

**CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS –
CEFET-MG
QUÍMICA TECNOLÓGICA**

DANIEL RIBEIRO BATISTA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA IDENTIFICAÇÃO DOS
PIRETROIDES CIPERMETRINA E DELTAMETRINA POR GC-MS EM
PREPARADO DE CAFÉ**

BELO HORIZONTE, MG

2023

DANIEL RIBEIRO BATISTA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA IDENTIFICAÇÃO DOS
PIRETROIDES CIPERMETRINA E DELTAMETRINA POR GC-MS EM
PREPARADO DE CAFÉ**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Química Tecnológica.

Orientador: Prof. Dr. Ildefonso Binatti

Coorientador: Ms. Rogério Araujo Lordeiro

CEFET-MG
Belo Horizonte (MG)

2023

DANIEL RIBEIRO BATISTA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA IDENTIFICAÇÃO DOS
PIRETROIDES CIPERMETRINA E DELTAMETRINA POR GC-MS EM
PREPARADO DE CAFÉ**

**Trabalho de Conclusão de Curso do
Bacharelado em Química Tecnológica
CEFET-MG**

Belo Horizonte, 16 de Junho de 2023

**Prof. Dr. Ildefonso Binatti
(orientador – CEFET-MG)**

**Ms. Rogério Araujo Lordeiro
(coorientador – PCMG)**

**Prof. Dr. Patterson Patricio de Souza
(avaliador – CEFET-MG)**

**Prof^a. Dr^a. Patrícia Sueli de Rezende
(avaliadora – CEFET-MG)**

DEDICATÓRIA

Ao objetivo de um Brasil potente na ciência.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é fruto de anos de esforços e dedicação, mas também de muita sorte. Desde o final do ensino médio, possuía um imenso desejo de cursar a graduação em uma instituição pública, porém parecia um sonho distante demais para que eu pudesse alcançar. Após a formação no ensino médio, conquistei uma vaga em uma universidade privada que foi fundamental para a construção do arcabouço intelectual que me faria acreditar na minha própria capacidade de alcançar os meus sonhos. Com as ferramentas adquiridas, eu novamente me inscrevi e finalmente conquistei a vaga na instituição pública que desejava. Com idas e vindas, com altos e baixos, com sucessos e fracassos, eu me construí e me encontrei. Este trabalho é o resultado final dessa longa caminhada pelo ensino superior, pelo menos até agora. No entanto, nada disso teria sido possível sem o auxílio contínuo e inabalável da minha família, principalmente da minha querida mãe, Vânia, que sempre trabalhou e ofereceu tudo o que podia para que seus filhos alcançassem seus sonhos. Portanto, agradeço muito a ela por tudo. Agradeço muito também ao meu irmão, Leonardo, pelo seu apoio e auxílio em todos os momentos em que foram necessários ao longo da vida. Na faculdade, conheci aquele que seria o meu melhor amigo, Allefy, cuja companhia e ajuda no curso e fora dele foram indispensáveis para que eu chegasse até aqui. Agradeço também à querida professora Adriana Akemi Okuma, que foi muito importante para que eu sequer tivesse a oportunidade de realizar este trabalho. Também sou muito grato ao meu supervisor e coorientador Rogério Araujo Lordeiro, que é uma pessoa maravilhosa sempre disposta à ajudar. Da mesma forma, agradeço profundamente ao meu orientador Ildefonso Binatti, que auxiliou em todos os momentos para que este trabalho pudesse ser realizado. Agradeço também a todos os professores que tive desde o ensino infantil até o superior, assim como a todos os meus amigos que, próximos ou distantes, contribuíram na minha formação e na minha estabilidade emocional para que desse conta de passar por tudo o que passei para alcançar os meus objetivos.

RESUMO

BATISTA, D. R.; BINATTI, I.; LORDEIRO, R. A. Desenvolvimento de Método para Identificação dos Piretroides Cipermetrina e Deltametrina por GC-MS em Preparado de Café.

Os piretroides são inseticidas bastante utilizados na agricultura e em ambientes domésticos. Eles atuam principalmente no sistema nervoso, causando *knockdown* nos insetos; no entanto, o uso indevido desses inseticidas contra seres humanos pode levar até à morte, o que torna necessário o desenvolvimento de métodos simples e rápidos para a sua identificação em laboratório para auxiliar em investigações criminais. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento de método para identificação dos piretroides cipermetrina e deltametrina por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em amostra de preparado de café. Para tanto, desenvolveu-se um método utilizando a extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura modificada para realizar a extração dos piretroides do café, seguindo com análise no GC-MS e, então, substituição em equações, com regressões polinomial cúbica e linear, de curvas de calibração preparadas com duas misturas de solventes diferentes nos *vials*: água ultrapura e metanol HPLC (1:1) e extrato de café e metanol HPLC (1:1). Os resultados foram a identificação dos piretroides utilizando a técnica de extração líquido-líquido por partição em baixa temperatura modificada; no entanto, ambas as misturas de solventes nos *vials* apresentaram baixa repetibilidade nas análises, obtendo-se também recuperações com grandes variações. Concluiu-se que o método é adequado para identificação dos piretroides cipermetrina e deltametrina de maneira rápida, simples e econômica; porém, não é eficaz para quantificação.

Palavras-chave: piretroides, cipermetrina, deltametrina, gc-ms, método de determinação.

ABSTRACT

BATISTA, D. R.; BINATTI, I.; LORDEIRO, R. A. Development of Method for Identification of Cypermethrin and Deltamethrin Pyrethroids by GC-MS in Filtered Coffee Sample.

Pyrethroids are insecticides widely used in agriculture and domestic environments. They act mainly on the nervous system, knocking insects down; however, the misuse of these insecticides against humans can lead to death, which makes it necessary to develop simple and quick methods for their identification in laboratory environment to aid in criminal investigations. In this context, the objective of this research was the development of a method for the determination of the pyrethroids cypermethrin (Cy) and deltamethrin (De) by gas chromatography – mass spectrometry using a coffee sample. To this end, a method was developed using a modified liquid-liquid extraction with low-temperature partitioning to perform the extraction of pyrethroids from coffee, followed by analysis in GC-MS and then substitution in equations, with third degree polynomial and linear regressions, of calibration curves prepared with two different solvent mixtures: ultrapure water and methanol HPLC (1:1) and coffee extract and methanol HPLC (1:1). The results were the identification of pyrethroids using the modified liquid-liquid extraction with low-temperature partitioning technique; however, both solvent mixtures in the vials showed low repeatability in the analyses, leading also to recoveries with large variations. It was concluded that the method is suitable for identifying the pyrethroids cypermethrin and deltamethrin in a quick, simple and economical way; however, it is not effective for quantification.

Keywords: pyrethroids, cypermethrin, deltamethrin, gc-ms, method of determination.

摘要

BATISTA, D. R.; BINATTI, I.; LORDEIRO, R. A. 过滤咖啡样品中氯氰菊酯和溴氰菊酯拟除虫菊酯的 GC-MS 鉴定方法的建立.

拟除虫菊酯是广泛用于农业和家庭环境的杀虫剂。它们主要作用于神经系统，击倒昆虫；然而，这些杀虫剂对人类的滥用可能导致死亡，这使得有必要开发简单快速的方法来在实验室环境中测定它们以帮助刑事调查。在这种情况下，本研究的目的是开发一种通过气相色谱-质谱法使用咖啡样品测定拟除虫菊酯类氯氰菊酯 (Cy) 和溴氰菊酯 (De) 的方法。为此，开发了一种方法，使用低温分配的改良液-液萃取法从咖啡中提取拟除虫菊酯，然后在 GC-MS 中进行分析，然后代入方程，使用三次多项式和线性回归，使用以下不同溶剂混合物制备的校准曲线：超纯水和甲醇 HPLC (1:1) 以及咖啡提取物和甲醇 HPLC (1:1)。结果是利用改进的低温液-液萃取技术对拟除虫菊酯进行了鉴定；然而，小瓶中的两种溶剂混合物在分析中均表现出低重复性，而且获得的回收率也存在较大差异。结论该方法适用于拟除虫菊酯类氯氰菊酯和溴氰菊酯的快速、简便、经济的鉴定；但是，它对量化无效。

关键词: 拟除虫菊酯, 氯氰菊酯, 溴氰菊酯, GC-MS, 测定方法.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

Figura 1 – Estruturas das seis piretrinas de ocorrência natural.....	4
Figura 2 – Estruturas dos piretroides do tipo I.....	6
Figura 3 – Estruturas dos piretroides do tipo II.....	7
Figura 4 – Elementos essenciais da relação estrutura-atividade dos piretroides ilustrada pelas estruturas da piretrina I e do etofenprox.....	9
Figura 5 – Estruturas do 1 <i>R</i> inseticida e do 1 <i>S</i> não inseticida dos grupos do ácido crisântemico dos piretroides.....	11
Figura 6 – Diagrama esquemático de um cromatógrafo gasoso.....	19
Figura 7 – Esquema de um instrumento GC-MS típico.....	20
Figura 8 – Cromatograma da análise de um <i>vial</i> contendo os piretroides cipermetrina e deltametrina em uma mistura de solventes de extrato de café e metano HPLC (1:1).....	21
Figura 9 – Modo SIM em GC-MS.....	22
Figura 10 – Esquema da técnica ELL-PBT.....	24
Figura 11 – Comparação dos cromatogramas do teste de solventes.....	31
Figura 12 – Comparação dos cromatogramas do teste de solventes utilizando acetona.....	33

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Resultados do teste de solventes.....	32
Gráfico 2 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 1 (Cy 1) da mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1).....	38
Gráfico 3 - Regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 2 (Cy 2) da mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1).....	39
Gráfico 4 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 1 (Cy 1) da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1).....	41
Gráfico 5 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 2 (Cy 2) da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1).....	42
Gráfico 6 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da deltametrina 1 (De 1) da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1).....	43
Gráfico 7 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da deltametrina 2 (De 2) da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1).....	44

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Propriedades físicas e químicas da cipermetrina e deltametrina.....	8
Quadro 2 – Classificação dos piretroides.....	13
Quadro 3 – Toxicidades orais agudas de piretroides para ratos.....	14

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Volumes da solução de piretroides, café e acetonitrila utilizados na recuperação.....	27
Tabela 2 – Parâmetros do GC.....	28
Tabela 3 – Parâmetros do MS.....	29
Tabela 4 – Resultados do teste de solventes.....	31
Tabela 5 – Resultados do teste de solventes com acetona.....	34
Tabela 6 – LOD e LOQ para a mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1).....	35
Tabela 7 – LOD e LOQ para a mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1).....	35
Tabela 8 – Tempos de retenção e áreas dos picos dos cromatogramas da (pseudo)triplicata com a mistura de solventes água ultrapura e metanol HPLC (1:1)....	37
Tabela 9 – Tempos de retenção e áreas dos picos dos cromatogramas da (pseudo)triplicata com a mistura de solventes extrato de café e metanol HPLC (1:1)....	40
Tabela 10 – Resultados da recuperação para as concentrações de 50, 25 e 6,25 ppm em (pseudo)triplicata.....	46
Tabela 11 – Resultados das concentrações da recuperação utilizando as equações das regressões polinomiais cúbicas das curvas de calibração.....	47
Tabela 12 – Médias das recuperações com intervalo de confiança de 95% utilizando as equações das regressões polinomiais cúbicas.....	48
Tabela 13 – Resultados das concentrações da recuperação utilizando as equações das regressões lineares das curvas de calibração.....	49
Tabela 14 – Médias das recuperações com intervalo de confiança de 95% utilizando as equações das regressões lineares.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATSDR	Agência para o Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças (EUA)
AUM	Água Ultrapura e Metanol HPLC (1:1)
CR	Concentração Resultante
CS	Síndrome de Intoxicação de Coreoatetose com Salivação
Cy	Cipermetrina
D	<i>Scale Interval</i>
De	Deltametrina
DE	Departamento de Emergência
DL ₅₀	Dose Letal Mediana
DP	Desvio Padrão
E	<i>Verification Scale Interval</i>
ECM	Extrato de Café e Metanol HPLC (1:1)
EI	<i>Electron Impact</i>
EIC	<i>Extracted Ion Chromatogram</i>
ELL-PBT	Extração Líquido-Líquido com Partição em Baixa Temperatura
EPI	Equipamento de Proteção Individual
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i>
GC-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas
HPLC	<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>
IUPAC	União Internacional da Química Pura e Aplicada
LC	<i>Liquid Chromatography</i>
LC-MS	<i>Liquid Chromatography – Mass Spectrometry</i>
LOD	<i>Limit of Detection</i>
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>
MDPI	<i>Multidisciplinary Digital Publishing Institute</i>
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
NCI	<i>Negative Chemical Ionization</i>
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe</i>
R ²	Coefficiente de Determinação
SIM	<i>Selected Ion Monitoring</i>
SPE	<i>Solid-Phase Extraction</i>
T	Síndrome de Intoxicação de Tremor

TIC	<i>Total Ion Chromatogram</i>
TR	Tempo de Retenção
USGS	<i>United States Geological Survey</i>

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	iii
AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	v
Palavras-chave.....	v
ABSTRACT.....	vi
Keywords.....	vi
摘要.....	vii
关键词.....	vii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	viii
LISTA DE GRÁFICOS.....	ix
LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Definição de Inseticida.....	3
2.2 Piretroides.....	4
2.3 Toxicidade.....	9
2.4 Uso Indevido.....	14
2.5 Métodos de Análise de Piretroides.....	17
2.6 Métodos de Extração.....	22
3 METODOLOGIA.....	25
3.1 Procedimento Experimental.....	25
3.2 Reagentes e Equipamentos.....	25
3.3 Extração Líquido-Líquido por Partição em Baixa Temperatura.....	26
3.4 Curva de Calibração.....	27
3.5 Parâmetros do GC-MS.....	27
3.6 Cálculo do Limite de Quantificação (LOQ) e do Limite de Detecção (LOD)....	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 Solução Estoque de Piretroides.....	30
4.2 Teste de Solventes.....	30

4.3 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ).....	34
4.4 Curvas de Calibração.....	36
4.5 Recuperação.....	45
5 CONCLUSÃO.....	51
6 REFERÊNCIAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Agência para o Registro de Substâncias Tóxicas e Doenças dos Estados Unidos da América, do inglês *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR), os piretroides compõem uma classe de compostos orgânicos de estruturas semelhantes às das piretrinas produzidos para comercialização e uso domiciliar. Eles possuem aplicação principal como inseticidas, sendo mais tóxicos que as piretrinas e permanecendo por tempos mais longos no meio ambiente (ATSDR, 2003). A descoberta dos piretroides sintéticos ocorreu na década de 1960 através do trabalho do químico britânico Michael Elliott, inicialmente com a bioresmetrina em 1967 (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005). Atualmente, há dezenas de compostos classificados como piretroides, p. ex.: a Permetrina, a Cipermetrina, a Deltametrina, a Flumetrina, Etofenprox e vários outros (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005).

Os piretroides foram desenvolvidos principalmente para uso como inseticidas na agricultura, dado que as piretrinas não possuíam estabilidade suficiente no meio ambiente para essa aplicação. No final da década de 1970, no entanto, estruturas fotoestáveis foram introduzidas com os novos compostos sintéticos, levando os piretroides a rapidamente ocuparem uma grande fatia do mercado, substituindo os organoclorados, organofosfatos e carbamatos (SODERLUND, 2019). O mecanismo de ação dos piretroides em insetos e outros invertebrados se baseia em alterar o funcionamento normal dos canais de sódio de seu sistema nervoso (SODERLUND et al., 2002). Em mamíferos, a toxicidade oral é moderada, enquanto que a dérmica é bem baixa; no entanto, os mecanismos de neurotoxicidade são semelhantes aos que ocorrem com os insetos (SODERLUND et al., 2002).

Os riscos que os piretroides conferem aos seres humanos estão reportados em casos de tentativas de suicídio (CHAM et al., 2016), acidentes, como a ingestão por crianças (O'MALLEY, 1997) e ocupacionais (HE et al, 1989). Os piretroides também podem intoxicar animais de estimação, como cães e gatos (FERNANDES, 2014). Esses casos reportados indicam a necessidade de desenvolvimento de metodologias para a identificação e quantificação dos piretroides, principalmente para o uso em investigações criminais no contexto brasileiro.

No presente trabalho, objetivou-se, inicialmente, o desenvolvimento de método para determinação dos piretroides cipermetrina (Cy, abreviação) e deltametrina (De,

abreviação) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, do inglês *Gas Chromatography – Mass Spectrometry* (GC-MS) em amostra de preparado de café; contudo, em função do tempo para a execução dos experimentos, este trabalho delimitou seus objetivos na proposição de um método para identificação da cipermetrina e deltametrina em café coado e avaliação do modelo de ajuste da curva de calibração.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Definição de Inseticida

O Glossário de Termos Relacionados aos Pesticidas da União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) publicado em 2006, define inseticidas como “pesticidas utilizados para o controle de insetos” (IUPAC, 2006), enquanto que pesticidas são descritos como uma

substância ou mistura de substâncias para prevenção, destruição ou controle de qualquer peste, incluindo vetores de doenças humanas ou de animais, espécies indesejadas de plantas ou animais que causam danos ou interfiram com a produção, processamento, armazenamento, transporte, ou comércio de alimentos, *commodities* agrícolas, madeira, produtos de madeira, ou alimentos de animais, ou que possam ser utilizados em animais para controle de insetos, ácaros/ácaros-aranha, ou outras pestes em seus corpos [...]. (IUPAC, p. 2123, 2006).

No Brasil, o termo mais comumente utilizado para pesticidas é “agrotóxico”, que é definido pela lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, art. 2º, inciso I, como

os produtos e os agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos [...]. (BRASIL, 1989).

Portanto, os inseticidas são substâncias capazes de alterar o meio em que são aplicadas, ocasionando mudanças físicas, químicas ou biológicas, porém, são voltadas ao controle de insetos em particular.

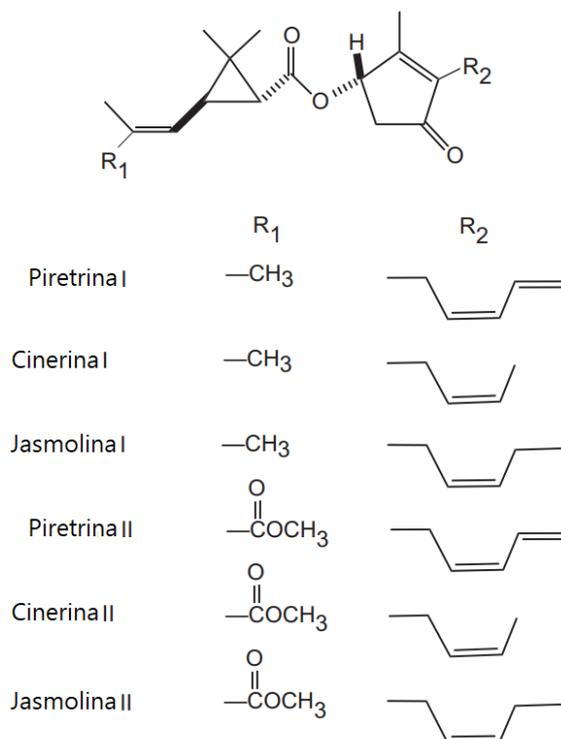
Segundo Matsumura (1975), os inseticidas foram desenvolvidos inicialmente através de métodos empíricos, checando diferentes compostos capazes de matar os insetos desejados. A necessidade do uso adequado dos inseticidas forçou os entomologistas a estudarem suas propriedades, levando-se em consideração o uso na agricultura e as questões de saúde pública. Os primeiros inseticidas químicos utilizados foram os arsenicais, óleos de petróleo e inseticidas botânicos como a nicotina e as piretrinas; já os primeiros inseticidas sintéticos orgânicos foram os compostos dinitro e os tiocianatos. Em 1874, descobriu-se o 1,1,1-tricloro-2,2-bis(*p*-clorofenil)etano, o DDT (que passou a ser utilizado como inseticida a partir de 1939). Imediatamente em seguida, vieram outros inseticidas de hidrocarbonetos clorados, como o Hexaclorobenzeno (HCB), o toxafeno, o clordano, aldrin e o dieldrin. Após, o alemão Gerhard Schrader introduziu os organofosfatos (categoria que inclui o parathion, Systox®, malathion,

EPN, diazinon e DDVP®, do inglês *(2,2-dichlorovinyl)-dimethyl-phosphate*). No final da década de 40, surgiram os carbamatos, que foram desenvolvidos pela Geigy Company (1947). O desenvolvimento dos inseticidas então ocorreu de maneira extremamente rápida na segunda metade do século XX (MATSUMURA, 1975).

