UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Determinação de éteres de difenilas polibromadas (PBDEs) em alimentos comercializados no Brasil empregando microextração em sorvente empacotado (MEPS) e estimativa da ingestão diária

Marília Cristina Oliveira Souza

Ribeirão Preto

2019

RESUMO

Souza, M. C. O. **Determinação de éteres de difenilas polibromados (PBDEs) em alimentos comercializados no Brasil empregando microextração em sorvente empacotado (MEPS) e estimativa da ingestão diária**, 2019. 109 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Éteres de difenilas polibromadas (PBDEs) são compostos classificados com retardantes de chama e são poluentes orgânicos persistentes. Estes compostos são utilizados em diversos produtos para aumentar a resistência ao fogo e a altas temperaturas. Os potenciais efeitos à saúde humana, após exposição aos PBDEs têm se tornado uma grande preocupação devido ao aumento das concentrações de PBDE no ambiente. A dieta é considerada a mais importante fonte de exposição aos PBDEs, e as amostras de alimentos devem ser monitoradas para verificar os níveis de contaminação. No entanto, a determinação rotineira desses contaminantes em amostras complexas, como os alimentos, requer um método simples, rápido e com sensibilidade compatível com as baixas concentrações encontradas. Diante do exposto, este estudo propõem um novo método combinando microextração em sorvente empacotado (MEPS) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas para determinação de 7 congêneres de PBDEs (BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, e BDE-183) em amostras de alimentos de origem animal e com alto teor lipídico, incluindo ovo, peixe, frutos do mar, e leite. O método proposto apresenta as seguintes vantagens: (i)- Reduz a quantidade de amostra requerida nas análises (50 e 100 mg de amostra liofilizada); (ii)- Reduz o consumo de solvente; (iii)- Melhora os limites de detecção (0,42 ng/g de lipídio para ovo, 0,27 ng/g de peixe fresco, e 0,26 ng/g de leite fresco), e IV- Apresenta excelente reprodutibilidade e repetibilidade, altos valores de recuperação sem de efeito matriz. Após a etapa de validação analítica, o método foi aplicado em 123 amostras das diversas matrizes em estudo. O BDE-47 foi o congênere que apresentou maior porcentagem de detecção entre todos os PBDEs analisados. O somatório das médias das concentrações ($\sum_{PBDEs}$) de todos os congêneres analisados foi de 18,1 ng/g de lipídio para as amostras de ovos, 26,4 ng/g de peixe fresco, 25,6 ng/g de frutos do mar fresco, e 39,9 ng/g de leite fresco. As concentrações encontradas neste estudo foram maiores que os encontrados em países Europeus e Estados Unidos. Baseado nisto, este estudo sugere que as altas concentrações encontradas podem ser justificadas pela ausência de legislação no Brasil quanto ao uso de PBDEs e quantidade máxima permitida em alimentos e amostras ambientais. A partir dos resultados obtidos das concentrações de PBDEs nas amostras e do consumo médio do alimento no país, estimou-se a ingestão diária (IDE) de PBDEs da população brasileira, e o IDE total foi de 31,9 ng/Kg de peso corpóreo – dia, e com base nos valores de dose de referência (BDE-47, BDE-99 e BDE-153) estimou-se o *hazard index* (HI), com valor de 0,356. A IDE apresentou altos valores em relação a outros estudos descritos na literatura, e HI com valor menor que 1. Os resultados sugerem que o risco cumulativo de exposição aos PBDEs pode estar subestimado, uma vez que apenas três congêneres de PBDEs e apenas quatro tipos de alimentos foram incluídos no cálculo, necessitando de uma avaliação de risco mais detalhada para estimar o potencial risco à saúde dos brasileiros.

Palavras-chave: éteres de difenilas polibromadas, microextração em sorvente empacotado, alimentos, estimativa da ingestão diária, poluentes orgânicos persistentes.

Introdução

1. Introdução

1.1 Contaminantes emergentes e poluentes orgânicos persistentes

O rápido crescimento e desenvolvimento industrial e a intensa atividade humana promoveram um aumento na produção de diversos produtos e bens de consumo, expondo o meio ambiente e a população em geral a uma nova categoria de contaminantes, denominados contaminantes emergentes. Esses compostos pertencem a diversas classes químicas, são tipicamente detectados em baixas concentrações, e muitos dos efeitos, tanto em humanos quanto no ambiente, ainda são pouco conhecidos. Dentre os contaminantes emergentes se destacam, retardantes de chama, produtos farmacêuticos, nanopartículas, plastificantes, tensoativos, praguicidas, produtos de cuidado pessoal, e alguns compostos químicos de origem industrial que não eram monitorados e/ou detectados (Matamoros et al., 2012; US. EPA, 2014; Bai et al., 2018)

A *United States Geological Survey* (USGS) define um contaminante emergente como qualquer substância química sintética ou natural, ou ainda microrganismos, que não são comumente monitorados no ambiente, mas que possuem a capacidade de contaminá-lo e causar riscos à saúde humana e ao ecossistema (USGS, 2014).

