

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA PARA A SUSTENTABILIDADE
DEPARTAMENTO DE FÍSICA, QUÍMICA E MATEMÁTICA

Letícia Maria de Oliveira

**Otimização de condições cromatográficas para quantificação de teor de ativo de Acefato
por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (FID)**

Sorocaba

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA PARA A SUSTENTABILIDADE
DEPARTAMENTO DE FÍSICA, QUÍMICA E MATEMÁTICA

Letícia Maria de Oliveira

**OTIMIZAÇÃO DE CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS PARA
QUANTIFICAÇÃO DE TEOR ATIVO DE ACEFATO POR
CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR POR IONIZAÇÃO
EM CHAMA (FID)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial para a obtenção do
título de Licenciada em Química pela
Universidade Federal de São Carlos –
UFSCar.

Orientação: Prof^a. Dr^a Luciana Camargo de
Oliveira.

Sorocaba

2025



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA - CCQL-So/CCTS

Rod. João Leme dos Santos km 110 - SP-264, s/n - Bairro Itinga, Sorocaba/SP, CEP 18052-780

Telefone: (15) 3229-8828 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-FA nº 3/2025/CCQL-So/CCTS

Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso

Folha Aprovação (GDP-TCC-FA)

FOLHA DE APROVAÇÃO

LETÍCIA MARIA DE OLIVEIRA

OTIMIZAÇÃO DE CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE TEOR DE ATIVO DE ACEFATO POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR POR IONIZAÇÃO EM CHAMA (FID)

Trabalho de Conclusão de Curso

Universidade Federal de São Carlos – Campus Sorocaba

Sorocaba, 12 de fevereiro de 2025

ASSINATURAS E CIÊNCIAS

Cargo/Função	Nome Completo
Orientadora	Profa. Dra. Luciana Camargo de Oliveira
Membro da Banca 1	Prof. Dr. Alexandre Donizeti Martins Cavagis
Membro da Banca 2	Prof. Dr. Giovanni Pimenta Mambrini



Documento assinado eletronicamente por **Giovanni Pimenta Mambrini, Docente**, em 12/02/2025, às 17:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Camargo de Oliveira, Docente**, em 12/02/2025, às 17:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Donizeti Martins Cavagis, Docente**, em 12/02/2025, às 17:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **1740388** e o código CRC **03DDC20D**.



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

COORDENAÇÃO DO CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA - CCQL-So/CCTS

Rod. João Leme dos Santos km 110 - SP-264, s/n - Bairro Itinga, Sorocaba/SP, CEP 18052-780

Telefone: (15) 3229-8828 - <http://www.ufscar.br>

DP-TCC-ADP nº 3/2025/CCQL-So/CCTS

Graduação: Defesa Pública de Trabalho de Conclusão de Curso

Ata da Defesa Pública (GDP-TCC-ADP)

Aos doze dias do mês de fevereiro de 2025, por meio de videoconferência, realizou-se a Defesa Pública do Trabalho de Conclusão de Curso do (a) estudante **Letícia Maria de Oliveira** do Curso de Licenciatura em Química - QL-So da Universidade Federal de São Carlos – *Campus* Sorocaba, devidamente matriculado na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, perante a Banca Examinadora, composta pelos Professores Luciana Camargo de Oliveira, Alexandre Donizeti Martins Cavagis e Giovanni Pimenta Mambrini segundo o estabelecido nas Normas para apresentação de Trabalho de Conclusão do Curso.

Após a apresentação e arguições, a Banca deliberou, segundo os critérios estabelecidos nas normas supracitadas:

Nome do Docente	Função	Nota
Profa. Dra. Luciana Camargo de Oliveira	Orientadora	10,0
Prof. Dr. Alexandre Donizeti Martins Cavagis	Membro da Banca 1	10,0
Prof. Dr. Giovanni Pimenta Mambrini	Membro da Banca 2	10,0

Com isso, o Trabalho foi considerado APROVADO , com nota final 10,0 .

Sorocaba, 12 de fevereiro de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Giovanni Pimenta Mambrini, Docente**, em 12/02/2025, às 17:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Luciana Camargo de Oliveira, Docente**, em 12/02/2025, às 17:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Donizeti Martins Cavagis, Docente**, em 12/02/2025, às 17:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ufscar.br/autenticacao>, informando o código verificador **1740397** e o código CRC **0C1A351D**.

À minha querida madrinha Vera Lúcia
(*in memoriam*). Seu amor e luz seguem comigo,
guiando meus passos.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente aos meus pais, Madalena e Valdemar, por estarem sempre comigo e me apoiarem em todas as minhas decisões. Por todos os esforços, possíveis e impossíveis, para chegar onde estou. Agradeço também ao meu irmão, Tiago, minha inspiração constante. Vocês me fortalecem todos os dias.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Luciana Camargo de Oliveira, que despertou em mim um grande encantamento e apreço pela química analítica. Agradeço também pela orientação e elaboração do meu trabalho de conclusão de curso.

