLO, LC *et al.* Assessment of cancer and dietary risks in commercially valuable marine organisms in coast of a region of future exploration (Equatorial South Atlantic). **Journal of Environmental Management**. 2024. DOI:10.1016/j.jenvman.2024.121991

MONTAGNER C C, JARDIM W F. Spatial and Seasonal Variations of Pharmaceuticals and Endocrine Disruptors in the Atibaia River, São Paulo State (Brazil). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2011, v. 22, n. 8, p. 1452–1462.

MOURA, Ícaro & dos Santos, Daiane & Pinheiro, Francisco & de Oliveira, Jose Carlos. Caracterização dos períodos seco e chuvoso da cidade de Fortaleza (CE). **Ciência e Natura**. 2015. 37. 10.5902/2179460X16206

NASCIMENTO, A. C. A. DE L. DO; BARBOSA, P. G. A.; SILVA, V. P. A. DA. **Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos**. Imprensa Universitária, 2018. ISBN 978-85-7485-326-0.

OJOGHORO, JO *et al.* Steroid hormones in the aquatic environment. **Sci Total Environ**. 2021;792:148306. DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.148306

ORATA, F. **Derivatization reactions and reagents for gas chromatography analysis. Advances in Gas Chromatography—Progress in Agricultural, Biomedical, and Industrial Applications**, p. 83-107, 2012. DOI: 10.5772/33098.

ORIVE, G. *et al.* Greening the pharmacy. **Science**, v. 377, n. 6603, p. 259–260, 2022. DOI: 10.1126/science.abp9554.

PADRÓN, M. E. *et al.* Microextraction techniques coupled to liquid chromatography with mass spectrometry for the determination of organic micropollutants in environmental water samples. **Molecules** (Basel, Switzerland), v. 19, n. 7, p. 10320–10349, 2014. DOI: [10.3390/molecules190710320](https://doi.org/10.3390/molecules190710320).

PAZ, J. de B.; ROSA, M. F. da; HALIM, B. J.; LOBO, V. da S. 17 α -metiltestosterona, principais aplicações e ameaças ao meio ambiente: uma breve revisão da literatura. **Disciplinarum Scientia | Naturais e Tecnológicas**, Santa Maria (RS, Brasil), v. 26, n. 1, p. 45–63, 2025. DOI: 10.37779/nt.v26i1.5054.

PESSOA, G. de P. *et al.* Desenvolvimento de metodologia para avaliar remoção de estrogênios em estações de tratamento de esgotos. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 968-973, 2012. DOI: [10.1590/S0100-40422012000500019](https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000500019).

PIRES, J. F. *et al.* Efeitos colaterais associados ao uso do acetato de trembolona em praticantes de musculação. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 6, p. 276–285, 2022. DOI: [10.51891/rease.v8i6.5828](https://doi.org/10.51891/rease.v8i6.5828).

PLUNK, E. C.; RICHARDS, S. M. Endocrine-disrupting air pollutants and their effects on the hypothalamus-pituitary-gonadal axis. **International Journal of Molecular Sciences**, 2020. DOI: [10.3390/ijms21239191](https://doi.org/10.3390/ijms21239191).

REIS FILHO, R. W.; ARAÚJO, J. C. de; VIEIRA, E. M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 817-822, 2006. DOI: [10.1590/S0100-40422006000400032](https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000400032).

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, set. 2004. DOI: [10.1590/S0100-40422004000500017](https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017).

SANTANA-MAYOR, A. *et al.* Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 116, July 2019, p. 214-235 2019. DOI: [10.1016/j.trac.2019.04.018](https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.018).

SANTANA-MAYOR, A. *et al.* Updated overview of QuEChERS applications in food, environmental and biological analysis (2020–2023). **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 169, p. 117375, 2023. DOI: [10.1016/j.trac.2023.117375](https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117375).

SAVARIS, D. L.; MATOS, R. DE.; LINDINO, C. A. Degradation of 17 α -methyltestosterone by hydroxyapatite catalyst. **Revista Ambiente & Água**, v. 13, n. 1, p. e2103, 2018. DOI: [10.4136/ambi-agua.2103](https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2103).

SCHREIBER, E. *et al.* Maternal exposure to mixtures of dienestrol, linuron and flutamide. Part I: Feminization effects on male rat offspring. **Food and Chemical Toxicology**, v. 139, p. 111256–111256, 12 mar. 2020. DOI: [10.1016/j.fct.2020.111256](https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111256).