Alguns dos contaminantes emergentes apresentam propriedades específicas como alta estabilidade, transporte de longo alcance e distribuição em todos os compartimentos ambientais, alta solubilidade em lipídeos, podendo bioacumular em animais, principalmente em espécies pertencentes ao topo da cadeia alimentar. Esse grupo de compostos químicos é classificado como poluentes orgânicos persistentes (POPs) (Mortimer, 2013; Xu et al., 2013; Omar et al., 2018; Wit et al., 2019).

1.2 Éteres de difenilas polibromadas (PBDEs)

Os compostos classificados como retardantes de chama são utilizados como uma medida de segurança na prevenção de incêndios, inibindo o processo de combustão e reduzindo os riscos e danos provocados por estes. Sua aplicação ocorre principalmente nas indústrias de eletroeletrônicos, têxtil, automobilística e construção civil, em materiais como madeira, plásticos, papéis, utensílios de cozinha, carpetes e roupas (Angioni et al, 2013; Cruz et al., 2017; Annuniação et al., 2018; Fromme, 2018).

Atualmente, existem mais de 175 substâncias químicas classificadas como retardantes de chama. Dentre eles, os compostos halogenados bromados são utilizados em numerosos produtos durante décadas, e representam um consumo de aproximadamente 20% do uso do total de retardantes de chama. Os éteres de difenilas polibromadas (PBDEs) é um grande grupo pertencente aos retardantes de chama bromados, e sua ampla utilização é devido ao baixo custo e alta eficiência contra a propagação da chama (Król et al., 2012; Frol, 2013; Fromme, 2018).

Os PBDEs são uma classe de substâncias químicas com 209 possibilidades de congêneres teóricos, que diferem de acordo com o número de átomos de bromo (2 a 10 átomos) e de seus padrões de substituição em dois anéis aromáticos ligados por um átomo de oxigênio, no entanto apenas alguns congêneres são estáveis e comercialmente relevantes. São 10 grupos homólogos de PBDEs contendo um ou mais congêneres em cada grupo, baseado no número de substituinte bromo (Figura 1) (EFSA, 2011; Cruz et al., 2017; Annuniação et al., 2018; Fromme, 2018).

Figura 1: Estrutura química geral dos éteres de bifenilas polibromadas (US. EPA, 2009).

De acordo com a estrutura química e com suas propriedades físico-químicas, os PBDEs apresentam baixa pressão de vapor, são compostos hidrofóbicos, e persistentes no ambiente, devido, principalmente, ao elevado coeficiente de partição octanol/água (valores de $\log K_{ow}$ entre 5,9 a 10), e classificados como poluentes orgânicos persistentes. Os congêneres de baixo peso molecular, tri a hexa-BDE, são os mais importantes do ponto de vista toxicológico (Yan et al., 2010; Król et al., 2012; Cruz et al., 2017; Pietron e Malagocki, 2017; Annuniação et al., 2018; Fromme, 2018; Giulivo et al., 2018).

Os PBDEs são comercialmente produzidos como misturas em três diferentes formulações. A formulação comercial éter de difenila penta-bromada (penta-BDE), na maioria das vezes contém os congêneres penta e tetra-BDE, e a formulação éter de difenila octa-bromada (octa-BDE) contém os congêneres hepta e octa-BDE. Já a éter de difenila deca-bromada (deca-BDE) é formada pelos congêneres deca-BDE e alguns congêneres nona-BDE e octa-BDE. . Nas últimas décadas, os PBDEs vêm atraindo cada vez mais atenção das comunidades científicas e agências reguladoras de diversos países. Os Estados Unidos e países da União Européia proibiram a produção, comercialização e importação de formulações penta-BDE e octa-BDE, desde 2004. A mistura comercial de deca-BDE é ainda produzida e utilizada nos Estados Unidos, e nos países europeus apresenta apenas aplicação restrita (UNEP, 2009; US. EPA, 2011).

1.3 Exposição humana aos PBDEs e toxicidade

A avaliação da concentração de PBDEs em matrizes ambientais e nos alimentos é utilizada para diagnosticar potenciais fontes de exposição a estas substâncias e o biomonitoramento humano, através da análise de marcadores de dose interna, como

leite materno, sangue e cabelo, traz informações dos níveis de exposição das populações em geral (Ni et al., 2013; Annuniação et al., 2018).

A exposição aos PBDEs pode ocorrer no ambiente de trabalho tais como em indústrias de produtos plásticos, papéis, madeira e utensílios domésticos, através da exposição por meio da dieta, ingestão e inalação da poeira interna e do ar interior, absorção dérmica, e também por meio de efluentes contaminados pelo descarte inadequado. Entre estes, as rotas dietéticas desempenham um papel considerável na exposição humana em geral, especialmente através de alimentos de origem animal ricos em lipídeos, como peixes, frutos do mar, carnes, ovos, leite e seus derivados. (Ni et al., 2013; Covaci e Marlavannan, 2015; Cruz et al., 2017; Pietron e Malagocki, 2017; Annuniação et al., 2018; Giulivo et al., 2018).