Às minhas irmãs de coração, Giovanna Adelle e Izabel Galvão, por tantos anos de amizade e por sempre vibrarmos juntas pelas conquistas umas das outras. Obrigada por todos os dias que me ouviram desabafar e estarem ao meu lado em dias difíceis.

Às minhas veteranas, Beatriz Pedroso e Isadora Tonscheis, por tornarem os dias difíceis na UFSCar em dias mais leves, e por apresentarem, desde o meu primeiro dia de ingresso, o quão maravilhoso seria essa jornada.

Aos meus amigos de Salto de Pirapora, Domingos, Caio, Eliel, Josmar, Vitória, Thayse, Leonardo, Diego, Bello e Emily, pessoas que foram essenciais para o meu desenvolvimento profissional. Obrigada por todo suporte, paciência, profissionalismo e companheirismo. Aprendi muito com vocês.

À todos os meus professores da graduação, que durante todos esses anos trouxeram ensinamentos imensuráveis e de grande importância, tanto para o meu profissional quanto para o pessoal. Em especial, aos meus professores, Prof. Dr. Alexandre Donizeti Cavagis, que me trouxe o deslumbre da bioquímica, e Prof. Dr. Giovanni Pimenta Mambrini, que sempre esteve em prontidão para tirar minhas dúvidas.

À UFSCar que, apesar da difícil caminhada, sempre estará em meu coração.

RESUMO

A utilização de pesticidas na agricultura tornou-se ainda mais recorrente com os avanços tecnológicos, havendo uma busca por um trabalho mais rápido e que visa a mitigação de perdas nas plantações, com o ataque de pragas. Entretanto, seu manejo inadequado e excessivo oferece aos seres humanos perigos relacionados à exposição ao pesticida. Neste contexto, cada vez mais procura-se por técnicas de quantificação dos pesticidas que visem uma melhor aplicabilidade e sensibilidade nos resultados. Assim, este trabalho objetivou otimizar parâmetros para a determinação de acefato por cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (FID), com uma alternativa de menor custo quando comparado às técnicas acopladas à espectrometria de massa. Para otimização dos parâmetros cromatográficos, as amostras de acefato foram preparadas em concentrações de 100% de ativo, 4 e 10 g L⁻¹, de acordo com RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 e ABNT 14029:2016, com solventes de acetona e isopropanol. Ajustes de temperaturas de coluna, injeção e detector, fluxos de ar e hidrogênio, volumes de injeção, concentração de amostras e coluna cromatográfica foram adaptados conforme necessidade de melhoria nas resoluções, na busca da acentuação do pico cromatográfico. Como resultado, a temperatura de forno fixada em 195 °C trouxe melhor tempo de retenção, sem interferência de picos fantasmas. A Temperatura de injetor em 180 °C tornou-se ideal, uma vez que temperaturas de 270 °C possivelmente degradariam a amostra. Temperatura de detector com 250 °C e volumes de injeção de 1 µL trouxeram estreitamento do pico, quando comparado a temperaturas mais baixas. Concentrações maiores de amostra aumentaram a altura do pico sendo, que a melhor concentração avaliada foi de 10 g L⁻¹. Mudanças sutis de fluxo de ar e hidrogênio não trouxeram grandes mudanças, e a utilização da coluna HP-5 trouxe a ótima resolução dos resultados, com número teórico de placas de 1.708,45, valor que apresenta ótima eficácia da coluna, além da obtenção do sinal analítico com boa resolução (pico simétrico). A realização da curva de calibração trouxe um coeficiente de correlação linear igual a 0,99785, e limite de quantificação (LQ) e determinação (LD) iguais a 0,0800 e 0,0300 mg kg⁻¹, respectivamente, sendo que o LQ atendeu às condições de quantificações do acefato em culturas como algodão, alho, cebola, cenoura, citros e melão, conforme o limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Palavras-chave: Acefato, Espectrometria de Massa, RDC, Pico Cromatográfico, LMR.