2.2 Piretroides

Os piretroides são descritos pela IUPAC como “análogos sintéticos (frequentemente modificados pela adição de halogênios) dos inseticidas naturais piretrinas, incluindo permetrina, cipermetrina, deltametrina, e vários outros” (IUPAC, 2006). As piretrinas são os constituintes do inseticida natural *Pyrethrum* responsáveis pelo seu efeito inseticida (SODERLUND, 2019). O *Pyrethrum* é um extrato das flores da angiosperma *Tanacetum cinerariaefolium* (de sinônimos homotípicos: *Chrysanthemum cinerariifolium* e *Pyrethrum cinerariifolium* (SCHOCH, 2020)), que possuiu o Quênia como seu maior produtor durante muitos anos (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005). Na figura 1, adaptada de Soderlund (2019), são mostradas as estruturas das seis piretrinas de ocorrência natural.

Figura 1 – Estruturas das seis piretrinas de ocorrência natural

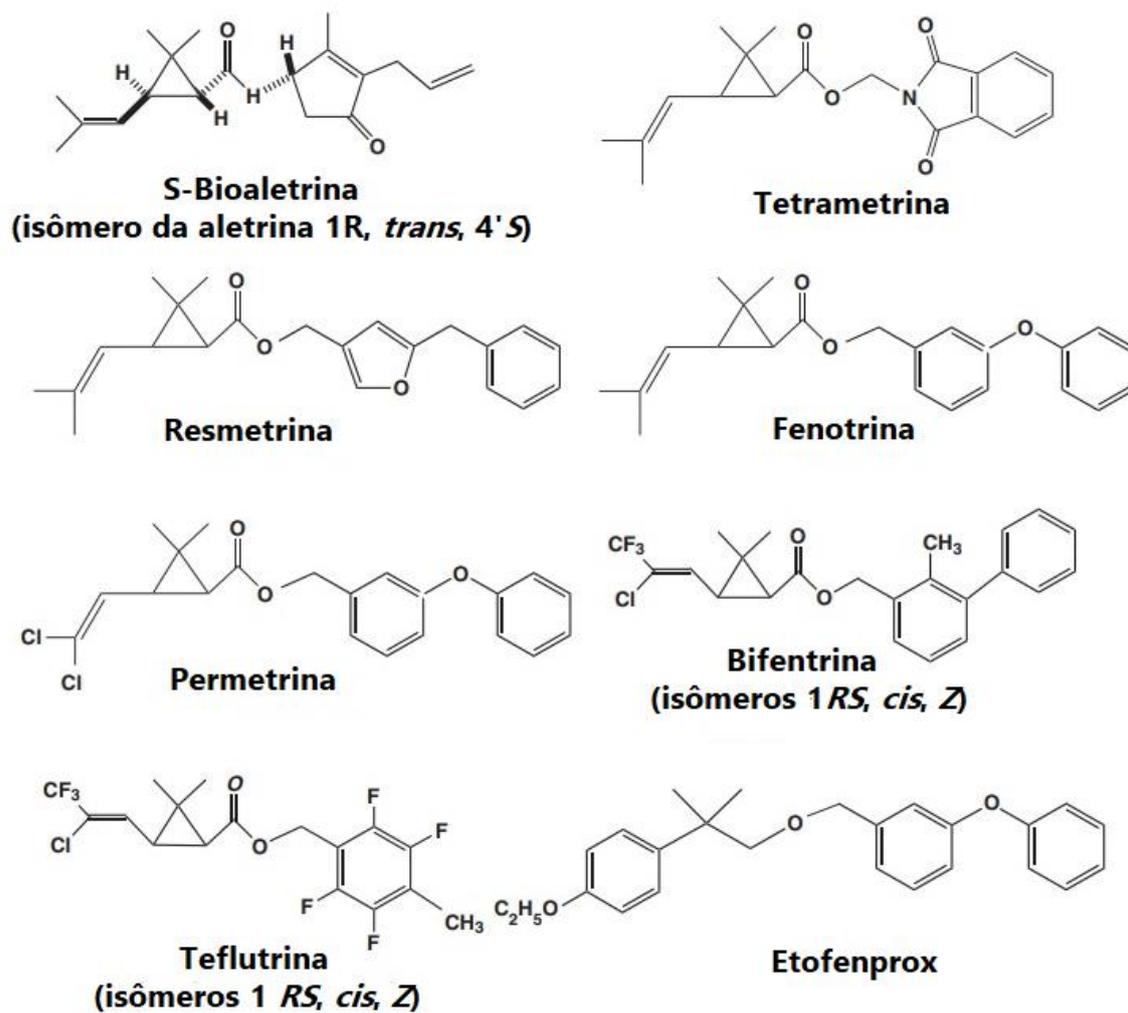


Fonte: Adaptado de Soderlund, 2019.

Os piretroides sintéticos foram desenvolvidos na década de 1960 através do trabalho do químico britânico Michael Elliot, que, segundo Khambay, B. e Jewess, P. (2005), teve como chave para o sucesso na pesquisa a escolha da estrutura da piretrina I, em vez da piretrina II, para iniciar as modificações que resultariam nas propriedades desejadas, já que a estrutura da I tem atividade inseticida superior à da II, embora essa última tenha melhor *Knockdown*, que é o efeito de deixar os insetos sem movimento temporariamente. Além disso, foi muito importante a seleção da espécie de teste nas pesquisas que, em vez de utilizar as próprias pestes agrícolas, resolveram usar insetos-modelo (a mosca doméstica *Musca domestica* e o besouro *Phaedon cochleariae*) (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005).

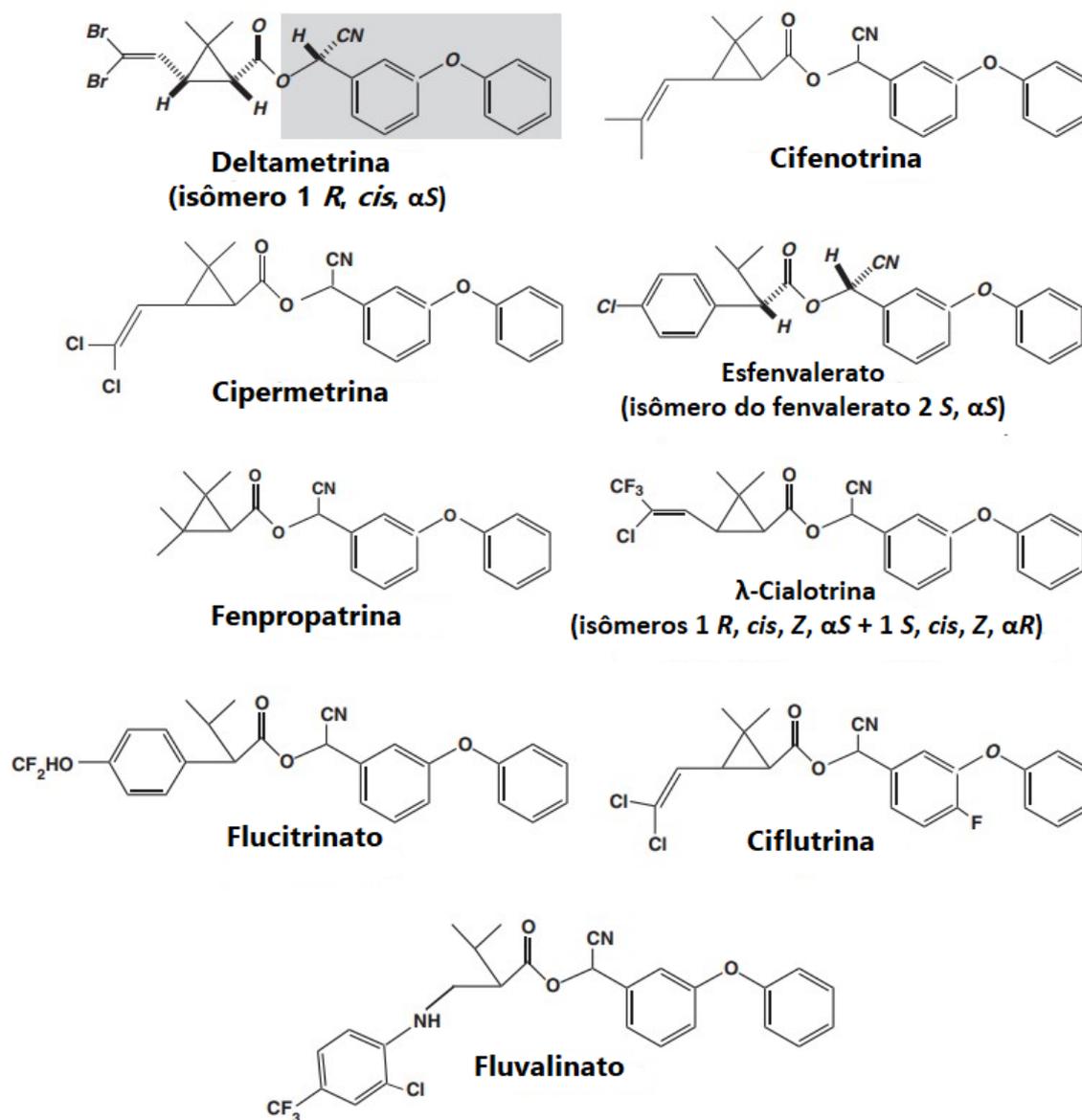
Segundo Soderlund (2019), os piretroides foram desenvolvidos tendo em vista a manutenção ou aumento da atividade inseticida das piretrinas enquanto a toxicidade aos mamíferos era mantida baixa; e, ao mesmo tempo, era necessário aumentar a estabilidade do novo inseticida, já que a fotoestabilidade em particular é necessária para o seu uso em campos agrícolas (SODERLUND, 2019, p. 114). De acordo com Khambay, B. e Jewess, P., (2005), o trabalho do Michael Elliot “culminou na descoberta da bioresmetrina em 1967, seguido pela permetrina, cipermetrina e deltametrina (1977)” (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005, p. 2). Esses últimos eram potentes e estáveis o suficiente para o uso agrícola (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005). Nas figuras 2 e 3, adaptadas de Soderlund (2019), são apresentadas algumas das estruturas dos piretroides do tipo I e do tipo II respectivamente, sendo que aqueles que utilizam isômeros otimizados ou são misturas definidas de isômeros têm a estereoquímica indicada. As estruturas do tipo II apresentam o grupo α -ciano-3-fenoxibenzil, que aparece escurecido na estrutura da deltametrina (SODERLUND, 2019). Esses dois grupos dos piretroides (tipo I e II) são separados por suas respostas biológicas (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005, p. 10), conforme pode ser visualizado no Quadro 2, página 13.

Figura 2 – Estruturas dos piretroides do tipo I



Fonte: Adaptado de Soderlund, 2019.

Figura 3 – Estruturas dos piretroides do tipo II



Fonte: Adaptado de Soderlund, 2019.

Hideo Kaneko (2010), da Companhia Química Sumitomo Ltda, explica que é possível classificar os piretroides também em piretroides de primeira geração (desenvolvidos na década de 1960) e de segunda geração (desenvolvidos na década de 1970), sendo que

A característica principal dos piretroides de primeira geração, que são ésteres dos derivados do ácido crisântemico e álcoois tendo um anel furânico e grupos de cadeias laterais terminais, é serem altamente sensíveis à luz, ar e temperatura. Portanto, esses piretroides têm sido usados principalmente para controle de pestes domésticas. [...] Por outro lado, os piretroides de segunda geração, que normalmente têm derivados do álcool 3-fenoxibenzil no grupo álcool, têm excelente atividade inseticida, assim como

estabilidade suficiente para condições externas pela substituição de grupos fotolábeis por diclorovinil, dibromovinil e anéis aromáticos. Por isso, os piretroides de segunda geração são usados mundialmente para o controle de pestes agrícolas. (KANEKO, p. 1635, 2010).

Os piretroides de primeira geração são mais tóxicos que o *Pyrethrum* e incluem a bioaletrina, a tetrametrina, a resmetrina, a bioresmetrina e outros; já nos piretroides de segunda geração, incluem-se a permetrina, cipermetrina, deltametrina e vários outros. Nota-se que a classificação em tipo I e tipo II não tem relação com a geração dos piretroides, já que, por exemplo, a permetrina pertence ao tipo I e a cipermetrina e deltametrina ao tipo II, mas estão todas juntas como piretroides de segunda geração.

Segundo Khambay, B. e Jewess, P. (2005), a cipermetrina e a deltametrina foram desenvolvidas por Michael Elliott em 1977. Ambos são piretroides de segunda geração e do tipo II. No Manual Hayes de Toxicologia de Pesticidas, 3ª edição, a nomenclatura química da cipermetrina é dada como (R,S)- α -Ciano-3-fenoxibenzil(1-R,S)-*cis-trans*-3-(2,2-diclorovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato. Ela é encontrada em quatro formas diferentes: (α -, β -, θ -, ξ -)cipermetrina – a variante α é uma mistura racêmica dos isômeros ((S)-(1-R)-*cis*) e ((R)-(1-S)-*cis*); a β é uma mistura de um par de enantiômeros na razão de 2:3; a variante θ é uma mistura dos enantiômeros ((S)-(1-R)-*trans*) e ((R)-(1-S)-*trans*) a 1:1; e, por último, a variante ξ é uma mistura que contém ((S)-(1-R,S)-*cis-trans*) (KANEKO, 2010). Sobre a deltametrina, o Manual Hayes de Toxicologia de Pesticidas, 3ª edição, fornece a sua nomenclatura química como (S)- α -Ciano-3-fenoxibenzil(1-R)-*cis*-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato. As propriedades físicas e químicas da cipermetrina e da deltametrina são apresentadas no Quadro 1 abaixo.

Quadro 1 – Propriedades físicas e químicas da cipermetrina e deltametrina

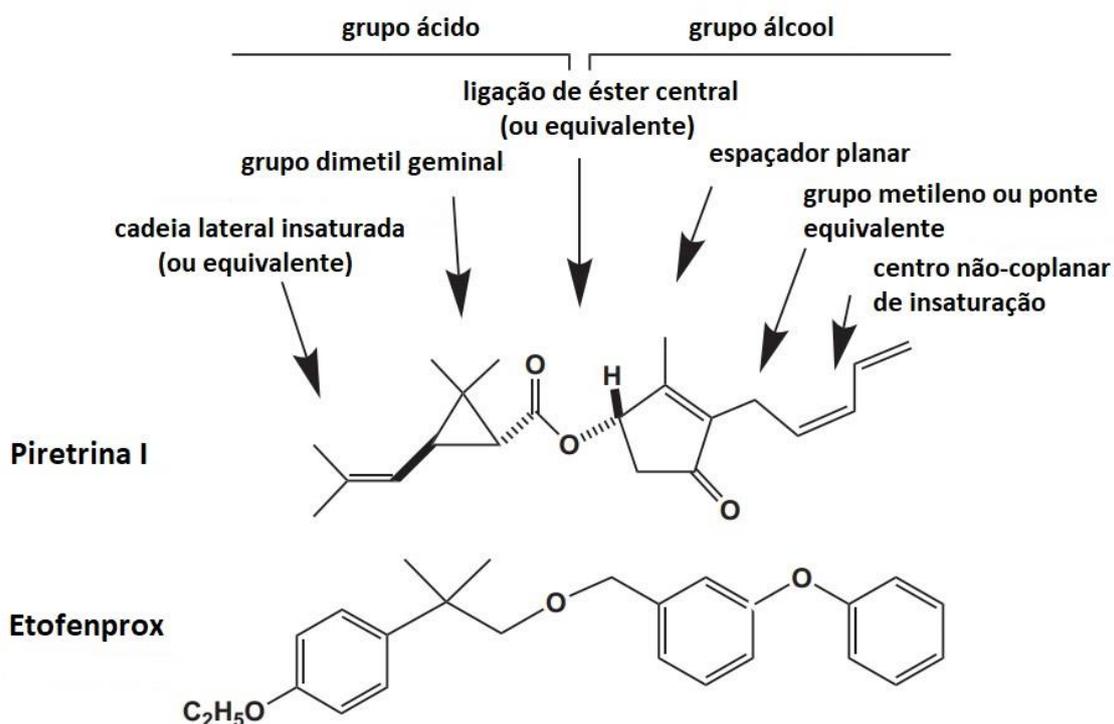
	Cipermetrina	Deltametrina
Fórmula Empírica	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Peso Molecular	416,3	505,2
Forma	semissólido viscoso marrom-amarelado	crystal incolor
Gravidade Específica	1,24 (20 °C)	0,55 (25 °C)
Log K _{ow} *	6,6	4,6
Solubilidade (água)	0,004 mg L ⁻¹ (20 °C)	<0,0002 mg L ⁻¹ (25 °C)
Comentário	É relativamente estável exposta à luz em meio levemente ácido, mas é instável em meio alcalino	É estável quando exposto ao ar e em condições ácidas, mas instável em meio alcalino

*logaritmo do coeficiente de partição água-octanol

2.3 Toxicidade

Os piretroides foram desenvolvidos a partir das estruturas das piretrinas, adicionando-se grupos funcionais na cadeia carbônica básica que aumentavam a sua ação inseticida, mas que conservavam a sua forma molecular e suas propriedades físicas (SODERLUND, 2019). O nível de atividade inseticida dos piretroides “é determinado pela penetração, metabolismo dentro do inseto, e os requisitos do local de interação” da molécula no sistema nervoso do inseto (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005, p. 6). Apesar das piretrinas e piretroides exibirem grande diversidade de atividade inseticida, é possível realizar uma generalização (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005, p. 6) e, na figura 4, pode-se observar os elementos essenciais para a relação estrutura-atividade entre a piretrina I e o etofenprox, piretroide do tipo I.

Figura 4 – Elementos essenciais da relação estrutura-atividade dos piretroides ilustrada pelas estruturas da piretrina I e do etofenprox



Fonte: Adaptado de Soderlund, 2019.