Não há relatos na literatura de valores de Limite Máximo de Resíduo (LMR) para PBDEs e seus metabólitos em alimentos. De acordo com dados publicados pela *European Food Safety Authority* (EFSA), em 2011, observou-se NOAEL equivalente a 0,45 mg/Kg de peso corpóreo/dia, e LOAEL equivalente a 0,8 mg/Kg de peso corpóreo/dia baseado em estudos com ratos expostos de forma neonatal ao Penta-BDE, durante 30 dias, considerando absorção de 90% e com base nos efeitos no desenvolvimento neurológico.

Em 2004 a Agência para Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (ATSDR) emitiu, para o Penta-BDE, um Nível de Mínimo Risco (NMR) de 0,03 mg/Kg de peso corpóreo/dia, para exposição oral aguda (1 a 14 dias); e 0,007 mg/Kg de peso corpóreo/dia, para exposição oral de duração intermediária (>14 a 364 dias). Considerando um indivíduo de 70 kg, o NMR para exposição oral aguda e de duração intermediária é de 2,1 mg/dia e 0,49 mg/dia, respectivamente. O NMR é calculado pela

razão entre o NOAEL e o fator de incerteza/segurança (FS) da substância de interesse (EFSA, 2011).

De acordo com a *European Food Safety Authority* (EFSA), a ingestão diária estimada (IDE) de PBDEs através da dieta é de 1,2 ng/Kg de peso corpóreo por dia na Alemanha, 1,1 ng/Kg – dia na Espanha, e 0,2 ng/Kg – dia na França (EFSA, 2011). Na população dos Estados Unidos o IDE é 0.6 ng/Kg de peso corpóreo - dia, de acordo com a *Environmental Protection Agency* (EPA) (Pietrón e Malagocki, 2017).

O consumo de alimentos ricos em lipídeos e aqueles provenientes de fontes contaminadas representam uma forma importante de exposição aos PBDEs. As comparações entre diferentes localidades devem ser feitas com cautela devido à variação entre os congêneres usados para calcular $\sum_{PBDEs}$ e os diferentes produtos alimentícios usados no consumo alimentar da população em estudo (US. EPA, 2009; Johnson-Restrepo e Kannan, 2009; EFSA, 2011; Domingo, 2012; Ni et al., 2013; Covaci e Marlavannan, 2015; Pietrón e Malagocki, 2017).

No Brasil, os dados sobre exposição aos PBDEs ainda são escassos ou ausentes. A exposição humana aos PBDEs tem sido motivo de grande preocupação, já que há evidências recentes de que esses compostos causam potenciais efeitos adversos à saúde, principalmente hepatotoxicidade, neurotoxicidade, embriotoxicidade, e desregulações endócrinas e imunológicas. A exposição aos PBDEs pode afetar as células cerebrais fetais humanas, os padrões comportamentais em crianças e causar diminuições significativas da fecundidade em mulheres (Rahman et al., 2001; Costa et al., 2008; Pestana, 2008; US. EPA, 2011; He et al., 2008; Shao et al., 2008; Hu et al., 2010).

Os PBDEs são potenciais desreguladores endócrinos atuando como antagonistas e agonistas dos receptores de andrógeno, progesterona e estrógeno. A diminuição dos níveis séricos de tiroxina (hormônio T4) foi observada em animais expostos a 3 mg/Kg

de peso corpóreo por dia de penta-BDE. Os efeitos dos PBDEs sobre os hormônios tireoidianos são atribuídos às alterações no transporte, indução de enzimas responsáveis pela metabolização e por ação direta nos receptores. Os metabólitos hidroxilados dos PBDEs apresentam maior afinidade às proteínas transportadoras e aos receptores destes hormônios, devido ao fato de que PBDEs, com quatro a seis átomos de bromo, podem formar metabólitos similares à tiroxina (Pestana et al., 2008).

1.4 Técnicas analíticas para determinação de PBDEs em alimentos

Os PBDEs são contaminantes ambientais que se distribuem em diferentes compartimentos e são encontrados em concentrações em níveis traço. Dessa forma, a determinação desses compostos exige técnicas analíticas capazes de identificar e quantificar os analitos com elevada sensibilidade, seletividade, precisão e exatidão. A técnica analítica mais empregada para a determinação dos congêneres dos PBDEs em alimentos é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) (WHO, 2006; Covaci and Marlavannan, 2015; Annuniação et al., 2018).

A cromatografia gasosa baseia-se na separação pela diferença de distribuição das substâncias da amostra entre a fase estacionária (sólida ou líquida) e fase móvel (gasosa). Esta técnica apresenta alto poder de resolução, alta sensibilidade, e a amostra e/ou seus componentes devem ser voláteis e termicamente estáveis. A espectrometria de massas consiste em uma fonte de ionização o qual permite a formação de íons por retirada ou captura de um elétron, um analisador de massas que realiza monitorização de um íon seletivo de acordo com sua razão massa/carga ou por meio de varredura espectral, e um detector que detecta e amplifica o sinal da corrente de íons que vem do analisador e transfere o sinal para o sistema de processamento de dados (Skoog et al., 2009; Chiaradia et al., 2008; Collins et al., 2006).