ABSTRACT

The use of pesticides in agriculture has become even more frequent with technological advances, with the search for faster work aimed at mitigating losses in plantations due to pest attacks. However, inadequate and excessive management poses dangers to humans related to exposure to pesticides. In this context, there is an increasing demand for pesticide quantification techniques that aim at better applicability and sensitivity in the results. Thus, this work aimed to optimize parameters for the determination of acephate by gas chromatography coupled to the flame ionization detector (FID), with a lower cost alternative when compared to techniques coupled to mass spectrometry. To optimize the chromatographic parameters, the acephate samples were prepared at concentrations of 100% active, 4 and 10 g L⁻¹, according to RDC No. 166, dated July 24, 2017 and ABNT 14029:2016, with acetone and isopropanol solvents. Adjustments of column, injection and detector temperatures, air and hydrogen flows, injection volumes, sample concentration and chromatographic column were adapted according to the need to improve resolutions, in order to accentuate the chromatographic peak. As a result, the oven temperature set at 195 °C provided better retention time, without interference from background noise. The injector temperature at 180 °C became ideal, since temperatures of 270 °C would possibly degrade the sample. Detector temperature at 250 °C and injection volumes of 1 µL brought a narrowing of the peak, when compared to lower temperatures. Higher sample concentrations increased the peak height, and the best concentration evaluated was 10 g L⁻¹. Subtle changes in air and hydrogen flow did not bring major changes, and the use of the HP-5 column brought excellent resolution of the results, with a theoretical number of plates of 1,708.45, a value that shows excellent column efficiency, in addition to obtaining the analytical signal with good resolution (symmetrical peak). The realization of the calibration curve yielded a linear correlation coefficient R equal to 0.99785, and quantification limit (QL) and determination (DL) equal to 0.0800 and 0.0300 mg kg⁻¹, respectively, and the QL met the quantification conditions of acephate in crops such as cotton, garlic, onion, carrot, citrus and melon, according to the maximum residue limit (MRL) established by the National Health Surveillance Agency (ANVISA).

Keywords: Acephate, Mass Spectrometry, RDC, Chromatographic Peak, LMR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da Estrutura Química do Acefato.....	18
Figura 2 - O processo de síntese do acefato, que ocorre em três etapas, envolvendo reações químicas que levam à formação do composto final.....	19
Figura 3 - Relação de equipamentos e técnicas utilizadas para análise de acefato em artigos publicados na base de dados <i>Web of Science</i> e <i>Scopus</i>	20
Figura 4 - Mapa bibliográfico de 18 artigos fornecidos pelo banco de dados Web of Science, palavras-chaves como “ <i>Acephate</i> ”, “ <i>Extraction</i> ” e “ <i>Liquid-Chromatography</i> ” destacam-se em círculos maiores	24
Figura 5 - Diagrama de blocos para a cromatografia gasosa. O gás de arraste é responsável por “viajar” a amostra por todo o sistema até chegar ao detector, responsável pela emissão de sinais analíticos, vistos por meio de cromatogramas	25
Figura 6 - Cromatograma somente de isopropanol, empregado como solvente nas análises de otimização de parâmetros para análise de acefato.....	38
Figura 7 - À medida que o gás de arraste, inerte, percorre a coluna cromatográfica com os analitos, a afinidade de cada composto define quanto tempo levará para eluir. Compostos que possuem maior afinidade apresentam-se mais tardiamente, enquanto compostos com pouca afinidade apresentam-se mais cedo.....	39
Figura 8 - Sobreposição de dois picos cromatográficos	40
Figura 9 - Cromatograma com identificação de pico de acefato, com temperatura de forno a 195 °C e injetor 160 °C	41
Figura 10 - Cromatograma de possível degradação de analito de interesse devido a altas temperaturas do sistema de injeção.....	42
Figura 11 - Cromatogramas para otimização de pico cromatográfico de acefato, com parâmetros da Tabela 3, em que a) temperatura de FID igual a 250 °C, b) temperatura de FID igual a 230 °C	43
Figura 12 - Cromatograma para o acefato, com utilização de PI. Parâmetros cromatográficos: temperatura de coluna 185 °C; injetor 160°C; FID 250 °C; vazão de gás de arraste 2 mL min ⁻¹ , fluxo N ₂ <i>Make Up</i> 25 mL min ⁻¹ , fluxo de gás H ₂ 30 mL min ⁻¹ ; fluxo de ar 300 mL min ⁻¹ , volume de injeção 1 uL, split Ratio 75:1; split Flow 150 e Coluna HP-5.....	46
Figura 13 - Curva de calibração para o acefato, com emprego de PI	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relações de técnicas de análise de determinação/quantificação de acefato, contemplando diferentes tipos de amostra publicados na literatura no período de 2014 a 2024.....	20
Tabela 2 - Relação de limite de resíduo (LMR) para cada uma das culturas em que o acefato é aplicável	32
Tabela 3 - Parâmetros cromatográficos utilizados para análise de teor de ativo de acefato em Cromatógrafo Gasoso 7890A	35
Tabela 4 - Ajustes de temperaturas realizadas para a primeira etapa de análises.....	36
Tabela 5 - Ajustes de temperaturas realizados para a segunda etapa de análises. As demais especificações estão listadas na Tabela 3	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
a.C	Antes de Cristo
AChE	Acetilcolinesterase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DTC	Detector Termiônico de Chama
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
ECD	<i>Electron capture detector</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>
FPD	<i>Flame Photometric Detector</i>
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
GC	<i>Gas Chromatography</i>
GHS	<i>Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals</i>
HEPT	<i>Height Equivalent to a Theoretical Plate</i>
HPLC-UV	<i>High Performance Liquid Chromatography-Ultraviolet</i>
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LC	<i>Liquid Chromatography</i>
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
LMR	Limite Máximo de Resíduo
MS	<i>Mass Spectrometry</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OP	<i>Organophosphate</i>
OPDIN	<i>Organophosphate Induced Delayed Neuropathy</i>
PARA	Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PE	Ponto de Ebulição
PI	Padrão Interno
PL	Projeto de Lei
PNCR	Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes