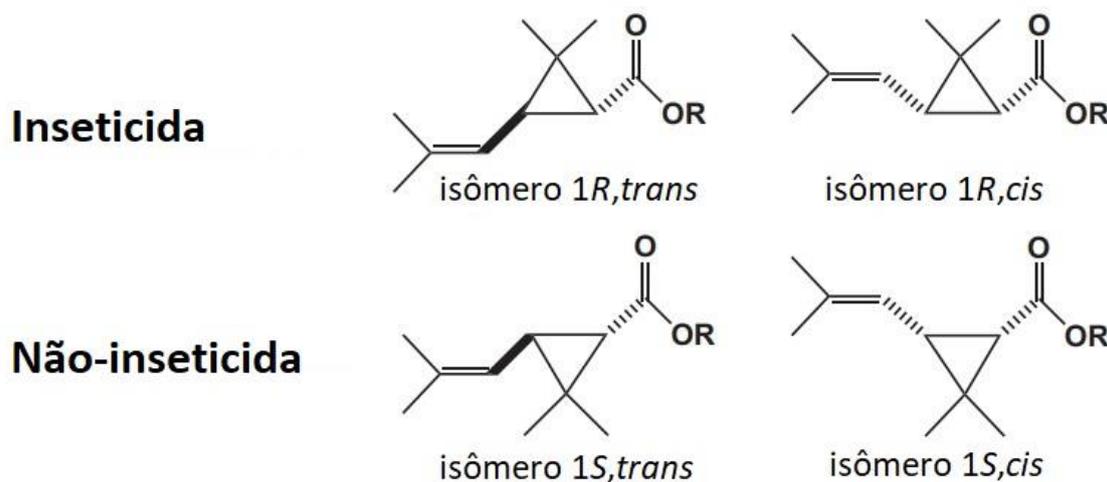
O processo de adição de novos grupos funcionais na estrutura básica das piretrinas resultou tanto no aumento no potencial inseticida quanto na fotoestabilidade, como explica Soderlund (2019):

Esse processo resultou em novos compostos com atividade inseticida semelhante à das piretrinas que, por sua vez, serviram para mais elaboração estrutural. A maioria dos esforços de descoberta iniciais manteve o grupo do ácido crisântemico da piretrina I constante e avaliaram ésteres desse ácido com uma variedade de álcoois, o que levou à resmetrina e à fenotrina. A substituição dos grupos metil por cloros no grupo ácido da fenotrina levaram à permetrina, o primeiro piretroide fotoestável. A inclusão de um substituinte α -Ciano no grupo 3-fenoxibenzil (como na cipermetrina e deltametrina) aumentou significativamente a atividade inseticida. Os ésteres do álcool α -Ciano-3-fenoxibenzil são considerados como uma classe estrutural separada dos piretroides (designados Tipo II), enquanto que o grupo diverso de piretroides que não possuem essa estrutura é designado de piretroides do Tipo I. (SODERLUND, p. 117, 2019).

Além dessas adições, outras incluíram o acréscimo do grupo ácido α -isopropilfenilacético ao substituir o grupo ácido ciclopropanocarboxilato das piretrinas, que é o caso do fenvalerato (SODERLUND, 2019). O etofenprox surgiu também da substituição desse mesmo grupo ácido das piretrinas, resultando em um piretroide que não tem a ligação de éster central comum em outros piretroides (SODERLUND, 2019). Nesse sentido, Soderlund (2019) conclui – “Fica claro, a partir da diversidade estrutural dos inseticidas piretroides, que não há nenhum toxóforo [grupo responsável pela ação tóxica da molécula] químico ou entidade reativa que seja necessária para a atividade do tipo piretroide” (SODERLUND, p. 118, 2019).

É importante mencionar ainda que a atividade inseticida dos piretroides é estereoespecífica, sendo que o grupo do ácido crisântemico da piretrina I contém dois centros quirais (SODERLUND, 2019). Na figura 5, é apresentada uma comparação entre as estruturas inseticidas dos grupos do ácido crisântemico dos piretroides.

Figura 5 – Estruturas do 1-*R* inseticida e do 1-*S* não inseticida dos grupos do ácido crisântemico dos piretroides



Fonte: Adaptado de Soderlund, 2019.

Sobre essa estereoespecificidade, Soderlund (2019) afirma que

[...] O grupo ácido crisântemico da piretrina I contém dois centros quirais nos carbonos 1 e 3 do anel ciclopropano, produzindo dois pares de diastereoisômeros. Somente os isômeros do ácido crisântemico e do ácido relacionado 3-substituído ciclopropanocarboxílico com a configuração *R* no C-1, ou a configuração equivalente em outros grupos ácidos quirais, que são inseticidas. Em contraposição, a atividade inseticida dos enantiômeros 1*S* é insignificante. Os enantiômeros no C-3 produzem um par de diastereoisômeros, que são comumente designados *trans* ou *cis* de acordo com a orientação dos substituintes no C-1 e C-3 em relação ao plano do anel de ciclopropano. Um substituinte insaturado no C-3 (*trans* ou *cis*) é necessário para uma alta atividade inseticida e para garantir uma estereoespecificidade profunda para os isômeros 1*R*. A dependência da atividade inseticida na configuração absoluta do carbono contendo o grupo ácido carbonil se estende até os ácidos não-ciclopropanos (e.g. esfenvalerato). (SODERLUND, p. 118, 2019).

O estereoisomerismo também ocorre com o grupo álcool dos piretroides quando há a presença de um centro quiral, sendo que somente um dos epímeros resultantes tem alta atividade inseticida (SODERLUND, 2019). A estereoespecificidade da atividade inseticida dos piretroides implica que a molécula deve se ligar de maneira intacta ao receptor quiral (SODERLUND, 2019).

Sobre o modo de ação dos piretroides, sabia-se que as piretrinas eram capazes de causar uma reação parálitica rápida (“*knockdown*”) nos insetos, o que sugeria atuação no sistema nervoso, particularmente nos canais de sódio (SODERLUND, 2019). Nas piretrinas, estudos eletrofisiológicos demonstraram que essas moléculas causam um

efeito hiperexcitatório, “evidenciado por explosões do potencial de ação após um estímulo, seguido por um bloqueio da condução do potencial de ação” (SODERLUND, p. 119, 2019). Segundo Soderlund (2019),

Os análogos do DDT e muitos piretroides do tipo I induziram um pós-potencial negativo e explosões repetidas do potencial de ação após um único estímulo, mas tiveram pouco ou nenhum efeito no potencial de repouso da membrana. De outra forma, muitos piretroides do tipo II não causaram atividade repetitiva, mas produziram um bloqueio da condução do nervo dependente do uso junto com a despolarização da membrana. Alguns compostos de ambas as classes estruturais de piretroides exibiram ações intermediárias, produzindo explosões de ação potencial de amplitude declinante acompanhadas de despolarização dependente do uso e subsequente bloqueio do nervo. (SODERLUND, p. 119, 2019).

No entanto, esse *knockdown* não é o mesmo que matar os insetos. Na verdade, os insetos costumam se recuperar completamente após alguns dias, mesmo com doses bem altas ($5 \times DL_{50}$); todavia, isso não diminui a eficácia dos piretroides, já que os insetos acabam morrendo por causas secundárias, como desidratação ou pela ação de predadores (KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005). Em vertebrados, particularmente em mamíferos, os canais de sódio sensíveis à diferença de potencial também são um dos principais alvos dos piretroides; porém, os mamíferos tem uma diversidade maior de receptores para essas moléculas com diferentes sensibilidades, o que leva a um conjunto maior de sintomas de intoxicação e a um risco maior pela exposição acumulativa a múltiplos piretroides (SODERLUND *et al.*, 2002). Após administração intravenosa ou intracerebral em roedores, há produção de síndrome de tremor (T) ou de coreoatetose (movimentos involuntários) com salivação (CS) (SODERLUND *et al.*, 2002). O quadro 2, adaptado de KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005, apresenta a classificação histórica dos piretroides em Tipo I e Tipo II de acordo com suas respostas biológicas, ainda que, hoje, essa classificação seja considerada muito simplificada.

Quadro 2 – Classificação dos piretroides

Resposta/ação	Tipo I	Tipo II
Sintomas de envenenamento	<ol style="list-style-type: none"> 1. Início rápido dos sintomas mesmo em níveis subletais 2. Hiperatividade ocasionando knockdown 3. Baixa mortalidade e alta recuperação 4. Inversamente relacionado a mudanças na temperatura 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Início lento dos sintomas 2. Convulsão seguida de paralisia 3. Alta mortalidade e baixa recuperação 4. Baixo efeito da temperatura
Resposta eletrofisiológica no sistema nervoso	<ol style="list-style-type: none"> 1. Descargas repetidas nos axônios 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bloqueio da condução nas sinapses
Ação no funcionamento do canal de sódio	<ol style="list-style-type: none"> 1. Decaimento rápido e monofásico das correntes de cauda 2. Liga-se preferencialmente a canais fechados 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Decaimento muito lento e bifásico das correntes de cauda 2. Liga-se preferencialmente a canais abertos
Nível de resistência devido ao mecanismo <i>super-kdr</i> ¹ das moscas domésticas	<ol style="list-style-type: none"> 1. Abaixo de 100 vezes 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Acima de 200 vezes

¹Mutação no gene do canal de sódio que confere resistência ao *knockdown* dos piretroides (JAMROZ et al., 1998).

Fonte: Adaptado de KHAMBAY, B. e JEWESS, P., 2005.

O quadro 3 abaixo apresenta a toxicidade dos piretroides para ratos após administração dos compostos por óleos vegetais (DL₅₀ para machos e fêmeas). Os valores de DL₅₀ entre 50 e 500 mg/kg são considerados moderadamente tóxicos (SODERLUND *et al.*, 2002).

Quadro 3 – Toxicidades orais agudas de piretroides para ratos

Composto	DL ₅₀ Oral (mg/kg)		Classe Estrutural	Síndrome de Intoxicação
	Machos	Fêmeas		
S-Bioaletrina	370	320	Tipo I	T ¹
Bifentrina	70	54	Tipo I	T
Ciflutrina	155	160	Tipo II	CS ²
λ-Cialotrina	79	56	Tipo II	CS
Cipermetrina	297	372	Tipo II	CS
Deltametrina	95	87	Tipo II	CS
Esfenvalerato	87	87	Tipo II	CS
Fenpropatrina	71	67	Tipo II	T/CS ³
Permetrina	1200	1200	Tipo I	T
Piretrinas	710	320	Tipo I	T
Resmetrina	1695	1640	Tipo I	T
Teflutrina	22	35	Tipo I	T

¹ Síndrome de Tremor

² Coreoatetose com Salivação

³ Presença de ambos os sintomas

Fonte: Adaptado de Soderlund, 2019.

Por último, a toxicidade dos piretroides depende bastante da rota de administração e do meio usado para a dosagem, sendo que a exposição dérmica possui baixíssima toxicidade devido à má absorção pela pele dos compostos (SODERLUND, 2019). Da mesma forma, a administração oral por meio de óleos vegetais é mais eficiente do que por meio aquoso graças à baixa solubilidade aquosa dos piretroides, o que limita sua biodisponibilidade (SODERLUND, 2019). A administração intravenosa ou intracerebral é altamente eficiente, reduzindo os valores da DL₅₀ para os compostos mais tóxicos para a faixa de 1–10 mg/kg (SODERLUND, 2019).

2.4 Uso Indevido

Segundo Michael O'Malley, em seu artigo “*Clinical evaluation of pesticide exposure and poisonings*”, publicado na revista *The Lancet* em 1997, o próprio *Pyrethrum*, devido ao fato de ser um extrato apenas parcialmente refinado, podia conter, além das piretrinas, lactonas sesquiterpênicas que podem causar rinite alérgica e dermatite de contato (O'MALLEY, 1997). As formulações modernas, no entanto, contêm as piretrinas purificadas, mas ainda assim, há ocorrências de rinite alérgica em

residências onde o inseticida foi aplicado (O'MALLEY, 1997). De qualquer forma, os piretroides são mais tóxicos do que as piretrinas e, em seres humanos adultos, doses orais de 10 mg/kg são capazes de causar convulsões (O'MALLEY, 1997). O'Malley (1997) traz ainda um relato de uso acidental dos piretroides:

Uma garota de 4 anos anteriormente saudável foi encontrada inconsciente 20 minutos após sair para brincar. Meio bastão de giz inseticida aparentemente tinha sido consumido. A etiqueta do pacote indicava que esse produto ilegalmente importado continha deltametrina, o que foi confirmado por uma análise de laboratório (98% deltametrina; dose estimada de 34 mg ou 2 mg/kg). Quando os paramédicos chegaram, a paciente estava acordada, mas estava letárgica e tinha dificuldade em ficar em pé. Ela foi levada ao hospital. Durante o exame inicial, ela estava em estado de semi-torpor, mas conseguia conversar. O exame físico foi normal. Por conselho do controle de venenos, um tubo nasogástrico foi inserido e 20 g de carvão vegetal ativado foram administrados. Ela ficou em observação e a recuperação ocorreu normalmente. (O'MALLEY, p. 1163, 1997).

Esther Cham *et al.* (2016), escrevendo para o *Hong Kong Journal of Emergency Medicine*, reportam o caso de um fazendeiro aposentado de 89 anos de idade que tentou suicídio por ingestão de piretroides:

Um fazendeiro de 89 anos de idade foi trazido para o departamento de emergência (DE) por tentativa de suicídio por ingestão de uma quantidade desconhecida de inseticida em julho de 2014. Ele tinha histórico de doença pulmonar obstrutiva crônica e hipertensão. [...] Não era possível identificar nem o agente causador nem seu recipiente original. A única informação disponível era de que se tratava de um inseticida comprado localmente. [...] Ele apresentava lacrimação e hipersalivação. [...] Realizou-se a descontaminação superficial removendo-se as roupas e limpando a pele do paciente com água e sabão. [...] Administrou-se atropina (1,2 mg) devido à presença de sintomas colinérgicos que sugeriam o envenenamento por organofosfatos. Administrou-se também uma dose única de carvão vegetal ativado (50 g). [...] Três horas após dar entrada no hospital (6 horas após a ingestão), ele desenvolveu bradicardia com hipotensão. [...] Ele foi extubado no quarto dia. No sétimo dia, ele se apresentava confuso e desenvolveu bradicardia novamente. [...] O paciente recebeu alta 12 dias após a hospitalização. (CHAM *et al.*, pp. 48-49, 2016).

Embora houvesse indicação da presença de organofosfatos, o diagnóstico de intoxicação com piretroides foi realizado através da detecção por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) dos metabólitos dos piretroides sintéticos ácido 3-fenoxibenzoico e 3-fenoxibenzaldeído. A análise para pesticidas específicos descartou os organofosfatos (CHAM *et al.*, 2016).

Cha *et al.* (2014), no artigo “*Pyrethroid poisoning: features and predictors of atypical presentations*” publicado no *Emergency Medicine Journal*, revisaram 59 casos de envenenamento por piretroides que foram diagnosticados e tratados no departamento

de emergência do *Wonju Severance Christian Hospital* localizado na Coreia do Sul, e identificaram condições atípicas em 39,3% dos pacientes, incluindo condições graves como insuficiência respiratória, hipotensão, insuficiência renal aguda, convulsões e morte (2 casos) (CHA *et al.*, 2014). Bem antes de Cha *et al.* (2014), Fengsheng He *et al.* (1989) já haviam realizado uma revisão de 573 casos de envenenamento agudo com piretroides reportados na literatura chinesa entre 1983 e 1988. Desse número de casos, 325 eram envenenamentos agudos com deltametrina (158 ocupacionais e 167 acidentais) e 45 casos com cipermetrina (6 ocupacionais e 39 acidentais), além de vários outros (HE *et al.*, 1989). Os casos ocupacionais estão relacionados principalmente com a ausência de Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) e descuido ao realizar o *spraying* dos inseticidas; os casos acidentais se relacionam com ingestão de piretroides, tanto por crianças quanto por adultos (através de situações como deixar espirrar no rosto, comer com mãos sujas etc.) (HE *et al.*, 1989). He *et al.* (1989) ainda reportam que

Um paciente diagnosticado erroneamente com envenenamento agudo por organofosfatos morreu por intoxicação com atropina com uma dose total de 510 mg [...]. Um paciente agudamente intoxicado com fenvalerato-dimetoato não pôde ser revivido após injeção de atropina com dose total de 170 mg [...]. [...] Além das duas mortes mencionadas, dois casos de envenenamento agudo ocupacional com deltametrina e dois casos de envenenamento agudo por ingestão de fenvalerato resultaram em mortes por convulsões e um outro por edema pulmonar [...]. (HE *et al.*, pp. 55-56, 1989).

Por fim, Daniela Fernandes (2014), em sua dissertação de mestrado intitulada “Intoxicações em animais de companhia por inseticidas e rodenticidas”, apresentada na Universidade da Beira Interior (Covilhã, Portugal), discute, além de outras, as intoxicações em animais de estimação por piretroides. Segundo Fernandes (2014), o uso dos piretroides em animais de estimação se deve a sua elevada eficácia contra artrópodes, sendo, portanto, os cães e gatos os mais afetados por intoxicações nesse tipo de uso (FERNANDES, 2014). Todavia, os gatos são mais afetados por tais intoxicações. Fernandes (2014) explica que

As causas de intoxicação mais comuns são a utilização inadequada, nomeadamente quando da aplicação de um desparasitante externo contendo permetrina em gatos, a ingestão acidental e a exposição de felinos a estes produtos, nomeadamente em contato com cães aos quais foram administrados produtos com esta substância [...]. (FERNANDES, p. 6, 2014).

Fernandes (2014) ainda completa que “a principal via de exposição é a tópica, mas não se podem excluir outras vias como a oral e a inalatória” (FERNANDES, 2014).

Em relação aos sinais clínicos de intoxicação por piretroides pelos animais de estimação, Fernandes (2014) afirma que:

Os sinais clínicos apresentados em intoxicação com piretroides em animais de companhia são semelhantes para ambas as espécies acima referidas, ocorrendo tremores, hiperestesia, ataxia, midríase, pirexia, desordens gastrointestinais, hipersalivação, vômitos, hiperexcitabilidade, prostração, convulsões e, em casos extremos, pode mesmo ocorrer a morte do animal [...]. Dependendo da via de administração, os sinais clínicos podem começar entre minutos a horas (24-72h) após a exposição [...]. É de realçar que a severidade dos sinais clínicos não está diretamente relacionada com a dose [...]. (FERNANDES, p. 7, 2014).

2.5 Métodos de Análise de Piretroides

No caso de contaminação de animais, como o exposto por Fernandes (2014) acima, não costuma haver necessidade de determinação por análise química para diagnosticar a intoxicação, como ela afirma:

Atualmente não é comum recorrer a testes práticos de diagnóstico para confirmar a intoxicação por permetrina [...], sendo que o diagnóstico da intoxicação por piretroides é efetuado com base no historial de exposição a esta substância e no desenvolvimento de sinais clínicos [...]. (FERNANDES, p. 7, 2014).

Porém, em vários dos outros casos apresentados aqui, a técnica de determinação do agente de intoxicação foi a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. No caso exposto por Cham *et al.* (2016), o diagnóstico de intoxicação por piretroides somente foi concluído pela análise da urina do paciente, que continha naftaleno, ácido 3-fenoxibenzoico e 3-fenoxibenzaldeído – todos detectados por GC-MS (CHAM *et al.*, 2016). Em He *et al.* (1989), de 4 casos ilustrativos expostos, apenas em um é descrita a determinação por análise química, que foi realizada na urina do paciente por cromatografia gasosa resultando em $1,07 \mu\text{g L}^{-1}$ de deltametrina. No artigo intitulado “*Development and validation of a method for the analysis of pyrethroid residues in fish using GC-MS*”, de Oliveira *et al.* (2019), publicado na revista *Food Chemistry*, o GC-MS é utilizado na determinação de 18 piretroides diferentes em amostras de peixes. Zhu *et al.* (2021) reportam a determinação de 18 tipos de piretroides e 9 tipos de organoclorados em chá oolong por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com ionização química negativa no artigo “*气相色谱-负化学源-质谱法测定乌龙茶中拟除虫菊酯和有机氯农药多残留*”(Determinação de pesticidas organoclorados e piretroides em chá oolong por cromatografia gasosa

acoplada à espectrometria de massas com ionização química negativa), publicado na *中国食品卫生杂志* (Revista Chinesa de Higiene Alimentar). Da mesma forma, Kim *et al.* (2022), em seu artigo “*Simultaneous Determination of Pyrethroid Insecticides in Foods of Animal Origins Using the Modified QuEChERS Method and Gas Chromatography-Mass Spectrometry*”, publicado na revista *Foods* da MDPI (Multidisciplinary Digital Publishing Institute), utilizam o GC-MS para a determinação de 17 piretroides diferentes em alimentos de origem animal. Além deles, Hladik *et al.* (2009), escrevendo para o livro de Técnicas e Métodos do *US Geological Survey* (USGS), descrevem um método para a determinação de 14 piretroides em águas ambientais e amostras de sedimentos também utilizando GC-MS.