1.5 Métodos de preparo de amostras para determinação de PBDEs em alimentos

Antecedendo a análise instrumental, a etapa de preparo das amostras é a mais crítica e laboriosa durante o desenvolvimento de um procedimento analítico, sendo de extrema importância o controle, a otimização das condições e a validação do método de análise. Essa etapa tem como principais objetivos extrair, isolar e pré-concentrar os analitos presentes em uma matriz complexa, e remover os interferentes (*clean up*), tornando assim a amostra compatível com a instrumentação analítica utilizada (Covaci et al., 2010; Reiner et al., 2014; Annuniação et al., 2018).

O aumento na seletividade e sensibilidade e a diminuição da interferência causada pela matriz são as principais vantagens de um método de preparo de amostras ideal. É importante destacar que a escolha da técnica de preparo de amostra baseia-se nas propriedades físico-químicas dos analitos de interesse, dos constituintes da matriz, e, também, dos interferentes (Reiner et al., 2014; Borges et al., 2015).

Na literatura científica, são descritos vários métodos de preparo de amostras para determinação de PBDEs em amostras de alimentos (Tabela 1), no entanto requerem grande consumo de solvente e de amostra, e longo tempo para extração dos analitos. Como as amostras de alimentos são sólidas, a maioria das técnicas de extração baseia-se na partição sólido-líquido. As principais técnicas utilizadas envolvem extração por Soxhlet, extração líquida pressurizada (PLE), extração assistida por micro-ondas, sistemas de ultrassom, extração em fase sólida (SPE), e QuEChERS (extração em fase sólida dispersiva). A técnica de preparo de amostras de alimentos utilizando Soxhlet é a mais comum, com tempo de extração variando de 8 a 48 horas, e mistura de solventes polares e apolares em diferentes proporções, com volume de aproximadamente 200 mL da mistura de solventes, além de grande quantidade de amostra (> 200 g) requerida nas

análises. Como consequência, geram-se quantidade excessiva de resíduos de solventes tóxicos (Covaci et al., 2009; Annuniação et al., 2018).

Tabela 1 – Alguns métodos descritos na literatura para determinação de PBDEs em alimentos.

Literatura	Hu e Hu, 2014	Kalachova et al., 2013	Dirtu et al. 2013	Cascaes, 2009
Tipo de amostra	2,5g de Ovo	10g Peixe	2g Ovo	5g Peixe
Solvente	25mL 1:1 v/v hexano:acetona	15mL 1:2 v/v H2O:Ac etila	1:1 v/v DCM:hexano	80mL 1:1 v/v hexano:DCM 50%
Método de preparo de amostra	¹ ELL + <i>clean-up</i> com H ₂ SO ₄	² QuEChERS	³ PLE	⁴ Soxhlet
Etapa adicional (<i>clean up</i>)	coluna de sílica	coluna de sílica	-	coluna de sílica e alumina
Deteção	GC-MS	GC-MS/MS	GC-MS	GC-MS

¹ ELL, Extração líquido-líquido

² QuEChERS, Extração em fase sólida dispersiva - *QUick Easy CHEap Effective Rugged and Safe*

³ PLE, Extração Líquido Pressurizada

⁴ Soxhlet, Extração contínua utilizando solvente quente

Diante do exposto, o desenvolvimento de novos métodos, que requerem procedimentos de preparo de amostras de alimentos que sejam mais simples e rápidos, e que consumam menor quantidade de amostras e de reagentes é necessário.

1.6 Microextração em sorvente empacotado (MEPS)

A microextração em sorvente empacotado (MEPS) é uma técnica de preparo de amostra introduzida por Mohamed Abdel-Rehim e colaboradores (2003), e consiste basicamente na miniaturização do sistema de extração em fase sólida (SPE)

convencional, proporcionando a extração, pré-concentração dos analitos, e remoção dos interferentes em uma única etapa. O aumento na sensibilidade do método, a redução do volume da amostra e do eluente (mililitros para microlitros), redução no tempo de análise e utilização de tecnologias ambientalmente corretas são as principais vantagens da técnica analítica descrita (Abdel-Rehim, 2010; Martínez-Moral e Tena, 2014; Queiroz, 2015; Martínez-Moral, 2015).

A MEPS é constituída por uma microcoluna recheada com 1- 4 mg de material sólido (fases seletivas) conectada à agulha de uma microseringa. Os analitos adsorvidos na microcoluna são eluídos na fase extratora e injetados no sistema analítico (Queiroz, 2015). As etapas desta técnica incluem o condicionamento da fase extratora, ciclos de aspiração/dispensação da amostra, eliminação de interferentes e a eluição dos analitos em solvente compatível com o sistema analítico. A etapa de limpeza do cartucho, após a eluição dos compostos de interesse, é importante para diminuir os efeitos de *carryover* e, desta forma, favorecer a reutilização da coluna (Queiroz, 2015; Martínez-Moral, 2015; Yang et al., 2017).