Psi	<i>Pound Force per Square Inch</i>
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe</i>
RDC	Resolução Diretoria Colegiada
RSL	Revisão Sistemática da Literatura
RT	Tempo de Retenção
SERS	<i>Surface-Enhanced Raman Spectroscopy</i>
SN	Sistema Nervoso
SQR	Substância Química de Referência
TEOS	Tetralquilortossilicato
TQ	<i>Triple Quadrupole</i>
UA-MSPD	<i>Ultrasound-Assisted Matrix Solid-Phase Dispersion</i>
UFLC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i>
UFLC	<i>Ultra-fast liquid chromatography</i>
UV-VIS	<i>Ultraviolet–Visible Spectroscopy</i>
WCOT	<i>Wall Coated Open Tubular</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 PESTICIDAS PARA CONTROLE DE INSETOS.....	16
2.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO ACEFATO.....	18
2.3 DETERMINAÇÃO DE ACEFATO POR DIFERENTES TÉCNICAS COM ÊNFASE PARA AS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS	20
2.4 O ESTUDO DA CROMATOGRAFIA GASOSA.....	24
2.4.1 Sistema de Gás de Arraste	26
2.4.2 Mecanismo de Injeção de Amostra	26
2.4.3 Sistema de Coluna e Forno	26
2.4.4 Sistema de Detecção.....	28
2.5 A CROMATOGRAFIA PARA IDENTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS	29
2.6 EFEITOS DO ACEFATO À SAÚDE HUMANA.....	30
2.7 REGULAMENTAÇÃO	31
3. METODOLOGIA	33
3.1 MATERIAIS	33
3.2 PREPARO DE SOLUÇÕES	33
3.2.1 Preparo de Amostras.....	33
3.2.2 Preparo de Curva Analítica.....	34
3.2.3 Preparo do Padrão Interno.....	34
3.2.4 Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD).....	35
3.3 OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS PARA QUANTIFICAÇÃO DE ACEFATO	35
3.4 AJUSTES DE PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS	36
3.5 QUANTIFICAÇÃO DE ACEFATO POR CROMATOGRAFIA GASOSA.....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
4.1 PARAMETRIZAÇÃO DE PICO CROMATOGRÁFICO NA IDENTIFICAÇÃO DO ACEFATO.....	37
4.1.1 Solvente e Identificação de Pico de Solvente	38
4.1.2 Identificação de Picos Fantasma.....	39
4.1.3 Mudança de Tempo de Retenção em Efeito à Temperatura de Coluna	40

4.1.4 Possível Degradação de Analito em Decorrência à Altas Temperatura de Injeção	41
4.1.5 Efeitos Ajuste de Fluxo de Gases Combustíveis e Temperatura do Detector (FID) na Resolução do Pico Cromatográfico	43
4.1.6 Melhor Resolução de Pico em Volumes de Injeções Menores e Amostras Concentradas	43
4.1.7 Eficácia de Coluna HP-5	44
4.1.8 Padrão Interno para Quantificação de Acefato e Curva Analítica	45
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	48
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1. INTRODUÇÃO

As práticas e os avanços do setor agrícola possuem uma extensa história em diversas partes do mundo. Começando pela Crescente Fértil da Mesopotâmia, que remonta a cerca de 10.000 anos antes de Cristo (a.C.), e que corresponde atualmente à maior parte do território do Iraque, Turquia, Síria e Jordânia. É importante notar que, à medida que a população se organizava-se em comunidades agrícolas estabelecidas, grandes quantidades de trigo, cevada, ervilha, lentilha, grão-de-bico e linho passaram a ser cultivadas (Tudi *et al.*, 2021). Há aproximadamente 4.500 anos a.C., foi registrado o primeiro uso de pesticidas pelos sumérios, que empregavam compostos à base de enxofre para o controle de insetos e ácaros. Após a Segunda Guerra Mundial, a introdução da química orgânica na ciência dos defensivos agrícolas possibilitou avanços significativos, promovendo o desenvolvimento de compostos orgânicos derivados de subprodutos industriais e, posteriormente, de compostos orgânicos sintéticos de menor risco à saúde humana (Umetsu; Shirai, 2020).