No entanto, apesar da abundância de artigos e livros que utilizam a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas na determinação de piretroides, há também artigos que descrevem o uso de cromatografia líquida, do inglês *Liquid Chromatography* (LC) e de cromatografia líquida de alto desempenho, do inglês *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). No primeiro caso, Monteiro *et al.* (2011), em seu artigo intitulado “*A liquid chromatography method for determination of pyrethroids insecticides residues in beans*”, publicado na revista *Eclética Química*, descrevem um método de cromatografia líquida rápida para a determinação simultânea de 7 piretroides em feijões usando espectrofotometria de absorção molecular para detecção. No segundo caso, Galera *et al.* (2006), no artigo “*Determination of nine pyrethroid insecticides by high-performance liquid chromatography with post-column photoderivatization and detection based on acetonitrile chemiluminescence*”, publicado na revista *Journal of Chromatography A*, apresentam um método para determinação de piretroides acoplando o HPLC com irradiação pós-coluna com luz UV e detecção por quimioluminescência dos fotoprodutos resultantes. No presente trabalho, no entanto, focou-se na utilização do GC-MS pela disponibilidade do aparelho no laboratório de pesquisa, ainda que, durante o curso inicial do estudo, tenha se tentado utilizar a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, do inglês *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry* (LC-MS) com ionização por *eletrospray* (ESI, sigla em inglês), porém sem sucesso devido à não ionização do analito.

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas é uma técnica instrumental de análise química que une a cromatografia gasosa como método de

separação e a espectrometria de massas como método de detecção. De maneira sucinta, Skoog *et al.* (2018) explica que:

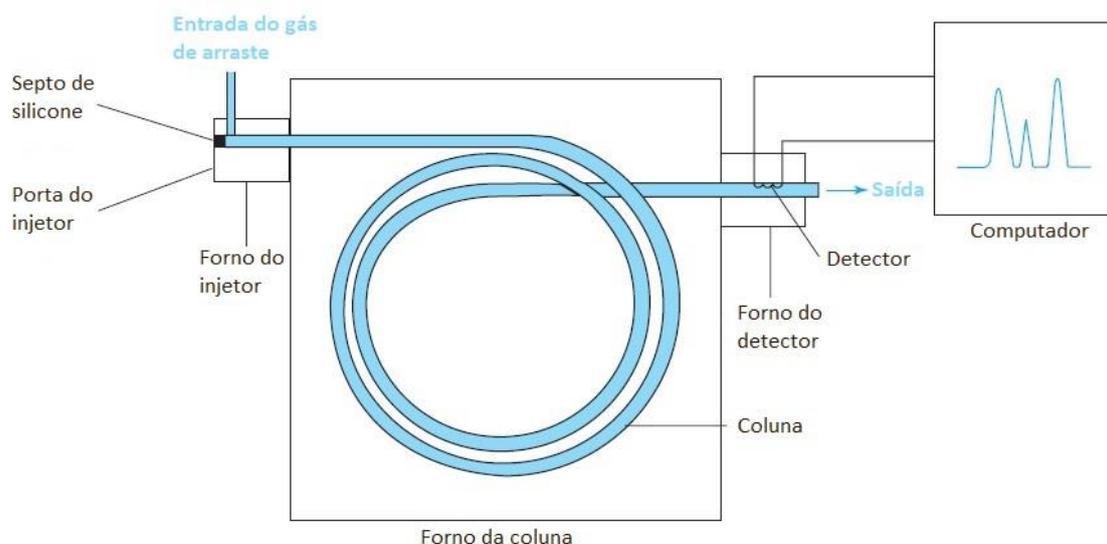
Na cromatografia gasosa, os componentes de uma amostra vaporizada são separados como resultado de uma distribuição diferencial entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária sólida ou líquida dentro de uma coluna. Ao realizar-se uma separação por cromatografia gasosa, a amostra é vaporizada e injetada na cabeça de uma coluna cromatográfica. A eluição então ocorre devido ao fluxo de uma fase móvel gasosa inerte. Em contraste com outros tipos de cromatografia, a fase móvel não interage com as moléculas do analito; sua única função é o transporte do analito através da coluna. (SKOOG *et al.*, p. 720, 2018).

Quanto à espectrometria de massas, ele elucidada que:

Uma análise de espectrometria de massa atômica contém as seguintes etapas: (1) atomização, (2) conversão de uma fração substancial dos átomos formados na etapa 1 em uma corrente de íons (geralmente, íons com cargas positivas unitárias), (3) separação dos íons formados na etapa 2 na base de sua razão massa-por-carga (m/z), em que m é o número de massa do íon e z é o número de cargas fundamentais que ele possui, e (4) contar o número de íons de cada tipo ou medir a corrente de íons produzida quando os íons formados a partir da amostra atingem um transdutor adequado. Como a maior parte dos íons formados na etapa 2 tem carga unitária ($z = +1$), m/z é normalmente apenas o número de massa do íon. (SKOOG *et al.*, p. 253, 2018).

Para a melhor compreensão, na figura 6 abaixo, apresenta-se um diagrama esquemático de um cromatógrafo gasoso.

Figura 6 – Diagrama esquemático de um cromatógrafo gasoso



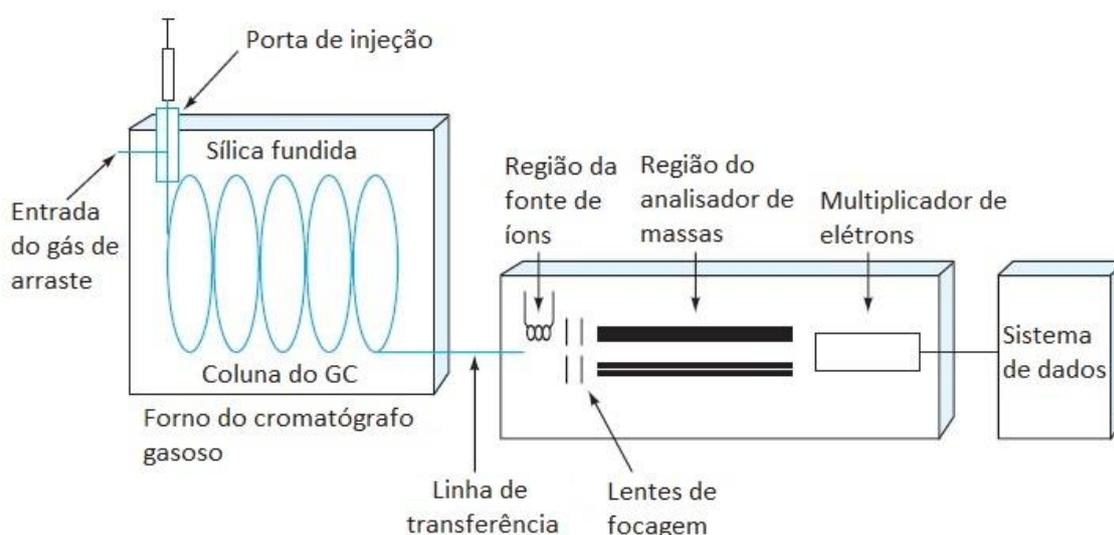
Fonte: Adaptado de Harris, 2010.

O funcionamento do cromatógrafo gasoso acima é da seguinte maneira: a amostra, em estado gasoso ou um líquido de natureza volátil, é injetada através de um

septo na porta do injetor, onde ocorre sua vaporização na temperatura do forno do injetor (HARRIS, 2010). O vapor formado é então empurrado pela coluna cromatográfica por um gás de arraste (geralmente He, N₂ ou H₂) e os analitos, separando-se ao decorrer da coluna, fluem para o detector, que tem sua resposta mostrada no monitor de um computador (HARRIS, 2010).

Quando o espectrômetro de massas é o detector, o fluxo da coluna é geralmente injetado diretamente na câmara de ionização do espectrômetro (SKOOG *et al.*, 2014). A figura 7 mostra um esquema de um GC-MS típico.

Figura 7 – Esquema de um instrumento de GC-MS típico

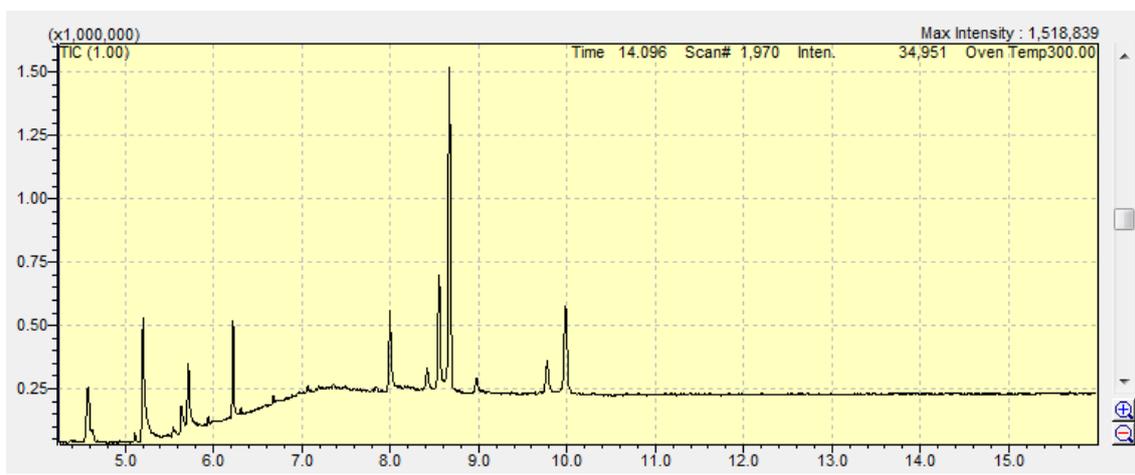


Fonte: Adaptado de Skoog *et al.*, 2014.

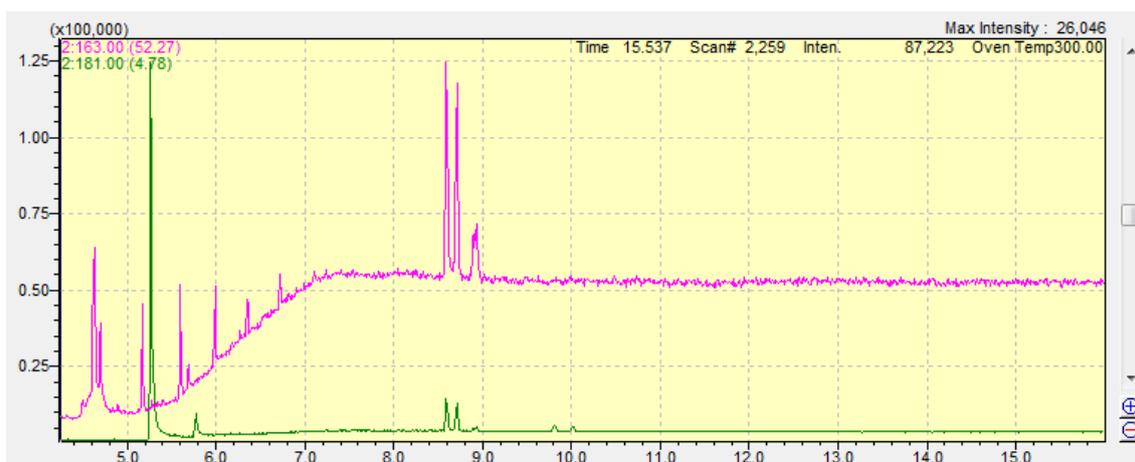
Como o cromatógrafo gasoso já foi explicado, pode-se começar, agora, a partir da linha de transferência para o espectrômetro de massas: na região da fonte de íons, há algum método de ionização para o fluxo da coluna, que frequentemente é uma fonte por impacto de elétrons, do inglês *electron impact* (EI) – ou seja, as moléculas são bombardeadas com um feixe de alta energia de elétrons (SKOOG *et al.*, 2014); após, as lentes de focagem, contendo um campo eletrostático, servem para focar um feixe de elétrons com uma faixa estreita de energias cinéticas para dentro de uma fenda que leva à região do analisador de massas; nessa região, pode haver um campo magnético que muda lentamente para levar os íons com diferentes razões de m/z a um detector ou outros analisadores de massa, como os quadropolos (SKOOG *et al.*, 2014). O multiplicador de elétrons é um dos transdutores de íons mais comuns na espectrometria

de massas e serve para multiplicar o sinal através da emissão de elétrons secundários (SKOOG *et al.*, 2014). O resultado de uma análise no GC-MS é um cromatograma como o da figura 8 abaixo.

Figura 8 – Cromatograma da análise de um *vial* contendo os piretroides cipermetrina e deltametrina em uma mistura de solventes de extrato de café e metano HPLC (1:1)



No eixo das abscissas, são expostos os tempos de retenção de cada um dos picos do cromatograma (que representam os analitos detectados e os tempos que levaram para percorrer a coluna cromatográfica); no eixo das ordenadas, é exibida a resposta do detector (a magnitude do sinal). A área de cada pico representa a medida quantitativa do analito, que pode ser determinado de vários modos, incluindo com uma curva de calibração ou com um padrão interno (HARRIS, 2010). O GC-MS permite o monitoramento de íons selecionados, o que facilita para acompanhar um íon específico em um cromatograma complexo (HARRIS, 2010). Na figura 9, exemplifica-se, para comparação, o monitoramento de íons selecionados, do inglês *selected ion monitoring* (SIM); no cromatograma da figura 8, apresentou-se um cromatograma com a totalidade de íons, do inglês *total ion chromatogram* (TIC), com diversos espectros de substâncias eluídas entre 4 e 10 minutos.

Figura 9 – Modo SIM em GC-MS

Na figura 9, é exibido um cromatograma em que se mantiveram fixos os íons de razão m/z 163.00 e 181.00 na análise de um *vial* contendo os piretroides cipermetrina e deltametrina em mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1). “Ao medir-se apenas esse íon [íons específicos], a razão sinal/ruído aumenta e o cromatograma é simplificado” (HARRIS, p. 583, 2010). É importante salientar que o modo SIM “reduz o limite de detecção por um fator de $10^2 - 10^3$ comparado com a varredura de m/z , porque mais tempo é gasto apenas coletando os íons de interesse” (HARRIS, p. 582, 2010). Por fim, deve-se acrescentar que, no modo SIM, há dois tipos de íons a serem selecionados: um quantificador e outro(s) qualificador(es) (ou confirmatório(s)) – o íon quantificador “determina a resposta do analito através do cálculo da área ou da altura do pico após a integração do cromatograma do íon extraído, do inglês *extracted ion chromatogram* (EIC)” (AGILENT, 2023); e o(s) íon(s) qualificador(es) (ou confirmatório(s)) “são usados para ajudar a identificar o analito, e ter certeza de que o pico medido é o analito, e não a matriz nem qualquer outra coisa” (AGILENT, 2023).

2.6 Métodos de Extração

Existem inúmeros métodos para se medir piretroides, sendo que a variável mais importante a ser considerada é a matriz. Nos casos de envenenamento descritos na seção 2.3 sobre uso indevido, a matriz era composta de material biológico de origem urinária; No artigo de Oliveira *et al.* (2019), a determinação dos piretroides foi realizada em peixes; Hladik *et al.* (2009) descrevem uma série de métodos para a extração dos

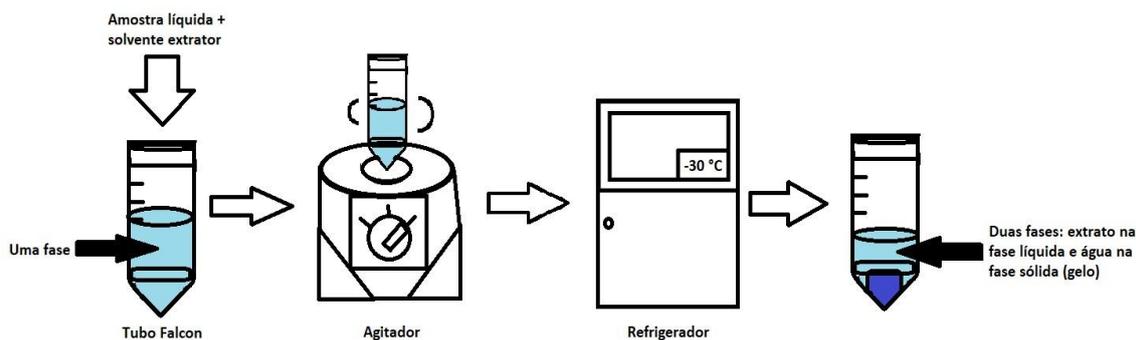
piretroides do meio ambiente, particularmente em amostras de água e sedimentos. De modo geral, o método *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe* (QuEChERS) é bastante aplicado, principalmente pela sua versatilidade, requerendo apenas algumas modificações de acordo com especificidades da matriz e da pesquisa (OLIVEIRA *et al.*, 2019). O método QuEChERS, no entanto, requer um procedimento de *clean-up*, que costuma ser lento e, dependendo dos materiais envolvidos, um tanto custoso, mas necessário para a remoção de grande parte da matriz. Oliveira *et al.* (2019) utilizam o método QuEChERS modificado seguido de um procedimento de *clean-up* baseado no congelamento das amostras durante uma noite e, após, uma extração em fase sólida dispersiva para determinar 18 piretroides em amostras de peixes. Para as amostras de água, Hladik *et al.* (2009) afirmam que é possível utilizar extração líquido-líquido para medir os piretroides em água não filtrada, ou medir em água filtrada usando extração em fase sólida, do inglês *Solid Phase Extraction* (SPE), com cartuchos; no entanto, eles acrescentam que:

[...] como os piretroides tendem a se associar levemente com as paredes do recipiente contendo a amostra de água, especialmente quando uma amostra é bombeada lentamente pelo cartucho de SPE, é necessário incluir uma lavagem do recipiente com solvente orgânico na etapa de extração. (HLADIK *et al.*, p. 2, 2009).

Contudo, visando uma técnica mais simplificada, rápida e com menos gastos materiais, alguns autores têm utilizado a técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) (VIEIRA *et al.*, 2007). Vieira *et al.* (2007) afirmam que a ELL-PBT foi desenvolvida para a análise de 4 piretroides em água por cromatografia gasosa. Eles explicam a aplicação da técnica para extração de piretroides em leite:

A técnica aplicada em amostras de leite consistiu na adição de acetonitrila à amostra em uma proporção de 2:1 (v/v). Com a adição da acetonitrila é formada uma fase única líquida contendo água e solvente. A mistura formada pela fase líquida e o material sólido do leite é resfriada a -20 °C. Com o abaixamento da temperatura, o material sólido é precipitado e aprisionado na fase aquosa congelada. A acetonitrila, de temperatura de congelamento igual a -46 °C, fica líquida e é retirada facilmente. As taxas de recuperação dos piretroides ficaram próximas de 90%, não sendo necessários outros processos de purificação. (VIEIRA *et al.*, p. 535, 2007).

Essa técnica é de grande valor justamente pelo baixo consumo de solventes, curto tempo de preparo, fácil aplicação e alta taxa de recuperação dos piretroides. Na figura 10 abaixo, é apresentado um esquema de seu funcionamento:

Figura 10 – Esquema da técnica ELL-PBT

Na figura 10, a técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura é representada da seguinte forma: em um tubo Falcon, é colocada a amostra líquida com o solvente extrator (geralmente, acetonitrila) que possui o ponto de fusão abaixo da água; essa mistura é agitada e, então, levada para um refrigerador com a temperatura acima da temperatura de solidificação do solvente extrator, mas capaz de congelar a água; após um período de tempo suficiente para que ocorra o congelamento da água, o tubo Falcon pode ser retirado do refrigerador e a fase líquida (solvente extrator) deve ser transferida para análise no cromatógrafo gasoso.