Martínez-Moral e Tena (2014) descreveram o desenvolvimento e validação de um método de extração líquido pressurizado seletiva (sPLE) seguida por MEPS e quantificação por GC-MS, para a determinação de congêneres PBDE em lodo de esgoto. O emprego da MEPS proporcionou aumento de sensibilidade, resultando em diminuição dos limites de detecção e quantificação, valores menores do que os previamente relatados para a determinação de PBDEs nessas amostras. Além disso, a MEPS forneceu um *clean up* adicional na matriz, melhorando a detecção e protegendo o GC-MS de possíveis interferentes, e bons valores de recuperação, variando entre 92% e 102%.

Sendo uma técnica miniaturizada, os métodos analíticos baseados em MEPS são mais rápidos, simples, robustos, possibilitam acoplamento *on-line* com instrumentação analítica e, consomem quantidade de amostra e volumes de solvente inferiores às técnicas clássicas de preparo de amostras, como a SPE, Soxhlet, e a extração líquido-líquido (ELL) (Gjelstad e Pedersen-Bjergaard, 2014; Yang et al., 2017). Até o momento ainda não há descrito na literatura científica métodos de preparo de amostras empregando MEPS para determinação de PBDEs em amostras de alimentos.

Considerações finais

5. Considerações finais

Os métodos analíticos desenvolvidos e validados neste estudo para quantificação dos PBDE em diferentes tipos de amostras de alimentos empregando MEPS e CG-MS apresentaram diversas vantagens, tais como rapidez, simplicidade e menor consumo de solvente orgânico que as técnicas de preparo de amostras clássicas, como a SPE, ELL, Soxhlet, e a PLE. A técnica de MEPS pode ser empregada tanto para extração dos analitos, quanto para pré-concentração e eficiente *clean up* da matriz. Ademais, os métodos mostraram-se eficazes para aplicação na análise de alimentos, e em vista da facilidade no uso do MEPS e no curto tempo no preparo de amostras ele pode ser utilizado na análise de rotina, auxiliando as agências regulamentadoras a estipular os limites máximos permitidos em alimentos e no meio ambiente.

Os resultados do estudo também descrevem pela primeira vez importantes fontes de exposição humana aos PBDEs, a ingestão através da alimentação. A avaliação da presença dos principais congêneres de PBDEs em amostras de alimentos, como ovos, peixes, frutos do mar e leites, obtidos no mercado brasileiro, é de extrema importância devido às informações limitadas em relação aos níveis encontrados no país, e ao alto conteúdo lipídico, o que favorece o bioacúmulo desses contaminantes.

Esse foi o primeiro estudo a reportar as concentrações de PBDEs em amostras de alimentos comercializados no Brasil. Os dados obtidos indicam maiores níveis de PBDE nas amostras brasileiras de alimentos, em comparação com outros estudos da literatura. A ausência de legislação e especificações de uso para PBDEs no Brasil é uma possível causa para as altas concentrações desses compostos nos alimentos brasileiros. Destaca-se também que os valores encontrados de estimativa de ingestão diários mais elevados podem oferecer maior risco para a saúde da população brasileira.

Referências bibliográficas

Referências bibliográficas

Abdel-Rehim, M. Recent advances in microextraction by packed sorbent for bioanalysis *Journal of Chromatography A*, v.1217, p.2569-2580, 2010.

Angioni, S.A.; Scortichini, G.; Diletti, G.; Perletta, F.; Ceci, R.; Ferri, N. Study of the toxic effects of flame retardant PBDE-47 on the clam *Chamelea gallina* (Linnaeus, 1758). *Veterinaria Italiana*, v.49, n.1, p.69-77, 2013.

Annuniação, D. L. R.; Almeida, F. V.; Hara, E. L. Y.; Grassi, M. T.; Sodré, F. F. Éteres difenílicos polibromados (PBDEs) como contaminantes persistentes: ocorrência, comportamento no ambiente e estratégias analíticas. *Química Nova*, v.41, p. 782-795, 2018.

Bai, X.; Lutz, A.; Carroll, R.; Keteles, K.; Dahlin, K.; Murphy, M.; Nguyen, D. Occurrence, distribution, and seasonality of emerging contaminants in urban watersheds. *Chemosphere*, v.200, p.133-143, 2018.

Bocio, A.; Llobet, M.; doming, J. L.; Corbella, J.; Teixido, A.; Casas, A. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Foodstuffs: Human Exposure through the Diet. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 3191–3195, 2003.

Borges, K. B.; Pereira, A. C.; Mano, C. Introdução ao preparo de amostras. Keyller Bastos Borges, Eduardo Costa de Figueiredo, Maria Eugênia Costa Queiroz. *Preparo de Amostras para Análise de Compostos Orgânicos*. Rio de Janeiro. LTC, p.2-8, 2015.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Secretaria de Defesa Agropecuária: Manual de garantia da qualidade analítica. Brasília, DF, MAPA, 2011, p.277.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Brasília, DF, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003.