Os pesticidas permitiram melhorias econômicas aos produtores agrícolas e consumidores que, entre os benefícios, incluem o melhor rendimento e qualidade de colheitas e gado, maximização da vida útil do produto, redução de mão de obra agrícola, segurança alimentar e qualidade de vida (Brankov *et al.*, 2021).

O uso global de pesticidas aumentou ao longo do século XXI, em parte devido à proliferação de defensivos genéricos provenientes da China e, em menor escala, da Índia para outras regiões do Sul Global, especialmente para o Brasil. As indústrias globais e suas regulamentações continuam sendo dominadas pelas empresas da Croplife International (BASF, Bayer CropScience, Corteva, Sumitomo e Syngenta), que controlam três quartos dos maiores mercados mundiais de pesticidas nocivos. Essas empresas fortaleceram ainda mais o *lobby* do agronegócio ao criarem a Croplife Brasil, que exerceu influência sobre o sistema regulatório brasileiro. (Ollinaho *et al.*, 2022).

De acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), os pesticidas podem ser definidos como qualquer substância utilizada para controlar, prevenir ou dizimar pragas animais, microbiológicas ou vegetais (McNaught; Wilkinson, 1997).

No Brasil, foi aprovado o Projeto de Lei nº 1459, de 2022, chamado “PL dos Agrotóxicos”, ou “PL dos “Defensivos”, que apresenta um grande símbolo legal para a produção, registro, comércio, transporte, inspeção, fiscalização e uso dos pesticidas (Anacleto,

2023). A Lei nº 14.785/23, vigente em de 27 de dezembro de 2023, traz consigo diretrizes para a pesquisa, experimentação, armazenamento, a inspeção e a fiscalização de pesticidas, de produtos de manejo ambiental e de seus produtos técnicos (BRASIL, 2024).

Em 2019, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a reclassificação toxicológica dos pesticidas, tornando mais claros os critérios de avaliação e classificação de agrotóxicos no país. A nova classificação passou a adotar os parâmetros de toxicidade com base nos padrões do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (*Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* - GHS). Nela, os agrotóxicos foram categorizados de I a IV, sendo: I) extremamente tóxico, II) altamente tóxico, III) moderadamente tóxico, IV) pouco tóxico e V) improvável de causar dano (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019).

Classificado como pesticida de classe IV, ou seja, “moderadamente perigoso” (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019), o acefato, e seu derivado, o metamidofós, fazem parte da família dos organofosforados, que são conhecidos por provocar a disfunção da condução nervosa, ao impedir a atividade da acetilcolinesterase em insetos (Brovini *et al.*, 2024b). No Brasil, seu uso é limitado a plantações específicas. (Morato *et al.*, 2021). Pela ANVISA, o acefato têm aplicação permitida em cultivos de amendoim, algodão, batata, brócolis, citros, couve, couve-flor, feijão, melão, repolho, soja e tomate para fins industriais, perante aplicação por meio de equipamentos mecanizado (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013).

Alguns países estabeleceram concentrações máximas para o acefato e metamidofós em água potável, como $7 \mu\text{g L}^{-1}$ para o Brasil, $8 \mu\text{g L}^{-1}$ na Austrália, e $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ na União Europeia. Assim, o monitoramento ambiental, principalmente em corpos d’água utilizados para abastecimento público, é essencial para a avaliação da exposição humana e avaliação de riscos (Brovini *et al.* 2024a).

Apenas 1% do ingrediente ativo do pesticida organofosforado atinge a praga-alvo, uma vez que fatores como pulverização, evaporação e condições ambientais podem interferir em sua aplicação. Como consequência, os produtores aumentam a dose e a frequência de seu uso, resultando em poluição ambiental, além de impactos negativos aos ecossistemas e a saúde humana (Yan *et al.*, 2024). O uso em grande escala não apenas implica elevados custos, mas também gera efeitos controversos aos trabalhadores de áreas agrícolas e, além disso, tem

favorecido o desenvolvimento de resistência por parte de espécies contra os organofosforados (Demir *et al.*, 2022).