3 METODOLOGIA

3.1 Procedimento Experimental

A amostra utilizada neste trabalho foi uma amostra de café preparado sem açúcar adquirida da cozinha do laboratório sem conhecimento prévio sobre a marca nem local de comercialização. Um volume desse café foi transferido para um tubo Falcon onde ocorreu a extração líquido-líquido por partição em baixa temperatura. O extrato do café foi mantido no refrigerador e usado posteriormente na preparação de uma das misturas de solventes. Preparou-se uma solução estoque com ambos os piretroides Cipermetrina e Deltametrina a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ em metanol HPLC com volume total de 50 mL, sendo que as massas pesadas para a Cipermetrina e Deltametrina foram, respectivamente: 0,00442 g e 0,00435 g. Preparou-se um teste de solventes para os piretroides a $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ com: (1) água ultrapura; (2) acetonitrila; (3) metanol HPLC. Com o resultado do teste, prepararam-se nove *vials* para cada uma das misturas de solventes – água ultrapura e metanol HPLC (1:1) e extrato de café e metanol HPLC (1:1), totalizando-se dezoito *vials*. As concentrações de piretroides nos *vials* foram $0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$, $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, $5 \mu\text{g mL}^{-1}$, $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $30 \mu\text{g mL}^{-1}$, $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, $70 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os *vials* foram então analisados no GC-MS no modo SIM com os íons característicos da Cipermetrina e Deltametrina. Com os dados, construíram-se as curvas de calibração. Por último, realizou-se a recuperação com um extrato de um preparado de café (sem açúcar), anteriormente fortificado com a solução estoque de piretroides, em três concentrações: $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$.

3.2 Reagentes e Equipamentos

O padrão de Cipermetrina utilizado foi o padrão analítico Pestanal® α -Cypermethrin (45806-100MG) com lote: SZBA068XV da Sigma-Aldrich com 99,70% de pureza, MW: 416,3 g/mol, 607-422-00-X CAS: 67375-30-8. O padrão de Deltametrina utilizado foi o padrão analítico Pestanal® Deltamethrin (45423-250MG) com lote: SZB8297XV da Sigma-Aldrich com 99,70% de pureza, 607-319-00-X CAS: 52918-63-5. Ambas da Fluka Analytical™. O metanol (álcool metílico) HPLC foi adquirido da J.T. Baker® através da empresa Avantor do México com o lote: 845W31, PM 32.04, 9093-03, 99,9% de pureza, CAS: 67-56-1. A acetonitrila P.A.-A.C.S. foi adquirida da Synth, A1018.BJ, PM 41.05, com lote: 145240. A água utilizada nos

experimentos foi recolhida de um aparelho *PURELAB flex* da ELGA de água ultrapura como número de série FLC00010701, *Model PF3XXXXM1*.

O GC-MS utilizado foi o GC-MS-QP2010 Ultra da Shimadzu com número de série O205251 SHIMADZU CORP. 01677, sendo o cromatógrafo gasoso *GC-2010 Plus* com *Auto Sampler AOC-5000 Plus*. A coluna utilizada foi uma *HP-5MS* da *Agilent J&W GC Columns* com *Part Number 19091S-433*, *length (m): 30*, *diam. (mm): 0.250 Narrowbore*, *Film (µm): 0.25*, *Temperature Limits: From -60 °C to 325 °C (350 °C)*, *Serial Number: UST539764H*. O gás hélio foi adquirido da *White Martins*, com os dados: Produto conforme AWS A5.32 (ISSO 14175) – I2 – He, ONU 1046. A balança analítica utilizada foi adquirida da SHIMADZU (*UniBloc Analytical Balances – AUW-D series dual-range semi-micro balances* com *Scale interval (d) igual a 0,0001/0,00001 g* e *Verification scale interval (e) igual a 0,001 g*).

3.3 Extração Líquido-Líquido por Partição em Baixa Temperatura

A extração líquido-líquido por partição em baixa temperatura (ELL-PBT) foi realizada em dois momentos diferentes: primeiro, para adquirir o extrato de café que foi utilizado na mistura de solventes do tipo extrato de café – metanol (1:1). O procedimento que foi realizado na obtenção do extrato de café da mistura de solventes utilizou a mesma proporção 2:1 de acetonitrila de Vieira *et al.* (2007).

No segundo momento, no entanto, foram realizadas algumas modificações nos volumes de acetonitrila da ELL-PBT visando reduzir ainda mais o seu gasto. Nesse segundo caso, portanto, a ELL-PBT foi utilizada para adquirir o extrato de café para a recuperação – o procedimento final que envolveu a fortificação do café com a solução de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ dos piretroides e sua posterior extração (pela ELL-PBT) e análise no GC-MS com o método desenvolvido. Os detalhes dos volumes utilizados na recuperação estão descritos na tabela 3 abaixo.

Tabela 1 – Volumes da solução de piretroides, café e acetonitrila utilizados na recuperação

Sol. Piretroides 100 ppm	Café	Concentração*	Acetonitrila
+5 mL	+5 mL =	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$	+10 mL
+2,5 mL	+7,5 mL =	25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	+10 mL
+0,5 mL	+7,5 mL =	6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$	+8 mL

*Concentração resultante de piretroides no café.

Como é possível perceber pela tabela 1, a proporção 2:1 de acetonitrila baseada no trabalho de Vieira *et al.* (2007) foi substituída com a intenção de se utilizar uma proporção 1:1 mais econômica.

3.4 Curva de Calibração

Duas curvas de calibração foram produzidas: uma curva com os pontos 0,1 ppm, 0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 70 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (concentrações de piretroides) utilizando como solvente uma mistura 1:1 de metanol HPLC e água ultrapura; e outra curva utilizando os mesmos pontos, porém, com um solvente formado pela mistura 1:1 do extrato de café adquirido pelo procedimento do fluxograma da figura 11 e metanol HPLC. Todos os pontos foram preparados a partir da solução estoque de piretroides de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Uma vez preparados, os 18 *vials* resultantes contendo as concentrações indicadas foram analisados no GC-MS em (pseudo)triplicata – os mesmos *vials* foram analisados três vezes no equipamento.

3.5 Parâmetros do GC-MS

Para o processo de cromatografia gasosa e espectrometria de massas, programou-se tanto o cromatógrafo gasoso, do inglês *gas chromatography* (GC), quanto o espectrômetro de massas, do inglês *mass spectrometry* (MS), desenvolvendo-se um método no modo SIM para os íons característicos da cipermetrina (Íon quantificador (m/z): 163; Íons confirmatórios (m/z): 181/ 208) e da deltametrina (Íon quantificador (m/z): 181; Íons confirmatórios (m/z): 253/ 251). Os detalhes do método para o GC são apresentados na tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros do GC

GC	
<i>Inj. Port: SPL1</i>	<i>Inj. Heat Port: INJ1</i>
<i>Column Oven Temp.:</i>	100 °C
<i>Injection Temp.:</i>	270 °C
<i>Injection Mode:</i>	<i>Splitless</i>
<i>Sampling Time:</i>	1 min.
<i>Carrier Gas:</i>	He
<i>Prim. Press.:</i>	500-900
<i>Row Control Mode:</i>	<i>Linear Velocity</i>
<i>Pressure:</i>	71.2 kPa
<i>Total Flow:</i>	7.6 mL/min
<i>Column Flow:</i>	0.98 mL/min
<i>Linear Velocity:</i>	36.8 cm/sec
<i>Purge Flow:</i>	4.0 mL/min
<i>Split Ratio:</i>	-1

A rampa de temperatura iniciava em 100 °C e se mantinha constante por 1 min., para, em seguida, subir a 300 °C com taxa de 40 °C min⁻¹ e se manter constante por 10 minutos. O tempo total programado para o método foi de 16 minutos.

Na tabela 3 abaixo, são mostrados os detalhes da programação do espectrômetro de massas.

Tabela 3 – Parâmetros do MS

MS	
<i>GCMS-QP Series</i>	
<i>Ion Source Temp.:</i>	230 °C
<i>Interface Temp.:</i>	300 °C
<i>Solvent Cut Time:</i>	3.75 min
<i>Micro Scan Width:</i>	0 μ
<i>Detector Voltage:</i>	0 kV
<i>Threshold:</i>	250

O espectrômetro de massas foi programado com dois eventos: a partir do tempo 4,25 min. e terminando em 16 min., adquiriram-se *scans* com *Event Time (sec)*: 0,30 e *Scan Speed*: 2000, iniciando-se em 40,00 *m/z* e terminando em 600,00 *m/z*; o segundo evento também se iniciava em 4,25 min. e terminava em 16 min., porém, no modo SIM (também com *Event Time (sec)*: 0,30), e com os seguintes íons selecionados: (163,00; 181,00; 208,00 “Cy” e 181,00; 253,00; 251,00 “De”) *m/z*.

3.6 Cálculo do Limite de Quantificação (LOQ) e do Limite de Detecção (LOD)

No presente trabalho, o LOD foi calculado, para a cipermetrina, como a área do pico atribuído a ela no modo SIM pelo *software* do GC-MS de dois brancos – um contendo a mistura de solventes água ultrapura e metanol HPLC (1:1) e outro com extrato de café e metanol HPLC (1:1). Para a deltametrina, utilizou-se uma integração manual da área da média dos tempos de retenção de seus picos com os mesmos dois brancos. Os brancos correram no método desenvolvido para a pesquisa no GC-MS em (pseudo)triplicata, ou seja, os mesmos *vials* correram três vezes no equipamento. Com os resultados, realizou-se o cálculo do desvio padrão e aplicou-se a teoria proposta por Harris (2010). Portanto, para os cálculos do LOD e LOQ, utilizaram-se as equações abaixo. Para o limite de detecção:

$$\text{Limite de detecção} = 3 \cdot \text{Desvio padrão} \quad (1)$$

E para o limite de quantificação:

$$\text{Limite de quantificação} = 10 \cdot \text{Desvio padrão} \quad (2)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Solução Estoque de Piretroides

Para preparar a solução estoque de piretroides a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ foram medidas as massas para a cipermetrina e para a deltametrina em uma balança analítica semi-micro, resultando em $(0,00442 \pm 0,00001)$ g para a Cipermetrina e $(0,00435 \pm 0,00001)$ g para a Deltametrina. Como informado na seção 3.2 Reagentes e Equipamentos, o *Scale interval* (d) da balança era igual a $0,0001/0,00001$ g. Com essas massas e considerando que o volume final da solução seria 50,00 mL, é possível calcular a concentração verdadeira da solução. Primeiro, para a Cipermetrina:

$$\frac{10^6 \mu\text{g}}{1 \text{ g}} \cdot \frac{0,00442 \text{ g}}{50,00 \text{ mL}} = 88,40 \mu\text{g mL}^{-1} \cdot 0,9970 = 88,13 \mu\text{g mL}^{-1} \quad (3)$$

O fator 0,997 é a pureza tanto da cipermetrina quanto da deltametrina e, levando-se em consideração o *scale interval* da balança, essa massa fica em $(88,1 \pm 0,2) \mu\text{g mL}^{-1}$. Para a deltametrina, tem-se:

$$\frac{10^6 \mu\text{g}}{1 \text{ g}} \cdot \frac{0,00435 \text{ g}}{50,00 \text{ mL}} = 87,00 \mu\text{g mL}^{-1} \cdot 0,9970 = 86,74 \mu\text{g mL}^{-1} \quad (4)$$

Da mesma forma, levando-se em consideração o *scale interval* da balança, tem-se o valor de $(86,7 \pm 0,2) \mu\text{g mL}^{-1}$. A justificativa para os valores terem se afastado tanto do desejado de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi a dificuldade em se medir massas tão baixas na balança, levando a muitos erros sistemáticos pessoais. Outro fator importante é de que, como informado no quadro 3 de toxicidades orais agudas para ratos, o valor teórico de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ da solução estoque de deltametrina é superior à DL_{50} (95 e $87 \mu\text{g mL}^{-1}$) para machos e fêmeas, respectivamente; já no caso da cipermetrina, a solução estoque está abaixo da DL_{50} (297 e $372 \mu\text{g mL}^{-1}$) para machos e fêmeas, respectivamente. A seleção dos piretroides cipermetrina e deltametrina foi devido à disponibilidade no laboratório dos padrões necessários.

4.2 Teste de Solventes

Os resultados para o teste de solventes são expostos na tabela 4 e a comparação de cromatogramas na figura 11. O teste foi realizado em (pseudo)triplicata, porém, apenas os resultados da primeira replicata são mostrados, já que o teste serviu apenas

como indicação inicial para estabelecer um caminho a ser seguido nas análises, tendo sido então restringido pelo tempo de experimentação no laboratório. Esse teste foi realizado usando o modo TIC, o que justifica as enormes áreas calculadas para os picos.

Tabela 4 – Resultados do teste de solventes

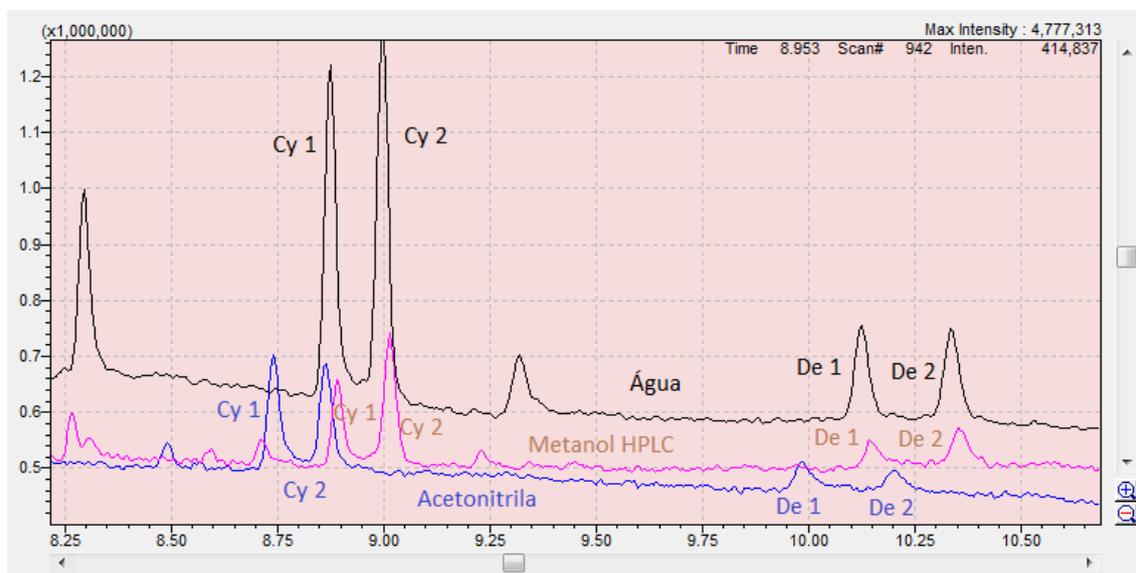
Solventes	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
	TR*	Área**	TR	Área	TR	Área	TR	Área
Água Ul.	8,874	1.209.547	8,998	1.369.507	10,125	396.844	10,336	389.445
ACN	8,700	563.314	8,850	571.157	9,950	208.764	10,150	226.038
MeOH	8,850	433.379	9,000	720.062	10,150	219.196	10,350	281.517

* Tempo de retenção (a unidade, neste trabalho, é sempre em minutos).

** As unidades das áreas dos picos são arbitrárias.

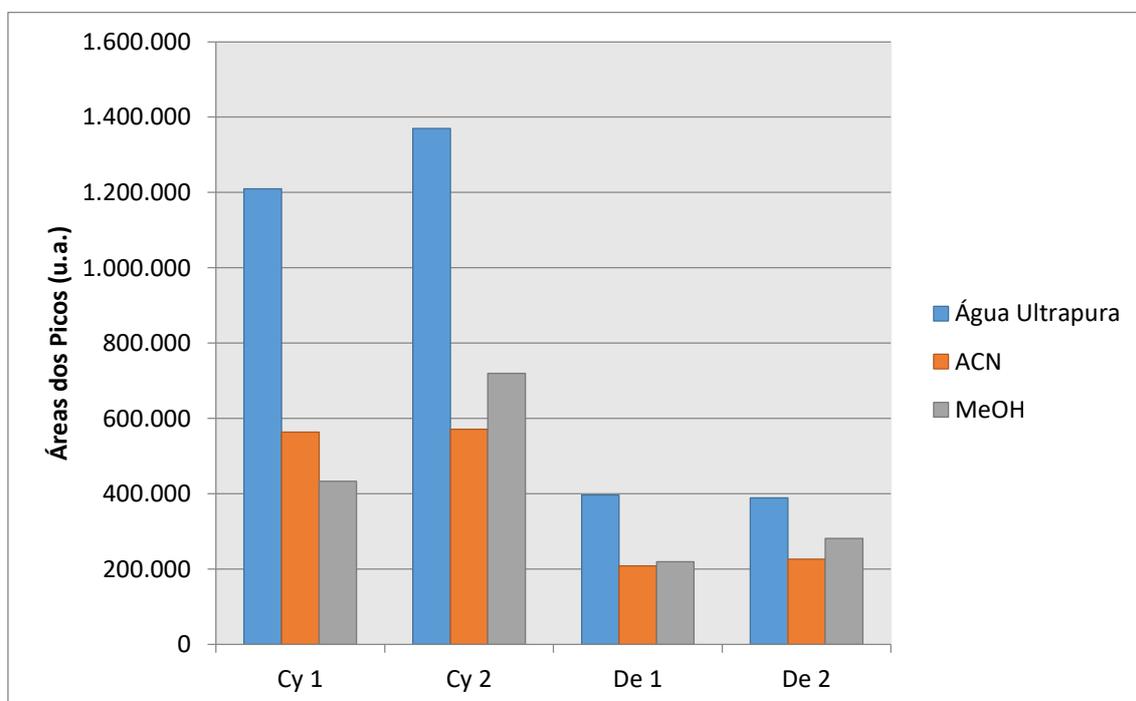
Na tabela 4, a cipermetrina é denotada “Cy” e a deltametrina “De”. Os números 1 e 2 para o Cy e De representam os dois picos identificados como pertencendo aos isótopos da cipermetrina e da deltametrina. Isso se explica devido à presença dos átomos de cloro na cipermetrina e de bromo na deltametrina (moléculas disponíveis na Fig. 3). Os isótopos mais comuns do cloro são ^{35}Cl e ^{37}Cl (na razão respectiva de 3:1); enquanto que, para o bromo, os isótopos ^{79}Br e ^{81}Br (aproximadamente na proporção de 1:1) são os mais abundantes (BENEDICT et al., 1981). Para cada um desses piretroides, é mostrado o tempo de retenção e a área do pico resultantes dos cromatogramas. A concentração dos piretroides para o teste foi de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Figura 11 – Comparação dos cromatogramas do teste de solventes



No gráfico 1 abaixo, é possível ver a comparação entre os resultados de cada um dos solventes. Apesar de ambas a cipermetrina e a deltametrina estarem presentes na mesma concentração, a cipermetrina apresentou uma área muito maior no cromatograma, tanto para a Cy 1 quanto para a Cy 2. A cipermetrina apresenta uma maior gravidade específica e uma maior solubilidade em água, ou seja, é uma molécula mais polar. Tal característica parece favorecer a quebra da molécula, resultando em uma maior área do pico quando os seus picos são comparados aos da deltametrina. Ao observar as áreas de todos os isótopos, verifica-se que a polaridade do solvente parece favorecer a volatilização, o que justificaria as maiores áreas quando se usa a água como solvente, seguido do metanol e da acetonitrila.