Cascaes, M. J. Ocorrência de PCBs, PBDEs e pesticidas organoclorados em *Prionace glauca* da costa sul brasileira. 2009. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico. Universidade de São Paulo.

Chiaradia, M. C.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. *Química Nova*, v.31, n.3, p.623-636, 2008.

Collins, C. H., Braga, G. L., Bonato, P. S. Fundamentos de cromatografia. Editora da Unicamp – SP, 2006.

Costa, L. G., Giordano, G.; Tagliaferri, S.; Cacchieri, A.; Mutti, A. Polybrominated diphenyl ether (PBDEs) flame retardants: environmental contamination, human body burden and potential adverse health effects. *Acta Biomedica*, v.79, p.172-183, 2008.

Covaci, A.; Roosens, L.; Dirtu, A. C.; Waegeneers, N.; Overmeire, I. V.; Neels, H.; Goeyens, L. Brominated flame retardants in Belgian home-produced eggs: Levels and contamination sources. *Science of the Total Environment*, 407, 4387-4396, 2009.

Covaci, A.; Malarvannan, G. Brominated Flame Retardants. *The Handbook of Environmental Chemistry*, DOI 10.1007/698_2015_339, 2015.

Cruz, R.; Marques, A.; Cunha, S. C.; Casal, S. Polybrominated diphenyl ethers and metabolites – An analytical review on seafood occurrence. *Trends in Analytical Chemistry*, v.87, p.129-144, 2017.

Darnerud P.O.; Atuma, S.; Aune, M.; Bjerselius, R.; Glynn, A.; Petersson Grawé, K.; Becker, W. Dietary intake estimations of organohalogen contaminants (dioxins, PCB, PBDE, and chlorinated pesticides, e.g. DDT) based on Swedish market basket data. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1597-1606, 2006.

Dirtu, A. C.; Abdallah, M.; Covaci, A. Advances in the sample preparation of brominated flame retardants and other brominated compounds. *Trends in Analytical Chemistry*, v.43, p.189-203, 2013.

Domínguez, A. A.; Law, R. J.; Herzke, D.; Boer, J. Bioaccumulation of Brominated Flame Retardants. *The Handbook of Environmental Chemistry* (2011) - DOI 10.1007/698_2010_95.

Domingo J. L. Polybrominated diphenyl ether in food and human dietary exposure: A review of the recent scientific literature. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 238-249, 2012.

European Food Safety Authority (EFSA), Scientific Opinion on Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Food. *EFSA Journal*, v.9, n.5, 274 p., 2011, Parma, Italy.

Flame Retardants Online - FROL. Disponível em: <http://www.flameretardants-online.com/web/en/106/7ae3d32234954e28e661e506e284da7f.htm>. Acesso em: fevereiro/2017.

Fromme, H. Occurrence of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane (2018). Encyclopedia of environmental health, 2nd Edition. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.11242-4>.

Gandhi, N.; Gewurtz, S. B.; Drouillard, k. G.; Kolic, T.; MacPherson, K.; Reiner, E. J.; Bhavsar, S. P. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Great Lakes fish: Levels, patterns, trends, and implications for human exposure. *Science of the Total Environmental*, 576, 907-916, 2017.

Gjelstad, A.; Pedersen-Bjergaard, S. Challenges and new directions in analytical sample preparation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.406, p.375–376, 2014.

Gong, Y.; Wen, S.; Zheng, C.; Peng X.; Li, Y.; Hu, D.; Peng, L. Potential risk assessment of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) by consuming animal-derived foods collected from interior areas of China. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 8349-8258, 2015.

Guilivo, M.; Suciú, N. A.; Eljarrat, E.; Gatti, M.; Capri, E.; Barcelo, D. Ecological and human exposure assessment to PBDEs in Adige River. *Environmental Research*, v.164,p.229-240, 2018

He, Y.; Murphy, M. B.; Yu, R. M. K.; Lama, M. H. W.; Hecker, M.; Giesy, J. P.; Wu, R. S. S.; Lama, P. K. S. Effects of 20 PBDE metabolites on steroidogenesis in the H295R cell line. *Toxicology Letters*, v.176, n.3, p.230–238, 2008.

Hu, G. C.; Dai, J. Y.; Xu, Z. C.; Luo, X. J.; Cao, H.; Wang, J. S.; Mai, B. X.; Xu, M. Q. Bioaccumulation behavior of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the freshwater food chain of Baiyangdian Lake, North China. *Environmental International*. New York. v.38, n.4, p.309-315, 2010.

Hu, X.; Hu, D. Levels of methoxylated polybrominated diphenyl ethers and polybrominated diphenyl ethers in hen eggs from China. *Analytical Chemistry Research*, v.2, p.1-14, 2014.

Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística - IBGE. Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), Aquisição alimentar domiciliar per capita anual, por grandes regiões, segundo os produtos, período 2008-2009, 2013.

Kalachova, K. Pulkrabova, J.; Cajka, T.; Hajslova, J. Determination of Brominated Flame Retardants (BFRs) in fish tissue using an optimized extraction/clean up procedure and the Agilent 7000 triple quadrupole GC/MS System. *Agilent technologies*, 2013.