Métodos tradicionais para quantificação de resíduos orgânicos de pesticidas, com alta reprodutibilidade, abrangem a Cromatografia Gasosa (GC), Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (GC-MS) e Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa (LC-MS). Contudo, estas metodologias incluem o complexo pré-tratamento de amostras, consumo abundante de reagentes, medição demorada e procedimentos complicados. Diante deste cenário, torna-se cientificamente relevante o desenvolvimento de um método de detecção mais simples e rápido (Weng *et al.* 2020). Técnicas de cromatografia gasosa acopladas à espectrometria de massas possuem restrições, como grandes quantidades de solventes específicos com alta pureza, além de demandarem muito tempo e recursos, que resultam em altos custos de análises (Lee *et al.*, 2020). O GC-MS possui vantagem sob o GC-FID, em termos de seletividade e sensibilidade; mas, por outro lado, sua aquisição é mais cara, e o equipamento, mais exigente (Hložeka *et al.*, 2015). Em complemento, solventes orgânicos, como o metanol e a acetonitrila, no qual são utilizados em técnicas de cromatografia líquida, apresentam perigo significativo à saúde humana e demandam alto custo financeiro em seus descartes (Shivashanmugam; Arun, 2015).

Neste contexto, este presente trabalho tem como objetivo otimizar os principais parâmetros cromatográficos para quantificação do acefato, utilizando da cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (GC-FID) como alternativa de menor custo, quando comparado a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PESTICIDAS PARA CONTROLE DE INSETOS

O manejo de pragas é fundamental para garantir a segurança alimentar e a sustentabilidade do setor agrícola. No entanto, esse controle frequentemente requer o uso de pesticidas, os quais estão associados à poluição ambiental, à redução da biodiversidade e a impactos na saúde pública. Diante das políticas agrícolas vigentes, torna-se essencial a redução do uso desses compostos, especialmente considerando que os consumidores estão cada vez mais exigentes quanto à minimização dos riscos à saúde e ao meio ambiente, o que tem impulsionado iniciativas em nível industrial (Finger, 2024).

Os pesticidas são compostos biologicamente ativos amplamente utilizados na horticultura, na agricultura e, sobretudo, na saúde pública para o controle de pragas. Eles apresentam uma ampla variedade de modos de ação, como; neurotóxicas, inibição de fotossíntese ou inibição de esporos fúngicos, permitindo o controle eficaz de diferentes tipos de pragas. A eficácia desses compostos está diretamente relacionada à sua composição química (Voutchkova *et al.*, 2021), sendo que a maioria é considerada tóxica para os seres humanos e prejudicial ao meio ambiente (Alizadech *et al.*, 2021). Além disso, a exposição a pesticidas tem sido associada a diversas doenças relacionadas à idade, como câncer de tireoide, pele, rim, laringe, pulmão, cólon e próstata (Panis *et al.*, 2024).

Os pesticidas podem ser classificados quanto ao seu organismo-alvo; entre eles: inseticidas (insetos), fungicidas (fungos), herbicidas (plantas daninhas), desfolhantes (queda prematura de folhas) e acaricidas (ácaros). Quanto à composição do pesticida, a divisão envolve compostos orgânicos e inorgânicos, e pesticidas de origem vegetal, bacteriana e fúngica (Sanches *et al.*, 2003).

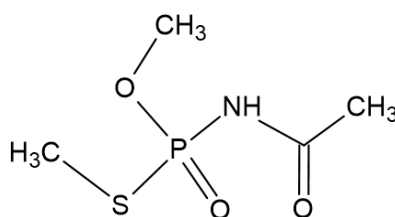
Entre as principais classes de pesticidas orgânicos, destacam-se os organoclorados (OC), que possuem átomos de cloro, e organofosforados (OP), que possuem átomos de fósforo. Os organoclorados são lipossolúveis e resistentes à hidrólise, causando danos ao meio ambiente e às pessoas em consequência a sua grande instabilidade. Em contrapartida, os organofosforados possuem fácil degradação e possuem baixo nível de toxicidade para a saúde humana (Sanches *et al.*, 2003).

A agricultura brasileira é reconhecida como a mais diversificada do mundo, abrangendo uma ampla variedade de cultivos e sistemas de produção (Carbonari; Velini, 2021). O Brasil desempenha um papel fundamental na produção de alimentos, além de gerar quantidades significativas de fibras, matérias-primas industriais e serviços ecossistêmicos. No entanto, apenas uma fração dos pesticidas utilizados no país é destinada à produção de alimentos, tanto para consumo interno quanto para exportação. A rigorosa análise desses insumos busca padronizar e fornecer informações sobre a área cultivada e a quantidade de produção de diversas culturas (Carbonari; Velini, 2021). O monitoramento de resíduos de pesticidas em alimentos de origem vegetal é realizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). No entanto, esse controle não abrange análises em alimentos processados, o que pode representar uma lacuna na avaliação da exposição do consumidor a esses compostos (Oliveira *et al.*, 2024).

2.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO ACEFATO

O acefato, também denominado O,S-dimetil acetilfosforamidotioato ($C_4H_{10}NO_3PS$), é um composto orgânico, quiral, existente nas formas *S* e *R*, de massa molecular $183,17 \text{ g mol}^{-1}$ (National Library of Medicine, 2018) e que pertence à classe dos organofosforados (Lewis *et al.*, 2024). Sua molécula apresenta, como principal função orgânica, a fosforoamida (National Library of Medicine, 2018).