SCHUMMER, C. *et al.* Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis. **Talanta**, v. 77, n. 4, p. 1473–1482, 2009. DOI: [10.1016/j.talanta.2008.09.043](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.09.043).

SIDDIQUI, Mahwish & Wahab *et al.* Biocatalytic transformation of steroidal drugs oxandrolone and ganaxolone, and aromatase inhibitory activity of transformed products. **Phytochemistry Letters**. 2021. 44. 137-141. DOI: [10.1016/j.phytol.2021.06.001](https://doi.org/10.1016/j.phytol.2021.06.001).

SILVA, C. G. A. da; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665–676, 2011. DOI: [10.1590/S0100-40422011000400020](https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000400020).

SILVA, V. A. G.; AMORIM, F. S.; PEREIRA, E. F.; SOUZA, J. R.; LOUVANDINI, H. Determinação do hormônio 17-alfa-metiltestosterona em amostras de peixe. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 9, n. 3, p. 61-61, 2011. Disponível em: <https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/95>. Acesso em: 2024.

SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Human physiology: an integrated approach**. 7th ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. ISBN 9780321981226.

SIMAZAKI, D. *et al.* Occurrence of selected pharmaceuticals at drinking water purification plants in Japan and implications for human health. **Water Research**, v. 76, p. 187-200, 2015. DOI: [10.1016/j.watres.2015.02.059](https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.059).

SINGH, A. *et al.* Overview of sources, fate, and impact of endocrine disrupting compounds in environment and assessment of their regulatory policies across different continents. **Total Environment Research Themes**, v. 7, p. 100071, 2023. DOI: [10.1016/j.totert.2023.100071](https://doi.org/10.1016/j.totert.2023.100071).

SINGH, A.; MISHRA, V. K. Biodegradation of organic pollutants for its effective remediation from the environment and the role of various factors affecting the biodegradation process. **Sustainable Environmental Clean-up**, p. 1-27, 2021. DOI: [10.1016/B978-0-12-823828-8.00001-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823828-8.00001-3).

SOKOŁOWSKI, A.; DYBOWSKI, M. P.; OLESZCZUK, P.; GAO, Y.; CZECH, B. Fast and reliable determination of phthalic acid esters in soil and lettuce samples based on QuEChERS GC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 440, p. 138222, 2024. DOI: [10.1016/j.foodchem.2023.138222](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138222).

TRAN, H. T. T.; HERZ, C.; LAMY, E. Long-term exposure to “low-dose” bisphenol A decreases mitochondrial DNA copy number, and accelerates telomere shortening in human CD8+ T cells. **Scientific Reports**, v. 10, p. 15786, 2020. DOI: [10.1038/s41598-020-72546-x](https://doi.org/10.1038/s41598-020-72546-x).

UN. **Ocean fact sheet package**. 2021. Disponível em: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/wp-content/uploads/2017/05/Ocean-fact-sheet-package.pdf>. Acesso em: dez. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **5alpha-Androstan-3beta-ol**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID4036514>. Acesso em: 12 abr. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **17alpha-Ethinylestradiol**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID5020576>. Acesso em: 12 abr. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **17beta-Trenbolone**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID0034192>. Acesso em: 12 abr. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **17-Methyltestosterone**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID1033664>. Acesso em: 12 abr. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **Bisphenol A**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID7020182>. Acesso em: 12 abr. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **Diethylstilbestrol**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID3020465>. Acesso em: 12 abr. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **Dienestrol**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID7022382>. Acesso em: 12 abr. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **Estrone**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID4022367>. Acesso em: 12 abr. 2024.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Comptox Chemicals Dashboard. **Mestranol**. Disponível em: <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/details/DTXSID0020814>. Acesso em: 12 abr. 2024.

VAN DER MEER, T. P. *et al.* Temporal exposure and consistency of endocrine disrupting chemicals in a longitudinal study of individuals with impaired fasting glucose. **Environmental Research**, v. 197, p. 110901, 2021. DOI: [10.1016/j.envres.2021.110901](https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.110901).

VÉLEZ, V. P. P. *et al.* Emerging contaminants in Trans-American waters. **Revista Ambiente & Água**, v. 14, n. 6, p. e2436, 2019. DOI: [10.4136/ambi-agua.2436](https://doi.org/10.4136/ambi-agua.2436).