Gráfico 1 – Resultados do teste de solventes

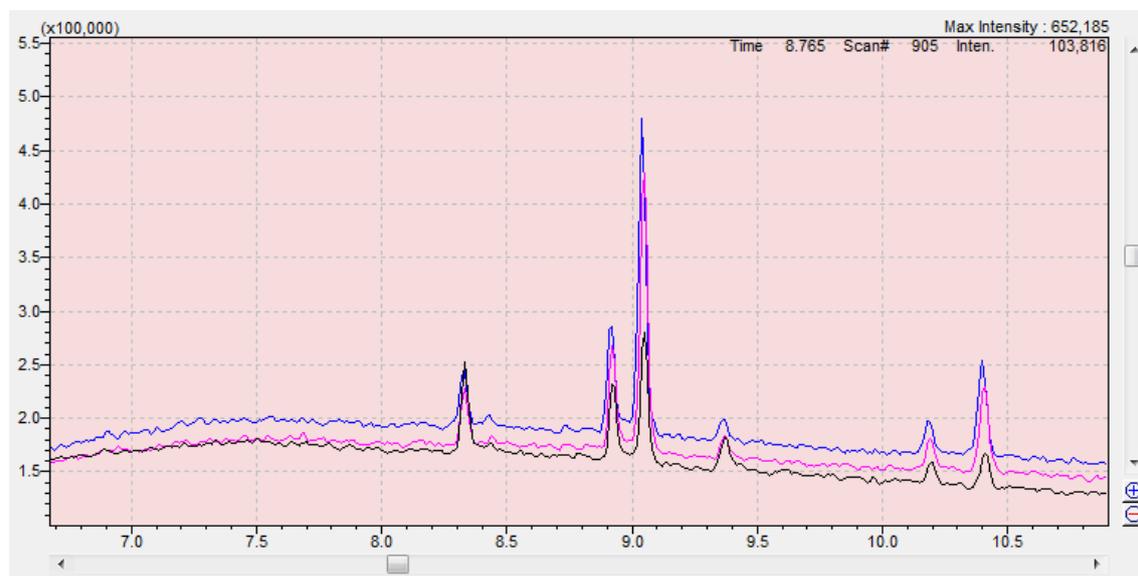


Pelo gráfico 1, fica claro que a água ultrapura foi o melhor solvente. No entanto, nas outras duas (pseudo)replicatas, não houve repetibilidade. A ausência de repetibilidade foi um fator muito recorrente durante todos os experimentos com esses piretroides. Além disso, a degradação deles no laboratório ocorreu em um tempo relativamente curto (menos de uma semana) – isto é, se uma replicata era realizada em um determinado dia e a segunda replicata fosse realizada ~3-4 dias depois, praticamente não se detectava mais a cipermetrina e a deltametrina. Apesar dos problemas citados, e principalmente devido à restrição de tempo para a conclusão da pesquisa, com base nos

resultados do gráfico 1, resolveu-se tentar analisar os piretroides em uma amostra de extrato de café e metanol (1:1) e verificar o efeito da matriz utilizando água ultrapura e metanol (1:1), o que seria apenas uma tentativa inicial, mas acabou tornando-se definitiva pela questão do tempo. E tendo em vista que os analitos também apresentavam áreas para o solvente ACN próximas do MeOH, esse primeiro poderia ser utilizado no processo de extração com a técnica ELL-PBT. Os princípios da química verde orientaram a escolha dos métodos de extração e dos solventes dentro do possível, levando-se em consideração a realidade de um laboratório de química de investigação criminal e um relativamente curto tempo necessário para que a extração ocorresse.

Após a análise do TCC pela banca, decidiu-se verificar a hipótese levantada por um de seus membros de que a ausência de repetibilidade se dava pelo uso de solventes mais polares, tendo em vista a insolubilidade dos analitos nestes. Para testar essa hipótese, utilizou-se acetona como solvente no *vial* contendo os piretroides na concentração de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os cromatogramas resultantes são expostos na figura 12.

Figura 12 – Comparação dos cromatogramas do teste de solventes utilizando acetona



Na tabela 5 abaixo, são apresentados os resultados dos tempos de retenção e das áreas calculadas para a comparação dos cromatogramas. O teste foi realizado em (pseudo)triplicata.

Tabela 5 – Resultados do teste de solventes com acetona

Teste de Solventes								
Solvente: Acetona								
Piretroide:	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
Rep. 1	8,540	262	8,927	15995	10,200	4898	10,200	6179
Rep. 2	8,925	18723	8,925	21028	9,680	1318	10,199	8983
Rep. 3	8,920	18908	8,920	21958	9,493	1343	10,200	10796

Pela tabela 5, é possível notar o aumento da repetibilidade a partir da segunda replicata, o que indica que, de fato, a redução da polaridade do solvente no *vial* aumenta a repetibilidade. Isso provavelmente ocorre porque os piretroides são mais apolares e formam uma emulsão no *vial* com as misturas de solventes utilizadas (principalmente com a água ultrapura e metanol HPLC), podendo permanecer, na forma de resíduos, na seringa do injetor; uma vez que o solvente seja menos polar, a remoção desses resíduos é mais eficaz, já que são solúveis em meio apolar como na acetona, que é um solvente apolar. Como mencionado, esse teste foi realizado após a análise do TCC pela banca para elucidar a ausência de repetibilidade, que foi responsável pela impossibilidade do método desenvolvido de quantificar os piretroides. No presente trabalho, os solventes menos polares foram evitados desde o início devido à busca de uma opção mais amigável ao meio ambiente.

4.3 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD) é definido pelo Harris (2010) como “a menor quantidade de analito que é ‘significamente diferente’ do branco” (HARRIS, p. 105, 2010). Harris (2010) ainda afirma que, em uma amostra de baixa concentração, “o desvio padrão serve como uma medida de ruído (variação aleatória) em um branco ou em um sinal baixo” (HARRIS, p. 105, 2010). Ele então define que um sinal que é 3 vezes maior que o ruído, é detectável, mas ainda é muito baixo para quantificação. Nesse ponto, define-se o limite de quantificação: “um sinal que é 10 vezes maior que o ruído” (HARRIS, p. 105, 2010).

Para apresentar o cálculo do LOD e do LOQ, os dados são expostos nas tabelas 6 e 7. Na primeira tabela, são expostos os dados para os cálculos do LOD e LOQ da mistura de solventes contendo extrato de café e metanol HPLC (1:1). Nos dois casos, os

analitos (os piretroides) não estavam presentes – ou seja, são brancos contendo apenas as misturas de solventes.

Tabela 6 – LOD e LOQ para a mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1)

Replicata								
	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Médio		Médio		Médio		Médio	
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
1	8,551	194	8,758	223	9,837	591	10,061	556
2	8,625	178	8,736	372	9,798	298	10,005	331
3	8,633	164	8,717	212	9,812	380	10,015	842
	DP*	15,0	DP	89,4	DP	151,2	DP	256,1

*Desvio padrão.

Na tabela 7 abaixo, são expostos os dados para os cálculos do LOD e do LOQ para a mistura de solventes contendo água ultrapura e metanol HPLC (1:1).

Tabela 7 – LOD e LOQ para a mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1)

Replicata								
	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Médio		Médio		Médio		Médio	
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
1	8,562	147	8,723	147	9,852	169	9,998	335
2	8,598	236	8,767	396	9,74	433	9,949	102
3	8,628	275	8,743	404	9,8	680	10,012	739
	DP	65,6	DP	146,1	DP	255,5	DP	322,3

Ambas as tabelas foram construídas a partir de uma (pseudo)triplícata com o branco contendo as misturas de solventes. Para saber o tempo de retenção dos picos, utilizou-se a média dos tempos de retenção das curvas de calibração (próxima seção). Os desvios padrão (DP) das áreas encontradas nesses tempos de retenção também são apresentados nas tabelas.

Assim sendo, para a mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1), o LOD foi determinado como (45,0), (268,1), (453,5) e (768,3) – sendo as unidades das áreas arbitrárias – para Cy 1, Cy 2, De 1 e De 2, respectivamente. Da mesma forma, o LOQ foi (150,1), (893,7), (1511,6) e (2561,1) para, novamente, Cy 1, Cy 2, De 1 e De 2, respectivamente. Nota-se que foram utilizadas as áreas resultantes em vez de concentrações, pois as áreas serviram diretamente para a análise das tabelas 8 e 9, nas quais os valores abaixo dos limites de detecção foram descartados no cálculo das curvas de calibração. No caso da mistura de água ultrapura com metanol HPLC (1:1), os resultados foram, para o LOD: (196,8), (438,4), (766,6) e (966,9) para Cy 1, Cy 2, De 1 e De 2, respectivamente; para o LOQ, (656,1), (1461,2), (2555,5) e (3223,0) para Cy 1, Cy 2, De 1 e De 2, respectivamente. Nota-se que, em ambos os casos, os valores foram maiores para a deltametrina: isso ocorreu porque, no branco, utilizando o método SIM, não foram identificados picos nos tempos de retenção da deltametrina e a integração teve que ser realizada manualmente, tornando os valores uma aproximação.

4.4 Curvas de Calibração

Embora tenha se observado a ausência de repetibilidade no teste dos solventes, para efeito de aprendizado, optou-se por realizar o estudo das curvas de calibração e aplicar o estudo da regressão linear e polinomial. Assim sendo, as curvas de calibração foram preparadas utilizando as misturas de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1) e água ultrapura e metanol HPLC (1:1). Para cada uma dessas misturas de solventes, foram acrescentados os piretroides (da solução estoque de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$) nas concentrações de 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 30, 50, 70 e $100 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Os tempos de retenção e as áreas dos picos correspondentes aos piretroides cipermetrina (Cy 1 e Cy 2) e deltametrina (De 1 e De 2) para a mistura de solventes água ultrapura e metanol HPLC (1:1) são mostrados na tabela 8. Utilizou-se o método desenvolvido para a pesquisa no modo SIM e os *vials* de cada concentração foram analisados três vezes no GC-MS ((pseudo)triplicata).

Tabela 8 – Tempos de retenção e áreas dos picos dos cromatogramas da (pseudo)triplícata com a mistura de solventes água ultrapura e metanol HPLC (1:1)

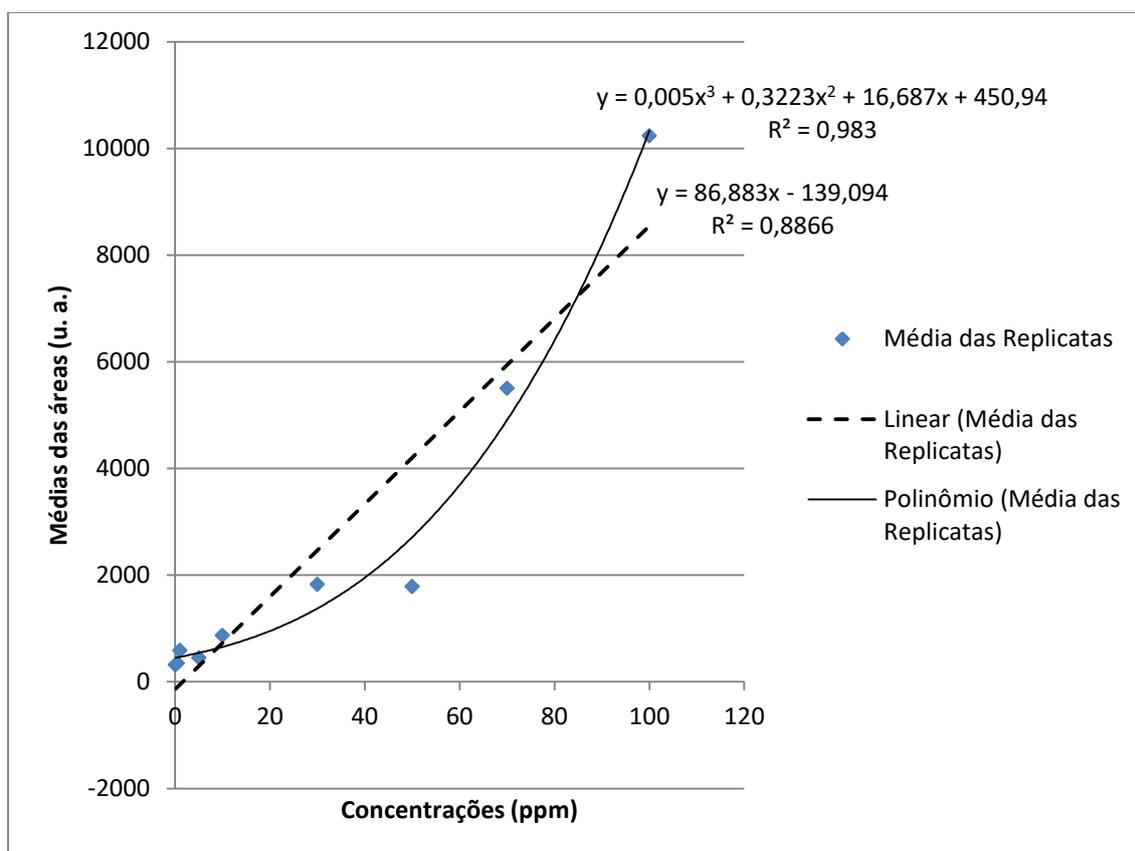
Replicata 1								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
100	8,607	10135	8,721	20980	9,818	4360	10,020	2162
70	8,506	2781	8,624	7322	9,735	1519	9,948	1374
50	8,603	1613	8,719	1564	-	-	-	-
30	8,614	1012	8,734	1166	-	-	-	-
10	8,792	595	8,792	760	-	-	-	-
5	8,359	464	8,499	322	-	-	-	-
1	8,600	373	8,760	276	-	-	-	-
0,5	8,400	599	8,895	511	9,915	512	10,010	593
0,1	8,580	138	8,761	273	9,940	376	10,013	163
Replicata 2								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
100	8,519	12652	8,636	41824	9,740	4399	9,949	10742
70	8,627	6674	8,744	9131	-	-	-	-
50	8,627	1929	8,744	2321	-	-	-	-
30	8,632	2517	8,752	829	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-
5	8,600	431	8,680	217	-	-	-	-
1	8,518	677	8,765	465	-	-	-	-
0,5	8,740	206	8,975	230	-	-	-	-
0,1	8,520	160	8,840	407	-	-	-	-
Replicata 3								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
100	8,595	7913	8,711	8568	9,800	2652	10,012	3899
70	8,499	7040	8,617	3686	-	-	-	-
50	8,623	1806	8,740	1168	-	-	-	-
30	8,604	1942	8,727	1218	-	-	-	-
10	8,600	1145	8,750	929	-	-	-	-
5	8,660	451	8,801	1606	-	-	-	-
1	8,597	705	8,656	1631	-	-	-	-
0,5	8,860	238	8,938	240	-	-	-	-
0,1	8,610	320	8,748	401	-	-	-	-

O traço “-” significa dado não adquirido.

A linha no meio de alguns valores (como em “138”) indica que eles ficaram abaixo do LOD.

Os valores que ficaram abaixo do limite de detecção foram removidos das regressões (tais valores aparecem com uma linha no meio na tabela). Assim, resultou que, para a deltametrina, nessa mistura de solventes, não houve valores suficientes para a realização das regressões. Com os demais valores, no entanto, realizaram-se as regressões linear e não-linear para a cipermetrina 1 e 2. O gráfico 2 apresenta os resultados para as regressões da Cy 1.

Gráfico 2 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 1 (Cy 1) da mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1)



As equações resultantes das regressões para a cipermetrina 1 foram: a regressão linear resultou na equação 5:

$$y = Ax + B \quad (5)$$

Em que A é igual a $(86,883 \pm 11,742)$; e B, $(-139,094 \pm 531,313)$. Para essa regressão, o coeficiente de determinação R^2 foi igual a 0,8866.

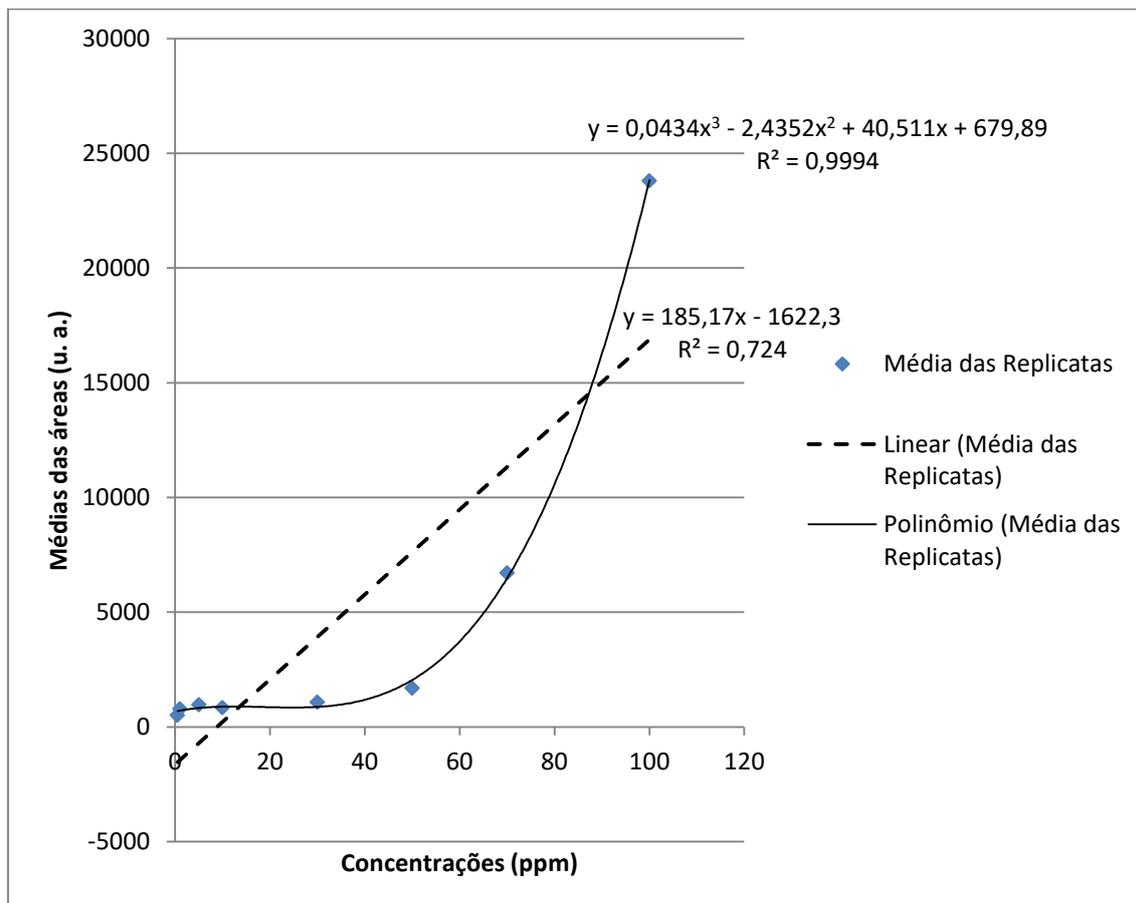
A regressão não-linear (polinomial cúbica) resultou na seguinte equação:

$$y = a_0 + a_1 \cdot x + a_2 \cdot x^2 + a_3 \cdot x^3 \quad (6)$$

Sendo que o a_0 foi igual a $(450,940 \pm 304,050)$; o a_1 , $(16,687 \pm 49,235)$; o a_2 , $(0,322 \pm 1,328)$; e o a_3 , $(0,005 \pm 0,009)$. O R^2 foi de 0,9830.

No gráfico 3, são apresentados os resultados das regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 2 (Cy 2).

Gráfico 3 - Regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 2 (Cy 2) da mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1)



Da mesma forma, as equações 5 e 6 se aplicam para as regressões linear e não-linear. Nesse caso, no entanto, A foi igual a $(185,169 \pm 46,682)$ e B, $(-1622,3 \pm 2240,3)$. O coeficiente de determinação, R^2 , foi de 0,7239. Para a regressão não-linear, obteve-se: a_0 igual a $(679,89 \pm 175,36)$; o a_1 , $(40,511 \pm 25,550)$; o a_2 , $(-2,4352 \pm 0,6728)$; e o a_3 , $(0,0434 \pm 0,0044)$. O R^2 foi de 0,9994. Como é notável nos gráficos 2 e 3, as regressões não-lineares (polinomiais cúbicas) apresentam coeficientes de determinação, R^2 , mais próximos da unidade do que as regressões lineares. Em outras palavras, os dados apresentam um ajuste melhor ao modelo polinomial cúbico.