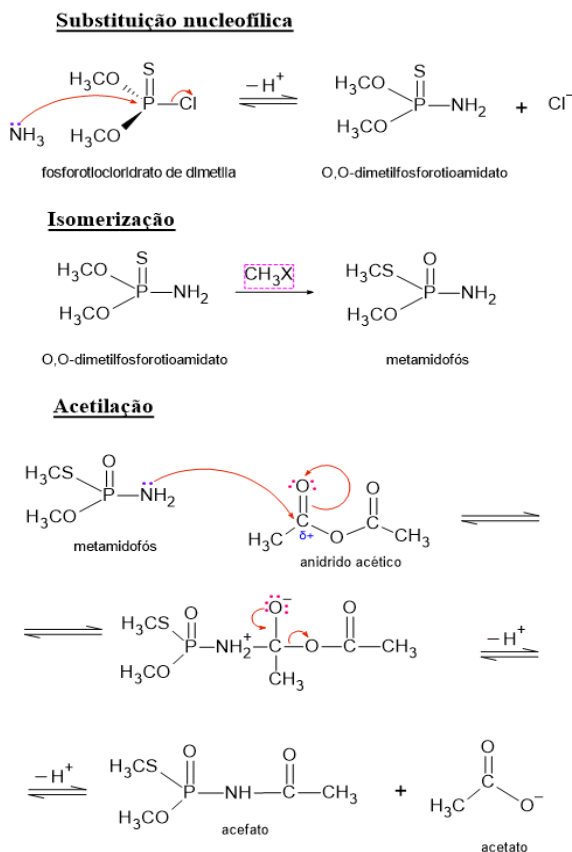
Figura 1 - Representação da Estrutura Química do Acefato.



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

A síntese do acefato ocorre em três etapas: substituição nucleofílica, isomerização e acetilação. Na substituição nucleofílica, a partir da reação de fosforotiocloridrato de dimetila com amônia (Figura 2), a amônia funciona como nucleófilo do fosforotiocloridrato de dimetila, com a saída do cloro como grupo abandonador. A isomerização ocorre na presença de um agente de metilação, ocorrendo isomerização, sendo convertido em O,S-dimetil (metamidofós). Na acetilação, um grupo acetila é acrescentado ao *N*-acetil, utilizando-se anidrido acético, seguido de isomerização (Matolcsy; Nádas, 1988; National Library of Medicine, 2018).

Figura 2 - O processo de síntese do acefato, que ocorre em três etapas, envolvendo reações químicas que levam à formação do composto final.



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Pesquisas iniciais ao redor de compostos orgânicos que contenham fósforo iniciaram-se no começo do século XIX, e estenderam-se até o fim da Segunda Guerra Mundial, abrangendo aproximadamente um século e meio de estudos. Uma das principais investigações acerca destes compostos foi idealizada pelos químicos H. McCombie e B.C Saunders (1946), com ponderações sobre os fluorfosfatados (Matolscy; Nádas, 1988).

Segundo McCombie e Souders (1946), foram desenvolvidos testes e métodos para a síntese de fluorfosfatos, obtendo-se resultados satisfatórios a partir de um processo que envolve a adição de tricloreto de fósforo ao álcool isopropílico, dissolvido em tetracloreto de carbono, sem a necessidade de resfriamento externo. Essas substâncias apresentam um alto grau de toxicidade e podem ser letais quando inaladas. Em concentrações não fatais, podem causar contração das pupilas, um efeito que pode perdurar por vários dias (Souders; McCombie, 1946).

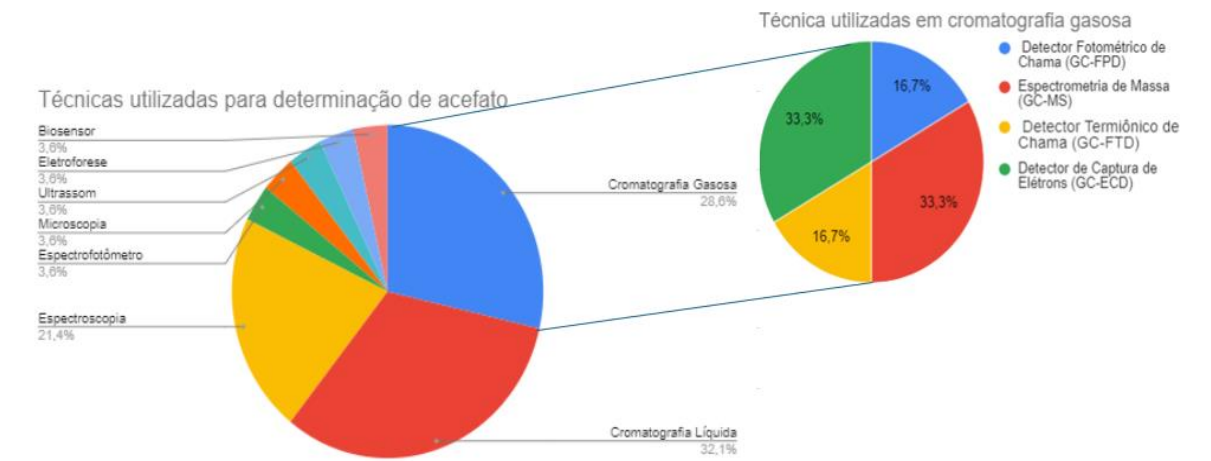
O acefato é um pesticida neurotóxico responsável pela inibição da acetilcolinesterase,