WILKINSON, J. L. *et al.* **Pharmaceutical pollution of the world's rivers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 119, n. 8, 2022. DOI: [10.1073/pnas.2113947119](https://doi.org/10.1073/pnas.2113947119).

YUAN K, KANG H, YUE Z, *et al.* Determination of 13 endocrine disrupting chemicals in sediments by gas chromatography-mass spectrometry using subcritical water extraction coupled with dispersed liquid-liquid microextraction and derivatization. **Anal Chim Acta**. 2015. DOI: [10.1016/j.aca.2015.02.011](https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.011)

ZUO, X. *et al.* The effects of 17 β -trenbolone and bisphenol A on sexual behavior and social dominance via the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in male mice. **Journal of Environmental Sciences**, 2024. DOI: [10.1016/j.jes.2024.02.023](https://doi.org/10.1016/j.jes.2024.02.023).

APÊNDICE A - DADOS COMPLEMENTARES

Tabela S1 – Concentrações (µg/g) dos disruptores endócrinos nos sedimentos.

Amostras (µg/g)	DES	DNS	5α-Androstan-3β-ol	EE2	E1	MeEE2	TB	MET	Ethisterone	OXA	Cop	MGA
C#1	0,36	0,62	0,49	<LD	0,17	0,04	0,05	<LD	1,21	0,03	<LD	<LD
C#2	0,00	0,28	0,46	0,00	0,26	0,00	0,08	<LD	<LD	0,04	<LD	<LD
C#3	0,04	1,12	0,26	0,01	0,13	<LD	0,03	<LD	<LD	0,03	0,35	<LD
C#4	0,44	1,00	0,77	<LD	0,15	0,03	0,08	0,09	<LD	0,03	<LD	0,04
C#5	0,17	0,13	0,23	<LD	0,02	0,04	0,04	0,31	<LD	0,02	0,16	0,06
DP#1	<LD	0,71	0,17	0,06	0,20	0,07	0,57	0,06	0,11	0,06	0,45	0,13
DP#2	0,20	0,08	<LD	0,03	0,29	<LD	0,15	0,20	<LD	0,04	0,14	0,26
DP#3	0,05	0,19	0,05	0,05	0,03	0,03	0,16	<LD	0,02	0,05	0,11	0,09
DP#4	<LD	0,30	<LD	<LD	0,29	0,01	0,31	<LD	0,03	0,02	0,28	0,42
DP#5	<LD	0,24	<LD	<LD	0,01	0,00	0,19	0,05	<LD	0,03	0,33	0,00
DP#6	<LD	<LD	<LD	0,05	0,04	<LD	0,09	0,05	<LD	0,02	<LD	0,01
DP#7	0,26	0,27	<LD	0,58	<LD	0,03	0,26	<LD	0,35	0,02	<LD	0,03
J#1	<LD	0,21	0,13	<LD	0,35	0,03	0,12	<LD	0,83	0,03	0,19	<LD
J#2	<LD	<LD	<LD	<LD	0,00	<LD	0,22	<LD	<LD	0,02	<LD	<LD
J#3	<LD	0,11	<LD	<LD	<LD	0,00	0,03	<LD	<LD	0,02	<LD	<LD
J#4	<LD	0,23	0,06	<LD	<LD	<LD	0,09	0,08	<LD	0,03	<LD	<LD
J#5	<LD	0,47	0,07	0,17	0,12	<LD	0,15	0,01	<LD	0,03	<LD	0,00
J#6	<LD	0,61	<LD	<LD	0,03	0,01	0,08	0,23	<LD	0,03	0,43	<LD
P/E_Abril#1	0,06	0,98	0,57	0,20	0,36	0,04	0,42	<LD	<LD	0,06	0,25	0,11
P/E_Abril#2	<LD	0,44	0,12	<LD	0,05	0,03	0,03	0,02	<LD	<LD	<LD	<LD
P/E_Abril#3	0,09	0,23	0,12	<LD	0,25	<LD	0,01	0,23	<LD	<LD	<LD	<LD
P/E_Abril#4	0,80	1,11	0,45	<LD	0,59	0,02	0,20	0,50	<LD	0,03	<LD	<LD
P/E_Abril#5	0,49	<LD	1,76	0,01	0,07	0,03	0,06	0,71	<LD	0,03	<LD	0,03
P/E_Abril#6	0,12	0,51	0,24	<LD	<LD	<LD	0,03	0,05	<LD	<LD	<LD	<LD
P/E_Abril#7	0,12	0,10	0,40	0,01	0,12	<LD	0,26	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
P/E_Abril#8	7,36	9,66	8,53	8,45	3,28	3,41	2,06	7,67	11,95	0,36	2,89	1,28
P/E_Abril#9	6,78	26,03	2,28	3,08	2,91	0,04	2,78	1,94	0,45	0,19	4,51	0,17
P/E_Abril#10	0,42	<LD	0,64	0,03	0,66	<LD	0,14	0,09	0,92	0,02	0,47	<LD
P/E_Abril#11	0,24	<LD	0,13	0,25	0,12	<LD	0,10	<LD	<LD	<LD	0,06	<LD
P/E_Nov#1	<LD	0,25	0,52	0,05	0,13	<LD	0,18	0,27	<LD	0,02	1,29	0,03
P/E_Nov#2	<LD	0,94	<LD	<LD	0,35	0,06	0,09	0,10	0,24	0,03	0,45	0,02
P/E_Nov#3	<LD	<LD	<LD	<LD	0,39	0,01	0,19	0,52	1,24	0,09	0,36	0,03
P/E_Nov#4	0,16	<LD	<LD	<LD	0,08	0,03	0,02	0,34	0,26	0,08	0,48	0,08
P/E_Nov#5	0,07	<LD	<LD	<LD	<LD	0,08	<LD	0,21	<LD	0,03	<LD	<LD
P/E_Nov#6	0,24	<LD	0,21	0,43	0,72	0,32	0,08	0,39	3,36	0,07	<LD	<LD
P/E_Nov#7	0,41	<LD	<LD	<LD	<LD	0,13	<LD	0,20	0,08	0,04	2,55	0,03
P/E_Nov#8	0,22	0,23	<LD	<LD	0,03	0,03	0,03	0,20	0,74	0,04	<LD	<LD
P/E_Nov#9	0,22	0,23	<LD	<LD	0,03	0,03	0,03	0,20	0,74	0,04	<LD	<LD
P/E_Nov#10	0,03	<LD	0,03	<LD	0,42	<LD	0,17	0,31	<LD	0,02	2,90	<LD
P/E_Nov#11	<LD	<LD	<LD	<LD	0,04	0,03	0,01	<LD	0,16	0,03	1,40	<LD