Na tabela 9 abaixo, são apresentados os tempos de retenção e as áreas dos picos dos cromatogramas da (pseudo)triplicata com a mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1) utilizando o método desenvolvido para a pesquisa no modo SIM.

Tabela 9 – Tempos de retenção e áreas dos picos dos cromatogramas da (pseudo)triplicata com a mistura de solventes extrato de café e metanol HPLC (1:1)

Replicata 1								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
100	8,612	10471	8,728	25247	9,822	2739	10,024	4123
70	8,606	7552	8,720	11130	9,820	1783	10,022	6172
50	8,504	5276	8,621	9544	9,742	2842	9,940	7010
30	8,600	1599	8,717	2596	-	-	-	-
10	8,623	963	8,734	1512	-	-	-	-
5	8,675	560	8,760	537	-	-	-	-
1	8,423	483	8,880	789	10,22	163	10,260	152
0,5	8,580	165	8,722	599	9,760	753	10,062	461
0,1	8,340	358	8,940	366	9,659	562	10,060	689
Replicata 2								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
100	8,514	14019	8,631	47683	9,738	6624	9,944	10120
70	8,622	5049	8,737	38850	9,828	3494	10,040	6025
50	8,620	3570	8,733	27013	9,829	3449	10,031	7352
30	8,640	2231	8,754	4732	-	-	-	-
10	8,618	4794	8,733	2131	-	-	-	-
5	8,662	1262	8,772	2426	-	-	-	-
1	8,747	856	8,791	621	-	-	-	-
0,5	8,577	626	8,780	333	-	-	-	-
0,1	8,621	464	8,696	472	-	-	-	-
Replicata 3								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
100	8,59	19718	8,706	20097	9,798	6934	10,001	6976
70	8,605	5356	8,72	22292	9,816	3327	10,016	6812
50	8,619	4905	8,732	23086	9,815	2556	10,022	7570
30	8,617	1658	8,729	10742	9,819	707	10,022	4561

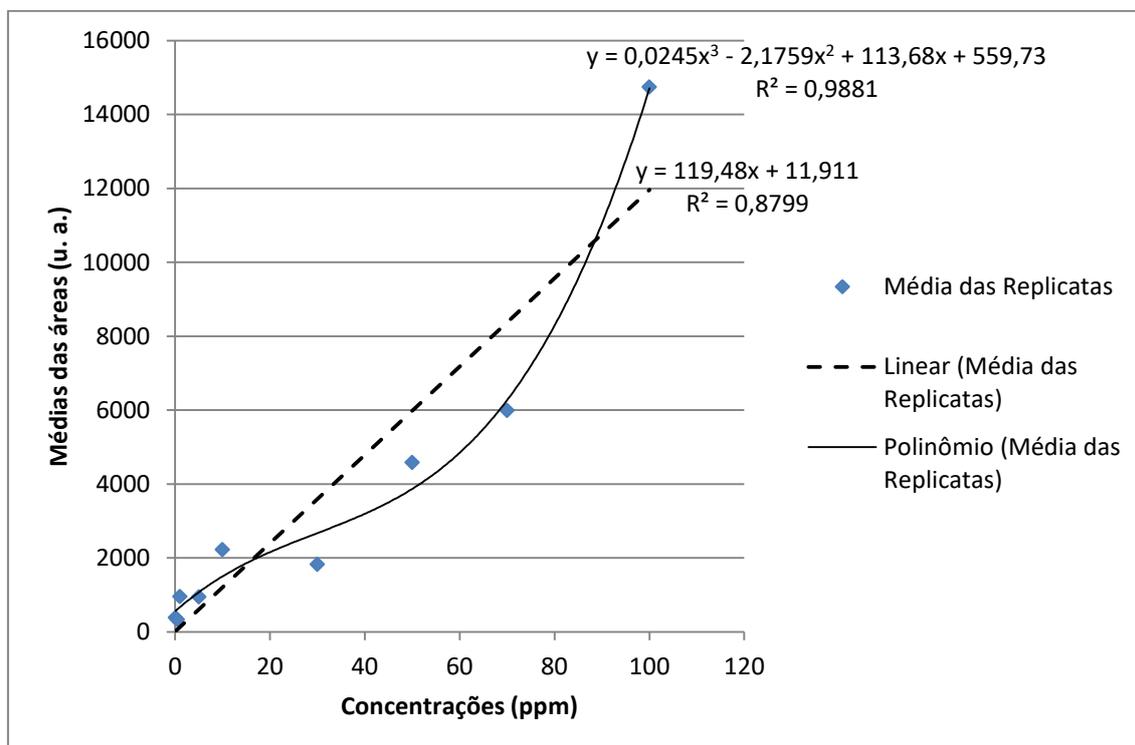
Continua

Continuação

Tabela 9 – Tempos de retenção e áreas dos picos dos cromatogramas da (pseudo)triplicata com a mistura de solventes extrato de café e metanol HPLC (1:1)

Replicata	3						
10	8,63	904	8,74	4194	-	-	-
5	8,525	1004	8,642	1764	-	-	-
1	8,755	1516	8,608	1119	-	-	-
0,5	8,709	203	8,9	355	-	-	-
0,1	8,645	319	8,675	319	-	-	-

Novamente, os dados que ficaram abaixo do limite de detecção para essa mistura de solventes foram removidos das regressões. No gráfico 4, são apresentadas as regressões linear e polinomial cúbica das médias das áreas da cipermetrina 1 (Cy 1) realizadas com os dados da tabela 9.

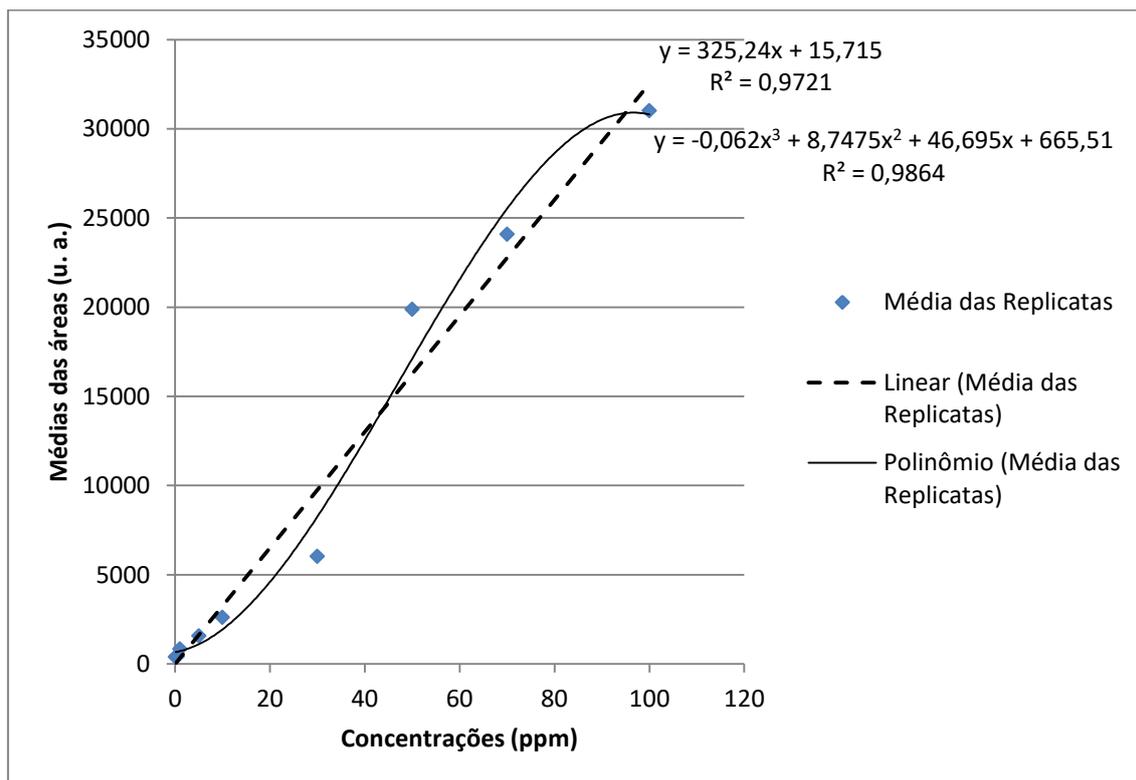
Gráfico 4 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 1 (Cy 1) da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1)

Utilizando as equações 5 e 6 novamente, para a regressão linear, os valores de A (inclinação da curva) e B (interseção com o eixo y) foram, respectivamente: $(119,482 \pm 16,682)$ e $(11,911 \pm 754,812)$ com R^2 igual a 0,8799; para a regressão

polinomial cúbica, os valores de a_0 , a_1 , a_2 e a_3 foram, respectivamente: $(559,73 \pm 351,30)$, $(113,68 \pm 56,89)$, $(-2,1759 \pm 1,5348)$ e $(0,0245 \pm 0,0102)$. O R^2 foi igual a 0,9881.

No gráfico 5, são apresentados os resultados para as regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 2 (Cy 2) da tabela 9.

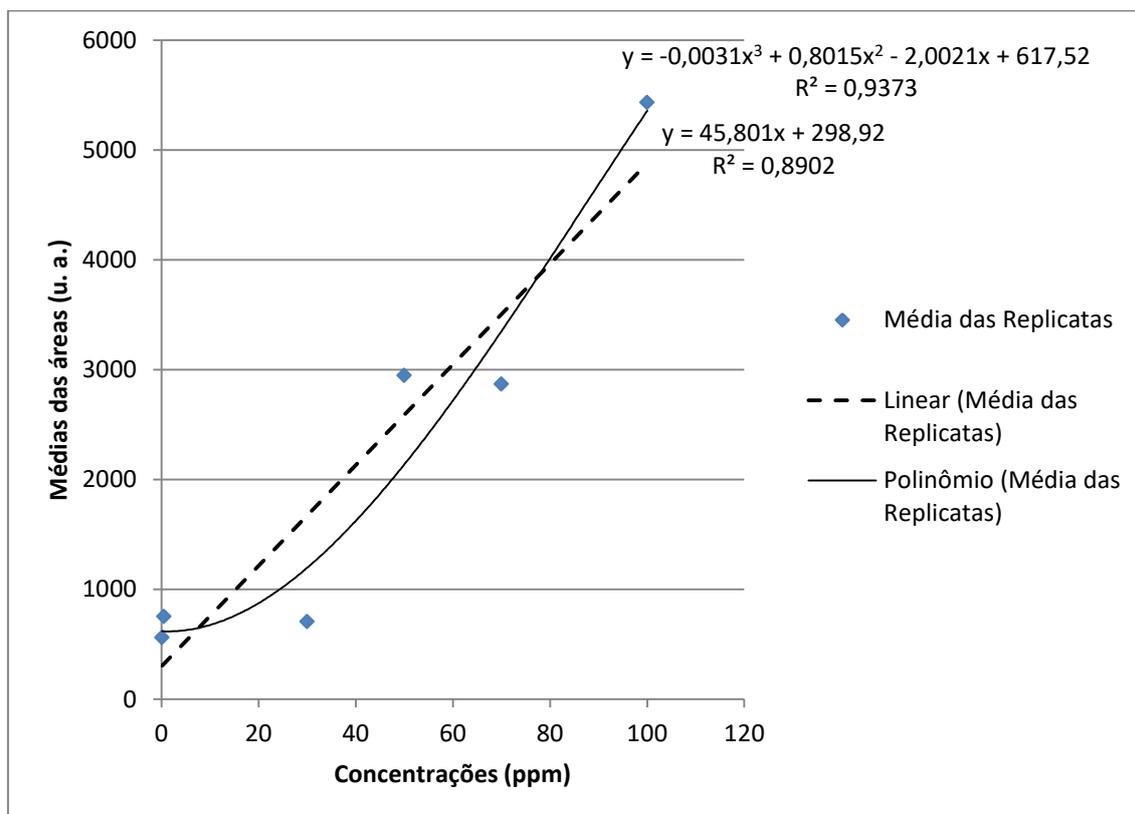
Gráfico 5 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da cipermetrina 2 (Cy 2) da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1)



Da mesma maneira, tendo as equações 5 e 6 como referência, os valores A e B para a regressão linear foram, respectivamente: $(325,24 \pm 20,82)$ e $(15,715 \pm 942,301)$. O R^2 foi de 0,9721. Para a regressão polinomial cúbica, os valores de a_0 , a_1 , a_2 e a_3 foram, respectivamente: $(665,51 \pm 972,87)$, $(46,695 \pm 157,538)$, $(8,7475 \pm 4,2503)$ e $(0,062 \pm 0,028)$. O valor do R^2 foi de 0,9864. Para a cipermetrina 2, os resultados da regressão linear obtiveram um ajuste quase tão bom quanto o da regressão polinomial cúbica.

No gráfico 6 abaixo, são apresentados os resultados das regressões linear e polinomial cúbica das médias das áreas da deltametrina 1 (De 1) da tabela 10.

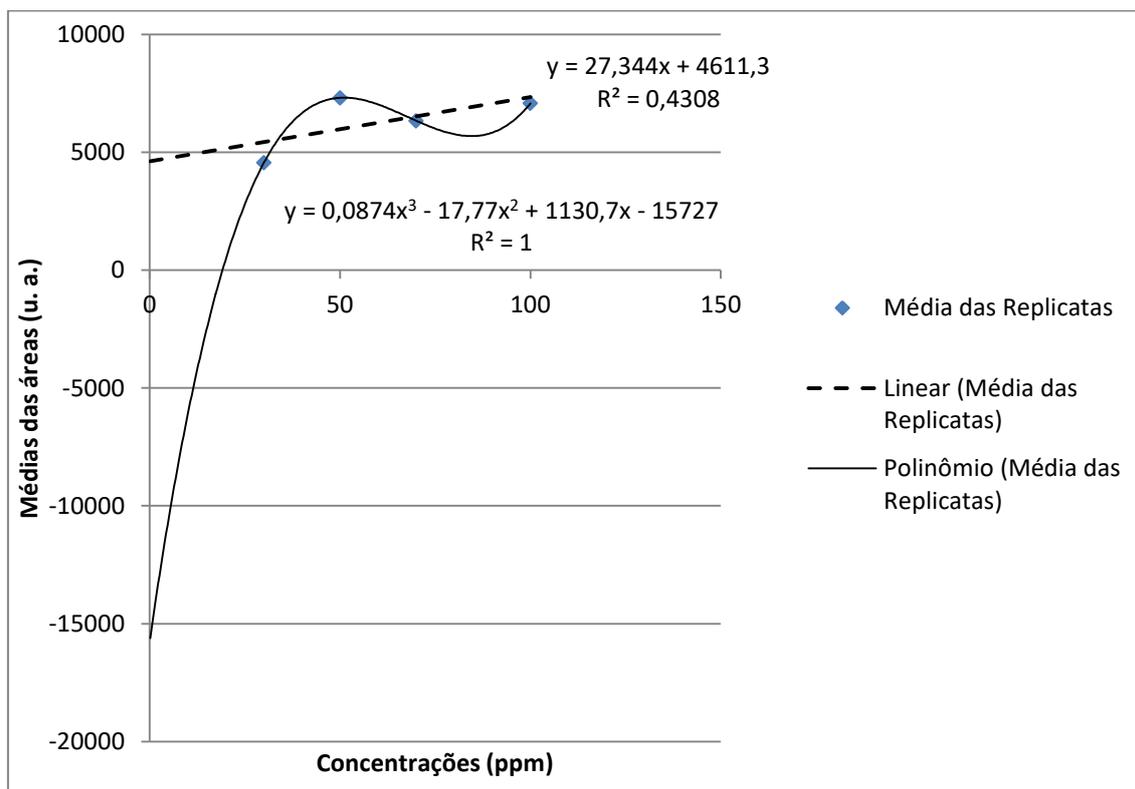
Gráfico 6 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da deltametrina 1 (De 1) da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1)



Utilizando as equações 5 e 6 como referência, os valores A e B para a regressão linear foram, respectivamente: $(45,801 \pm 0,004)$ e $(298,92 \pm 0,23)$. O R^2 foi de 0,8902. Para a regressão polinomial cúbica, os valores de a_0 , a_1 , a_2 e a_3 foram, respectivamente: $(617,52 \pm 0,35)$, $(2,0021 \pm 0,0486)$, $(0,8015 \pm 0,0013)$ e $(-0,0031 \pm 8,8179)$. O valor do R^2 foi de 0,9373. O número de dados disponíveis para as regressões da deltametrina 1 foram reduzidos em relação à Cy 1 e 2 (apenas 6 dados em comparação com os 9 dados de cada uma das outras cipermetrinas).

No gráfico 7, são apresentadas as regressões linear e polinomial das médias das áreas da deltametrina 2 (De 2) da tabela 10.

Gráfico 7 – Regressões linear e polinomial das médias das áreas da deltametrina 2 (De 2) da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1)



Mais uma vez, utilizando as equações 5 e 6, os valores A e B para a regressão linear foram, respectivamente: $(27,344 \pm 22,230)$ e $(4611,3 \pm 1503,6)$. O R^2 foi de 0,4308. Para a regressão polinomial cúbica, os valores de a_0 , a_1 , a_2 e a_3 foram, respectivamente: (-15727) , $(1130,7)$, $(-17,77)$ e $(0,0874)$. O valor do R^2 foi de 1. O número de dados adquiridos para as regressões da deltametrina 2 foram bem reduzidos (apenas 4).

Todos os coeficientes de determinação para a regressão polinomial cúbica mostraram melhores ajustes (mais próximos de 1) que os coeficientes de determinação das regressões lineares. Oliveira *et al.* (2019), analisando resíduos de piretroides em peixes usando o método QuEChERS modificado no GC-MS, obtiveram resultados que os fizeram abandonar o modelo linear (devido ao baixo coeficiente de determinação) e utilizar, para alguns resíduos de piretroides, o modelo quadrático e, para outros, o modelo cúbico. Zhu *et al.* (2021), analisando piretroides em chá oolong por cromatografia gasosa com ionização química negativa acoplada à espectrometria de massas, conseguiu coeficientes de determinação acima de 0,996 para as regressões lineares para concentrações entre $0,006$ - $1,00 \mu\text{g mL}^{-1}$. Em Oliveira *et al.* (2019) e neste trabalho, a técnica de ionização utilizada (disponível no GCMS-QP2010 da Shimadzu)

foi o impacto de elétrons. Segundo Corcellas *et al* (2013), a análise de piretroides utilizando a técnica de ionização química negativa, do inglês *negative chemical ionization* (NCI), no GC-MS é preferível em relação à técnica de impacto de elétrons devido às condições mais leves de fragmentação na NCI. Utilizando a técnica EI, há a produção de “íons de baixa massa com as mesmas razões m/z para diferentes piretroides [...]”. Isso leva a uma perda de seletividade e à necessidade de uma separação cromatográfica melhorada” (CORCELLAS *et al.*, 2013, p. 222).

Por último, é importante notar que a mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1) obteve mais resultados que a mistura de água ultrapura e metanol HPLC (1:1). Como mencionado no teste de solventes, isso provavelmente ocorreu pela presença de substâncias apolares no extrato de café que foram capazes de solubilizar os piretroides melhor que na mistura de água ultrapura e metanol HPLC (1:1), na qual provavelmente ocorreu uma emulsão que prejudicou a repetibilidade de maneira mais acentuada.