Król, S.; Zabiegala, B.; Namiésnik, J. PBDEs in environmental samples: Sampling and analysis. *Talanta*, v.93, p.1-17, 2012.

Johnson-Restrepo, B.; Kannan, K. Na assessment of source and pathways of human exposure to polybrominated diphenyl ether in the United State. *Chemosphere*, 79, 542-548, 2009.

Lavandier, R.; Quinete, N.; Hauser-Davis, R. A.; Dias, P. S.; Taniguchi, S.; Montone, R.; Moreira, I. Polybrominated biphenyls (PCBs) and Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in three fish species from na estuary in the southeastern coast of Brazil. *Chemosphere*, 90, 2435-2443, 2013.

Martellini, T.; Diletti, G.; Scortichini, G.; Lolini, M.; Lanciotti, E.; Katsoyiannis, A.; Cincinelli, A. Occurence of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foodstuffs in Italy and implication for human exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 89, 32-38, 2016.

Martínez-Moral, M. P. Métodos analíticos para la determinación de compuestos disruptores endocrinos. 2015. Tese de Doutorado. Universidad de la Rioja.

Martínez-Moral, M. P.; Tena, M. T. Use of microextraction by packed sorbents following selective pressurized liquid extraction for the dertermination of brominated diphenyl ether in sewage sludge by chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, v.1364, n.2014, p.28-35, 2014.

Matamoras, V.; Sala, L.; Salvadó, V. Evaluation of a biologically-based filtration water reclamation plant for removing emerging contaminants: a pilot plant study. *Bioresource Technology*, v.104, p.243-249, 2012.

Mortimer, D. N. Persistent organic pollutants in foods: science, policy and regulation. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, p.3-19, 2013.

Ni, K.; Lu, Y.; Wang, T.; Kannan, K.; Gosens, J.; Xu, L.; Li, Q.; Wang, L.; Liu, S. A review of human exposure to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in China. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 216, n.2013, p.607–623, 2013.

Omar, M. L.; Alharbi, A. A. B.; Rafat, A.; Khattab, I. A. Health and environmental effects of persistent organic pollutants. *Journal of Molecular Liquids*, v.263, p.442-453, 2018.

Official Methods Of Analysis – OMA - AOAC INTERNATIONAL. Lipids and Lipid Phosphorus (P2O5) in Eggs. <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=19341>. Accessed in March 2018.

Peng, J-H.; Huang, C-W.; Weng, Y-M.; Yak, H-K. Determination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish samples from rivers and estuaries in Taiwan. *Chemosphere*, v.66, p.1990–1997, 2007.

Pestana, C. R.; Borges, K. B.; Fonseca, P.; Oliveira, D. P. Risco ambiental da aplicação de éteres de difenilas polibromadas como retardantes de chama. *Revista Brasileira de Toxicologia*, v.21, n.2, p.41-48, 2008.

Pirard, C.; Pauw, E. Absorption, disposition and excretion of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in chicken. *Chemosphere*, 66, 320-325, 2007.

Pietrón, W. J.; Matagocki, P. Quantification of polybrominated diphenyl ether (PBDE) in food. A review. *Talanta*, 167, 411-427, 2017.

Queiroz, M. E. C. Microextração em Sorvente Empacotado (MEPS). Keyller Bastos Borges, Eduardo Costa de Figueiredo, Maria Eugênia Costa Queiroz. *Preparo de Amostras para Análise de Compostos Orgânicos*. Rio de Janeiro. LTC, 2015, p.164-170.

Rahman, F.; Langford, K. H.; Scrimshaw, M. D.; Lester, J. N. Polybrominated diphenyl ether (PBDEs) flame retardants (Review). *Science of the Total Environment*, v. 275, p. 117, 2001.

Reiner, E. J., Jobst, K. J.; Megson, D.; Dorman, F. L.; Focant, J.-F. Analytical Methodology of POPs. *Environmental Forensics for Persistent Organic Pollutants*, Chapter 3, 2014.

Salami, F. H.; Queiroz, M. E. C. Microextraction in packed sorbent for determination of sulfonamides in egg samples by liquid chromatography and spectrophotometric detection. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.22, n.9, p.1656-1661, 2011.

Schechter, A., Harris, T.R., Shah, N., Musumba, A., Papke, O. Brominated flameretardants in US food. *Molecular Nutrition & Food Research*, v.52, p.266–272, 2008.

Schechter, A.; Smith, S.; Colacino, J.; Malik, N.; Opel, M.; Paepke, O.; Birnbaum, L. Contamination of U.S. Butter with Polybrominated Diphenyl Ethers from Wrapping Paper. *Environmental Health Perspectives*, v.119, n.2, p.151-119, 2011.

Shao, J.; Echert M. L.; Lee, L. E.; Gallagher, E. P. Comparative oxygen radical formation, and toxicity of BDE 47 in rainbow trout cell lines. *Marine Environmental Research*, v.66, p.7–8, 2008.