Fonte: Elaborado pela Autora.

Tabela S2 – Níveis (µg/g) individuais dos disruptores endócrinos no grupo amostral.

DEs	ΣDEs (µg/g)	Percentual (%)	DP
Dietilestilbestrol	19,36	10,46	1,83
Dienestrol	47,28	24,94	5,00
5α-Androstan-3β-ol	19,14	10,10	1,64
17α-Etinilestradiol	13,61	7,18	1,95
Estrona	13,01	6,86	0,70
Mestranol	4,57	2,41	0,64
Trembolona	9,65	5,09	0,52
17α-Metiltestosterona	15,17	8,00	1,42
Etisterona	22,68	11,96	2,76
Oxandrolona	1,74	0,92	0,06
Coprostan-3-ol	20,06	10,58	1,19
Megestrol	2,82	1,49	0,29

Fonte: Elaborado pela Autora.

Tabela S3 – Níveis (µg/g) e percentual para os grupos de disruptores natural e sintético.

DEs	ΣDEs sintéticos (µg /g)	Percentual (%)	DP
Dietilestilbestrol	19,36	14,19	1,87
Dienestrol	47,28	34,64	5,00
17α-Etinilestradiol	13,47	9,87	2,04
Mestranol	4,57	3,35	0,64
Trembolona	9,58	7,02	0,53
17α-Metiltestosterona	15,02	11,00	1,44
Etisterona	22,68	16,62	2,76
Oxandrolona	1,72	1,26	0,06
Megestrol	2,82	2,06	0,29

DEs	ΣDEs naturais (µg /g)	Percentual (%)	DP
5α-Androstan-3β-ol	18,68	16,60	1,70
Estrona	12,67	24,64	0,71
Coprostan-3-ol	20,06	39,02	1,19

Fonte: Elaborado pela Autora.

Tabela S4 – Níveis (µg/g) e percentual para os grupos de disruptores sintéticos.