4.5 Recuperação

Embora a ausência de repetibilidade nos experimentos tenham prejudicado as curvas de calibração e, portanto, efetivamente impediriam a avaliação da recuperação *per se*, ainda assim optou-se por realizá-la para estimarem-se e compararem-se os efeitos dos diferentes modelos de regressão em seus resultados. A recuperação foi realizada com três volumes de preparado de café sem açúcar contaminados em três concentrações diferentes com os piretroides. Os detalhes dos volumes e concentrações resultantes são expostos na tabela 1 na parte metodológica. A ELL-PBT foi utilizada no processo de extração, porém com modificações nos volumes de acetonitrila. O procedimento foi muito rápido e simples. Após a extração, os 3 *vials* resultantes com as diferentes concentrações foram analisados no GC-MS (em (pseudo)triplicata) utilizando o método desenvolvido no modo SIM. Os resultados da análise são mostrados na tabela 10 abaixo.

Tabela 10 – Resultados da recuperação para as concentrações de 50, 25 e 6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em (pseudo)triplicata

Replicata 1								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
50	8,520	628	8,819	216	9,957	386	10,100	386
25	8,516	1671	8,631	3917	9,944	857	10,106	460
6,25	8,640	753	8,760	1633	9,800	312	10,039	716
Replicata 2								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
50	8,652	1475	8,764	2705	9,982	521	10,060	761
25	8,654	2739	8,770	7493	9,860	1475	10,057	2966
6,25	8,661	845	8,773	4019	9,860	599	10,061	3246
Replicata 3								
Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
	Cy 1		Cy 2		De 1		De 2	
50	8,490	266	8,760	4470	9,842	1747	10,043	2414
25	8,661	1191	8,780	2726	9,715	338	10,057	1083
6,25	8,760	1390	8,767	1722	9,849	547	10,150	339

Os valores adquiridos para a Cy 1, Cy 2, De 1 e De 2 expostos na tabela 10 foram substituídos nas equações das regressões polinomiais cúbicas e lineares da Cy 1 e Cy 2 da mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1) e nas equações das regressões polinomiais cúbicas e lineares da Cy 1, Cy 2, De 1 e De 2 da mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1). Como, na tabela 11, é apresentada uma triplicata dos valores, os resultados obtidos das equações também foram em triplicata. Com esses resultados e utilizando a equação (7) abaixo, realizou-se o cálculo da média das recuperações para cada concentração (6,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) com intervalo de confiança de 95%.

$$\bar{x} \pm \frac{t_{\alpha, n-1} s}{\sqrt{n}} \quad (7)$$

Na equação 7, \bar{x} representa a média amostral (embora seja uma (pseudo)triplicata), $t_{\alpha, n-1}$ representa o valor t de *Student*, α é o grau de probabilidade, s é o desvio padrão amostral e n é o número de replicatas. Na tabela 11 abaixo, são exibidos os resultados das concentrações da recuperação utilizando as equações das regressões polinomiais cúbicas das curvas de calibração.

Tabela 11 – Resultados das concentrações da recuperação utilizando as equações das regressões polinomiais cúbicas das curvas de calibração

Replicata 1				
Solvente:	AUM*			
Conc. Teórica	CR**	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	8,878	7,556 ****	-	-
25	35,462	60,896	-	-
6,25	13,703	46,195	-	-
Solvente:	ECM***			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	0,607	146,565	257,167	19,825
25	12,252	17,795	19,373	19,965
6,25	1,758	8,371	257,527	20,458
Replicata 2				
Solvente:	AUM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	31,928	54,653	-	-
25	50,265	72,867	-	-
6,25	16,77	61,341	-	-
Solvente:	ECM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	9,636	13,369	256,504	20,546
25	31,331	28,059	36,805	25,414
6,25	2,639	18,134	256,118	26,134
Replicata 3				
Solvente:	AUM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	14,073	63,203	-	-
25	26,01	54,781	-	-
6,25	30,269	47,116	-	-
Solvente:	ECM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	2,464	19,586	42,598	24,074
25	6,248	13,453	257,4	21,186
6,25	8,575	8,856	256,375	19,736

*Água Ultrapura e Metanol HPLC (1:1)

**Concentração Resultante

***Extrato de Café e Metanol HPLC (1:1)

****Valores negativos ou demasiadamente altos foram rejeitados.

Na tabela 11, alguns valores foram rejeitados devido ao fato das raízes das equações polinomiais cúbicas serem valores negativos ou absurdamente altos. Com os resultados da tabela 11, calcularam-se as médias das recuperações com intervalo de confiança de 95% (expostos na tabela 12).

Tabela 12 – Médias das recuperações com intervalo de confiança de 95% utilizando as equações das regressões polinomiais cúbicas

AUM				
Conc. Teórica	Média das CRs Cy 1	Média das CRs Cy 2	Média das CRs De 1	Média das CRs De 2
50	20,403±5,946	58,928±2,205	-	-
Recup. (%)	40,81±11,89	117,86±4,41	-	-
25	37,256±3,654	62,848±3,356	-	-
Recup. (%)	149,02±14,62	251,39±13,42	-	-
6,25	20,247±2,634	51,551±3,098	-	-
Recup. (%)	323,95±42,14	824,82±49,57	-	-
ECM				
Conc. Teórica	Média das CRs Cy 1	Média das CRs Cy 2	Média das CRs De 1	Média das CRs De 2
50	5,122±2,329	16,478±1,604	42,598	21,482±0,680
Recup. (%)	10,24±4,66	32,96±3,21	85,2	42,96±1,36
25	16,61±3,91	19,769±2,242	28,089±4,497	22,188±0,855
Recup. (%)	66,44±15,64	79,08±8,97	112,36±17,99	88,75±3,42
6,25	4,324±1,108	11,787±1,644	-	22,109±1,047
Recup. (%)	69,18±17,73	188,59±26,30	-	353,74±16,75

Pela tabela 12, utilizando as equações das regressões polinomiais cúbicas, os valores da recuperação, portanto, ficaram entre (10,24±4,66)% e (824,82±49,57)%. Para realizar uma comparação dos modelos de regressão, na tabela 13, são expostos os resultados das concentrações da recuperação utilizando as equações das regressões lineares.

Tabela 13 – Resultados das concentrações da recuperação utilizando as equações das regressões lineares das curvas de calibração

Replicata 1				
Solvente:	AUM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	8,831	9,928	-	-
25	20,836	29,915	-	-
6,25	10,27	17,58	-	-
Solvente:	ECM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	5,156	0,77	1,901	-154,524
25	13,886	11,995	12,185	-151,818
6,25	6,203	4,973	0,286	-142,455
Replicata 2				
Solvente:	AUM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	18,58	23,369	-	-
25	33,128	49,227	-	-
6,25	11,329	30,466	-	-
Solvente:	ECM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	12,245	8,269	4,849	-140,809
25	22,825	22,99	25,678	-60,17
6,25	6,973	12,309	6,552	-49,931
Replicata 3				
Solvente:	AUM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	4,63	32,901	-	-
25	15,311	23,483	-	-
6,25	17,602	18,061	-	-
Solvente:	ECM			
Conc. Teórica	CR	CR	CR	CR
	Cy 1	Cy 2	De 1	De 2
50	2,127	13,695	31,617	-80,358
25	9,869	8,333	0,853	-129,034
6,25	11,534	5,246	5,416	-156,243

Os valores rejeitados na tabela 13 foram resultantes da equação de regressão linear para a deltametrina 2 com o coeficiente de determinação R^2 igual a 0,4308. Portanto, pela regressão linear, a recuperação da deltametrina 2 não pôde ser determinada. Na tabela 14, são apresentadas as médias das recuperações da tabela 13 com o intervalo de confiança de 95%.

Tabela 14 – Médias das recuperações com intervalo de confiança de 95% utilizando as equações das regressões lineares

AUM				
Conc. Teórica	Média das CRs Cy 1	Média das CRs Cy 2	Média das CRs De 1	Média das CRs De 2
50	10,680±2,139	22,066±3,450	-	-
Recup. (%)	21,36±4,28	44,13±6,90	-	-
25	23,092±2,726	34,208±4,004	-	-
Recup. (%)	92,37±10,90	136,83±16,02	-	-
6,25	13,067±1,184	22,036±2,183	-	-
Recup. (%)	209,70±18,94	352,58±34,93	-	-
ECM				
Conc. Teórica	Média das CRs Cy 1	Média das CRs Cy 2	Média das CRs De 1	Média das CRs De 2
50	6,509±1,552	7,578±1,940	12,789±4,893	-
Recup. (%)	13,02±3,10	15,16±3,88	25,58±9,79	-
25	15,527±1,982	14,439±2,280	12,905±3,714	-
Recup. (%)	62,11±7,93	57,76±9,12	51,62±14,86	-
6,25	8,237±0,861	7,509±1,243	4,085±0,998	-
Recup. (%)	131,79±13,78	120,14±19,89	65,36±15,97	-

Pela tabela 14, os valores da recuperação, utilizando as equações das regressões lineares, ficaram entre (13,02±3,10)% e (352,58±34,93)%. É possível notar, tanto na tabela 14 quanto na tabela 12, que a recuperação para o *vial* de 50 µg mL⁻¹ obteve os piores resultados. Isso se deve, provavelmente, ao fato de suas (pseudo)replicatas terem sido realizadas seis dias após as replicatas dos *vials* de 25 µg mL⁻¹ e 6,25 µg mL⁻¹ devido à ocorrência de manutenção do GC-MS no período referido.

Por fim, através dos resultados da recuperação, descobriu-se que, no caso do café como amostra, é possível utilizar volumes menores de acetonitrila na técnica de extração ELL-PBT, uma vez que os volumes menores foram capazes de extrair os piretroides do café coado em quantidade suficiente para realizar a detecção. No entanto, é importante afirmar que, até mesmo pela ausência de repetibilidade na construção das curvas de calibração, não foram realizados testes de comparação com a técnica descrita originalmente por Vieira et al. (2007), sendo, portanto, apenas uma observação da possibilidade de detecção utilizando os volumes menores de acetonitrila.

5 CONCLUSÃO

O objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento de um método para identificação dos piretroides cipermetrina (Cy) e deltametrina (De) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em amostra de café coado. O método desenvolvido resultou na detecção dos piretroides de forma satisfatória, embora a quantificação tenha sido impedida pelo fato das recuperações terem ficado com médias e intervalo de confiança de 95% entre $(10,24 \pm 4,66)\%$ e $(824,82 \pm 49,57)\%$ para o modelo com regressões polinomiais cúbicas e com médias e intervalo de confiança de 95% entre $(13,02 \pm 3,10)\%$ e $(352,58 \pm 34,93)\%$ para o modelo com regressões lineares. A variação desses valores indica que, para quantificação, o método desenvolvido não é eficaz; porém, para detecção, o método apresentou eficácia na identificação dos piretroides cipermetrina e deltametrina. A mistura de solventes de água ultrapura e metanol HPLC (1:1) apresentou os valores mais baixos das áreas dos picos nas curvas de calibração, assim como muitos valores acima de 100% na recuperação, tendo, portanto, um desempenho pior do que a mistura de solventes de extrato de café e metanol HPLC (1:1), ao contrário do que o teste de solventes esperava, o que pode indicar que as substâncias presentes no extrato de café podem saturar o meio e favorecer a recuperação dos analitos (efeito de matriz). Além disso, o uso das regressões polinomiais cúbicas (que obtiveram os melhores coeficientes de determinação) levou a valores de recuperação mais altos do que as regressões lineares devido, principalmente, ao fato das equações polinomiais cúbicas possuírem raízes às vezes negativas ou às vezes com valores muito altos.

No período após as correções pela banca, realizou-se um rápido teste de solventes para os *vials* com acetona e notou-se um aumento na repetibilidade das análises. Assim, descobriu-se que o principal problema do trabalho foi o uso de solventes mais polares, que prejudicaram a repetibilidade devido à provável retenção dos piretroides no equipamento durante a injeção ou no próprio *vial*.

De maneira geral, neste trabalho, tentou-se utilizar os princípios da química verde como guia no planejamento dos experimentos. O resultado principal disso foi a modificação realizada na ELL-PBT, reduzindo o volume de acetonitrila utilizado sem causar nenhum detrimento para os valores da recuperação. Para mais, a realização de (pseudo)triplicatas reduziu os gastos com reagentes e *vials* no laboratório, embora, nesse caso, os dados adquiridos se tornem menos confiáveis.

Por último, para melhorar o método desenvolvido no presente trabalho, seriam interessantes outras pesquisas que utilizassem outros solventes que oferecessem maior estabilidade para os piretroides durante o processo de análise no GC-MS. Além disso, a utilização de concentrações acima de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ não seriam um problema, já que, em caso de envenenamento, a concentração da cipermetrina deveria ser pelo menos por volta de $300 \mu\text{g mL}^{-1}$ (devido à sua DL_{50}), o que provavelmente permitiria a produção de curvas de calibração melhores e talvez a quantificação dos piretroides de maneira mais eficaz. Por fim, triplicatas verdadeiras seriam uma boa adição.

6 REFERÊNCIAS

AGILENT. What are Quantifier and Qualifier Ions in Mass Spectrometry?. 11 de Março de 2023. Disponível em: < <https://community.agilent.com/knowledge/mass-spec-software-portal/kmp/mass-spec-software-articles/kp817.what-are-quantifier-and-qualifier-ions-in-mass-spectrometry-> >. Acesso em 21 de Maio de 2023.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Toxicological Profile for Pyrethrins and Pyrethroids**. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 2003, pp. 1-2.

BENEDICT, M.; PIGFORD, T. H.; LEVI, H. W.. **Nuclear Chemical Engineering**. 2ed. New York, NY: McGraw-Hill Book Company, p. 943, p. 949, 1981.

BRASIL. **Lei Nº 7.802, de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 1989.

CHA, Y. S.; KIM, H.; CHO, N. H.; WOO, J. J.; KIM, Y. W.; KIM, T. H.; KIM, O. H.; CHA, K. C.; LEE, K. H.; HWANG, S. O.; NELSON, L. S.. Pyrethroid poisoning: features and predictors of atypical presentations. **Emergency Medicine Journal**, v. 31, n. 11, pp. 899-903, 4 de nov. de 2014.

CHAM, E. Y. K.; TSE, J. C. L.; CHONG, Y. K.; CHEN, M. L.; WONG, O. F.; FUNG, H. T.. A case of pyrethroid poisoning with clinical presentation mimicking organophosphate. **Hong Kong Journal of Emergency Medicine**, v. 23, n. 2, p. 47-51, mar. 2016.

CORCELLAS, C.; ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D.. Determination of Pyrethroid Insecticides in Environmental Samples by GC–MS and GC–MS–MS. **Comprehensive Analytical Chemistry**, v. 61, p. 203-230, 2013.

FERNANDES, D. R.. **Intoxicações em animais de companhia por inseticidas e rodenticidas**. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior. Covilhã, p. 6, 2014.

GALERA, M. M.; GARCÍA, M. D. G.; VALVERDE, R. S.. Determination of nine pyrethroid insecticides by high-performance liquid chromatography with post-column photoderivatization and detection based on acetonitrile chemiluminescence. **Journal of Chromatography A**, v. 1113, n. (1-2), pp. 191-197, 2006.

HARRIS, D. C. **Quantitative Chemical Analysis**. 8ed. New York, NY: W. H. Freeman and Company, 2010, pp. 565-583.

HE, F.; WANG, S.; LIU, L.; CHEN, S.; ZHANG, Z.; SUN, J.. Clinical manifestations and diagnosis of acute pyrethroid poisoning. **Archives of Toxicology**, v. 63, n. 1, p. 54-58, 1989.

HLADIK, M. L.; SMALLING, K. L.; KUIVILA, K. M.. **Methods of analysis—Determination of pyrethroid insecticides in water and sediment using gas chromatography/mass spectrometry**. Reston, VA: U.S. Geological Survey, Techniques and Methods 5-C2, 2009.

IUPAC - INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Glossary of Terms Relating to Pesticides (IUPAC recommendations 2006). **Pure Appl. Chem.**, v. 78, n. 11, pp. 2075-2154, 2006.

JAMROZ, R. C.; GUERRERO, F. D.; KAMMLAH, D. M.; KUNZ, S. E.. Role of the kdr and super-kdr sodium channel mutations in pyrethroid resistance: correlation of allelic frequency to resistance level in wild and laboratory populations of horn flies (*Haematobia irritans*). **Insect Biochem Mol. Biol.**, v. 28, n. 12, pp. 1031-1037, 1998.

KANEKO, H. Pyrethroid Chemistry and Metabolism. *In*: KRIEGER, R. (org.). **Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology**. 3ed. San Diego, CA: Academic Press (Elsevier), 2010, cap. 76.

KHAMBAY, B. P. S.; JEWESS, P. J. Pyrethroids. **Comprehensive Molecular Insect Science**, v. 6, pp. 1-29, mai. 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B0444519246000752>>. Acesso em: 26 de Abril de 2023.

KIM, B. J.; YANG, S. H.; CHOI, H.. Simultaneous Determination of Pyrethroid Insecticides in Foods of Animal Origins Using the Modified QuEChERS Method and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Foods**, v. 11, n. 22, 14 de Nov. de 2022.

MATSUMURA, F. **Toxicology of Insecticides**. New York, NY: Plenum Press, 1975, p. 47-49.

MONTEIRO, S. H.; CISCATO, C. H. P.; GEBARA, A. B.; MASINI, J. C.. A liquid chromatography method for determination of pyrethroids insecticides residues in beans. **Eclética Química**, v. 36, n. 4, pp. 14-20, 2011.

OLIVEIRA, L. G.; KURZ, M. H. S.; GUIMARÃES, M. C. M.; MARTINS, M. L.; PRESTES, O. D.; ZANELLA, R.; RIBEIRO, J. N. S.; GONÇALVES, F. F.. Development and validation of a method for the analysis of pyrethroid residues in fish using GC–MS. **Food Chemistry**, v. 297, 1 de Nov. de 2019.

O'MALLEY, M.. Clinical evaluation of pesticide exposure and poisoning. **The Lancet**, v. 349, n. 9059, p. 1161-1166, 19 de Abr. de 1997.

SCHOCH, C. L.. **NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools**. Database (Oxford). 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=info&id=118510>>. Acesso em 07 de Maio de 2023.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R.. **Principles of Instrumental Analysis**. 7ed. Boston, MA: Cengage Learning, 2018, pp. 720-730.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R.. **Fundamentals of Analytical Chemistry**. 9ed. Belmont, CA: Brooks/Cole, 2014, pp. 802-814, 887-909.

SODERLUND, D. M.; CLARK, J. M.; SHEETS, L. P.; MULLIN, L. S.; PICCIRILLO, V. J.; SARGENT, D.; STEVENS, J. T.; WEINER, M. L.. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v. 171, n. 1, p. 3-59, 2002.

SODERLUND, D. M.. Chapter Three – Neurotoxicology of pyrethroid insecticides. **Advances in Neurotoxicology**, v. 4, p. 113-165, 2019.

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.. Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretroides em água e análise por CG. **Quím. Nova**, v. 30, n. 3, pp. 535-540, 19 de Jan. de 2007.

ZHU, P.; WAN, H.; LV, F.; YAO, J.; LONG, C.; HUANG, W.; WU, Y.. 气相色谱-负化学源-质谱法测定乌龙茶中拟除虫菊酯和有机氯农药多残留 (Determination of pyrethroids and organochlorine pesticides in oolong tea by gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry). **中国食品卫生杂志 (Chinese Journal of Food Hygiene)**, v. 33, n. 4, pp. 415-422, 12 de Jan. 2021.



Emitido em 03/07/2023

RELATÓRIO Nº 7/2023 - DEQUI (11.55.09)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 03/07/2023 14:54)

ILDEFONSO BINATTI

PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO

DEQUI (11.55.09)

Matrícula: ###103#0

Visualize o documento original em <https://sig.cefetmg.br/documentos/> informando seu número: 7, ano: 2023, tipo: **RELATÓRIO**, data de emissão: **03/07/2023** e o código de verificação: **a232b0b139**