Skoog, D. A.; Holler; Crouch, S. R. *Princípios da Análise Instrumental*. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

Staskal, D. F.; Scott, L. L.; Haws, L. C.; Luksemburg, W. L.; Birnbaum, L. S.; Urban, J. D.; Willians, E. S.; Paustenbach, D. J.; Harris, M. A. Assessment of Polybrominated diphenyl ether exposure and health risk associated with consumption of southern Mississippi catfish. *Environmental Science Technology*, 42, 6755-6761, 2008.

Szlinder-Richert, J.; Barska, I.; Usydus, Z.; Grabic, R. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in selected fish species from the southern Baltic Sea. *Chemosphere*, 78, 695-700, 2010.

Tritscher A., Stadler R., Scanlan F., Collingro C., Pöpke O. Determination of PBDEs in samples of raw cow's milk, fish and eggs. *Organohalogen Compounds*, 61, 131-134, 2003.

United Nations Environment Programme - UNEP, 2009. The 9 new POPs under the Stockholm Convention. Disponível em: <http://chm.pops.int/> Acesso em: fevereiro 2016.

United States Department Of Agriculture - USDA. Agricultural Research Service: National Nutrient Database for Standard Reference. Release 26, Disponível em: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>. Acesso em: dezembro de 2016.

United States Environmental Protection Agency - US. EPA. Furniture flame retardancy partnership: Environmental profiles of chemical flame-retardant alternatives for low-density polyurethane foam. Rep. n.742-R-05-002A, USEPA, Washington, D.C., 2009.

United States Environmental Protection Agency - US. EPA, 2014. Disponível em: <http://www2.epa.gov/columbiariver/chemicals-emerging-concern>. Acesso em: abril/2015.

United States Geological Survey - USGS, 2014. Disponível em: <http://toxics.usgs.gov/regional/emc/>. Acesso em: abril/2015.

Van Orvermeire, I.; Pussemier, L.; Waegeneers, N.; Hanot, V.; Windal, V.; Boxis, L.; Covaci, A.; Eppe, G.; Scippo, M. L.; Sioen, I.; Bilau, M.; Gellynck, X.; De Steur, H.; Tangni, E. K.; Goeyens, L. Assessment of the chemical contamination in home-produced eggs in Belgium: General overview of the CONTEGG study. *Science of the total Environment*, 407, 4403-441, 2009.

Viberg, H.; Fredriksson, A.; Eriksson, P. Changes in spontaneous behaviour na altered response to nicotine in adult rat, after neonatal exposure to the brominted flame retardant, decabrominated diphenyl ether (PBDE 209). *NeuroToxicology*, 28, 136-142, 2007.

Xu, W.; Wang, X.; Cai, Z. Analytical of the persistent organic pollutants identified in the Stockholm Convention: A review. *Analytical Chimica Acta*, 790, 1-13, 2013.

Wang, H-S.; Du, J.; Ho, K-L., Leung, H-M.; Lam, M. H-W.; Giesy, J. P.; Wong C. K-C.; Wong, M-H. Exposure of Hong Kong residents to PBDEs and theirs strutral analogues through market fish consumption. *Journal of Hazardous Materials*, 192, 374-380, 2011.

Wit, C. A., Balmer, J.; Muir, D. C. G.; Vorkamp, K.; Wilson, S. Chemicals of emerging Arctic Concern: Preface. *Emerging Contaminants*, v.5, p1-3, 2019.

Yang, L.; Said, R.; Abdel-Rehim, M. Sorbent, Device, Matrix and Application in Microextraction by Packed Sorbent (MEPS): A Review. *Journal of Chromatography B*, v.1043, p.33-43, 2017.

Yan, S.; Subramanian, B.; Tyagi, R. D.; Surampalli, R. Y.; Zhang, T. C. Emerging Contaminants of Environmental Concern: Source, Transport, Fate and Treatment. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic and Radioactive Waste Management*, v.14, p.2-20, 2010.

World Health Organization - WHO. EVALUATION OF CERTAIN FOOD CONTAMINANTS. Sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2006.

Zeng, Y-H.; Luo, X-J.; Tang, B.; Mai, B-X. Habitat- and species-dependent accumulation of organohalogen pollutants in home-Produced eggs from an electronic waste recycling site in South China: Levels, profiles, and human dietary exposure. *Environmental Pollution*, 216, 64-70, 2016.

Zhihua, L.; Panton, S.; Marshall, L.; Fernandes, A.; Rose, M.; Smith, F.; Holmes, M. Spatial analysis of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polybrominated biphenyls (PBBs) in fish collected from UK and proximate marine waters. *Chemosphere*, 195, 727-734, 2018.

Zhou, Y.; Chen, Q.; Du, X.; Yin, G.; Qiu, Y.; Ye, L.; Zhu, Z.; Zhao, J. Occurrence and trophic magnification of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and their methoxylated derivatives in freshwater fish from Dianshan Lake, Shanghai, China. *Environmental Pollution*, v.219, p.938-938, 2016.