DEs	∑DEs sintético Feminino (µg /g)	Percentual (%)	DP
Dietilestilbestrol	19,36	22,13	1,87
Dienestrol	47,28	54,03	5,00
17α-Etinilestradiol	13,47	15,40	2,04
Mestranol	4,57	5,22	0,64
Megestrol	2,82	3,22	0,29

DEs	∑DEs sintético Masculino (µg /g)	Percentual (%)	DP
Trembolona	9,58	19,55	0,53
17α-Metiltestosterona	15,02	30,65	1,44
Etisterona	22,68	46,29	2,76
Oxandrolona	1,72	3,51	0,06

Fonte: Elaborado pela Autora.

Tabela S5 – Níveis (µg/g) para ∑DEs naturais e sintéticos por localidade.

∑DEs naturais (µg/g)	5α-Androstan-3β-ol	Estrona	Coprostan-3-ol
Rio Cocó	2,20	0,73	0,51
Delta Parnaíba	0,22	0,85	1,31
Rio Jaguaribe	0,27	0,49	0,62
Plataforma/Estuário - Abril	15,23	8,40	8,18
Plataforma/Estuário - Nov	0,76	2,19	9,44

∑DEs sintético (µg/g)	Rio Cocó	Delta Parnaíba	Rio Jaguaribe	P/E (Abril)	P/E (Nov)
Dietilestilbestrol	1,01	0,51	0,00	16,50	1,35
Dienestrol	3,15	1,78	1,62	39,06	1,66
17α-Etinilestradiol	0,01	0,77	0,17	12,03	0,48
Mestranol	0,11	0,15	0,04	3,58	0,70
Trembolona	0,29	1,72	0,69	6,09	0,79
17α-Metiltestosterona	0,40	0,36	0,31	11,20	2,75
Etisterona	1,21	0,51	0,83	13,31	6,82
Oxandrolona	0,15	0,24	0,17	0,69	0,47
Megestrol	0,10	0,94	0,00	1,59	0,18

P/E: Plataforma/Estuário

Fonte: Elaborado pela Autora.

Tabela S6 – Níveis ($\mu\text{g/g}$) para ΣDEs sintéticos por localidade.

ΣDEs sintético Feminino ($\mu\text{g/g}$)	DES	DNS	EE2	MeEE2	MGA
Rio Coco	1,01	3,15	0,01	0,11	0,10
Delta Parnaíba	0,51	1,78	0,77	0,15	0,94
Jaguaribe	0,00	1,62	0,17	0,04	0,00
Plataforma/Estuário (Abril)	16,50	39,06	12,03	3,58	1,59
Plataforma/Estuário (Nov)	1,35	1,66	0,48	0,70	0,18

ΣDEs sintético Masculino ($\mu\text{g/g}$)	TB	MET	Etisterona	OXA
Rio Coco	0,29	0,40	1,21	0,15
Delta Parnaíba	1,72	0,36	0,51	0,24
Jaguaribe	0,69	0,31	0,83	0,17
Plataforma/Estuário - Abril	6,09	11,20	13,31	0,69
Plataforma/Estuário - Nov	0,79	2,75	6,82	0,47

Fonte: Elaborado pela Autora.

Tabela S7 – Níveis ($\mu\text{g/g}$) para ΣDEs referente à pluviosidade.

Amostra	ΣDEs ($\mu\text{g/g}$)	Percentual (%)
Plataforma/Estuário - Abril	19,61	83,28
Plataforma/Estuário - Nov	4,07	16,72

Fonte: Elaborado pela Autora.

Tabela S8 – Níveis (µg/g) para Σ DEs referente à pluviosidade.

DEs	Σ DEs (ug/g)		Percentual (%)	
	Abril	Nov	Abril	Nov
Dietilestilbestrol	16,50	1,35	12,14	4,88
Dienestrol	39,06	1,66	28,75	6,03
5α-Androstran-3β-ol	15,23	0,76	11,21	2,75
17α-Etinilestradiol	12,03	0,48	8,86	1,76
Estrona	8,40	2,19	6,18	7,94
Mestranol	3,58	0,70	2,63	2,53
Trembolona	6,09	0,79	4,48	2,88
17α-Metiltestosterona	11,20	2,75	8,25	9,97
Etisterona	13,31	6,82	9,80	24,70
Oxandrolona	0,69	0,47	0,51	1,70
Coprostran-3-ol	8,18	9,44	6,02	34,20
Megestrol	1,59	0,18	1,17	0,67

Fonte: Elaborado pela Autora.