enzima fundamental para a propagação de impulsos nervosos (Mota *et al.*, 2012), resultando na hiperexcitação do sistema nervoso, provocando a paralisia dos músculos.

2.3 DETERMINAÇÃO DE ACEFATO POR DIFERENTES TÉCNICAS COM ÊNFASE PARA AS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

De acordo com os resultados da busca bibliográfica na base de dados *Web of Science* e *Scopus* no período de 2014 a 2024, utilizando as palavras chave “*determination*” “*quantification*” e “*acephate*”, o acefato pode ser quantificado em diferentes tipos de amostras por diferentes técnicas, destacando-se as cromatográficas (Figura 3 e Tabela 1).

Figura 3 - Relação de equipamentos e técnicas utilizadas para análise de acefato em artigos publicados na base de dados *Web of Science* e *Scopus*.



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Tabela 1 - Relações de técnicas de análise na determinação/quantificação de acefato, contemplando diferentes tipos de amostras publicadas na literatura no período de 2014 a 2024.

Técnica de Análise	Tipo de amostra	Referência
Cromatografia Gasosa por Detector de Captura de Elétrons (GC-ECD)	Ervilha Verde	Jan <i>et al.</i> 2023
Biosensor TEOS Sol-Gel	Alimentícios não especificados	Raghu <i>et al.</i> 2014
Espectroscopia Raman (RS)	Arroz	Weng <i>et al.</i> 2020
Biosensor a base de Sílica	Teor de ativo	Pabbi e Mittal 2017

Espectroscopia Ultravioleta Visível (UV-VIS), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Eletrônica de Varr (MEV)	Teor de ativo	Kumar <i>et al.</i> 2018
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	Pesticidas formulados	Patil <i>et al.</i> 2023
Espectroscopia Raman (RS)	Manga	Pham <i>et al.</i> 2022
Espectroscopia Raman (RS)	Arroz	Weng <i>et al.</i> 2023
Eletroforese Capilar (CE)	Sucos de frutas e vegetais	Chen <i>et al.</i> 2021
Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por Ultra Violeta (HPLC-UV), Cromatografia Gasosa por Detector de Captura de Elétrons (GC-ECD)	Frutas	Srivastava <i>et al.</i> 2021
Dispersão em Fase Sólida de Matriz Assistida por Ultrassom (UA-MSPD)	Frutas e vegetais	Santos <i>et al.</i> 2019
O Espalhamento Raman Aprimorado Por Superfície (SERS)	Asa de libélula	Wang <i>et al.</i> 2018
Cromatografia Gasosa por Detector Fotométrico de Chama (GC-FPD)	Caldo de cana e açúcar refinado	Ramasubramanian e Paramasivam 2020
Espectrofotômetro	Solo, água e vegetais	Shah <i>et al.</i> 2015

Cromatografia Líquida de Ultra Rápida acoplado à Espectrometria Massa em Tandem (UFLC-MS/MS)	Leite bovino	Oliveira <i>et al.</i> 2014
Cromatografia Gasosa por Detector Termiônico de Chama (GC-FTD)	Folha de betel	Phodhan <i>et al.</i> 2023
Cromatografia Líquida acoplado à Espectrometria de Massa em Tandem com Triplo Quádruplo (LC-TQ-MS/MS)	Ervas medicinais	Fontana <i>et al.</i> 2024
Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa (LC-MS)	Quiabo	Elgailani e Algamdi 2018
Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplado à Espectrometria Massa em Tandem (UPLC-MS/MS)	Vinho	Dias <i>et al.</i> 2019
Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (GC-MS)	Boldo-do-Chile	Maestroni <i>et al.</i> 2020
Cromatografia Líquida com Espectrometria De Massa Em Tandem (LC-MS/MS)	Pimentão	Morais <i>et al.</i> 2017

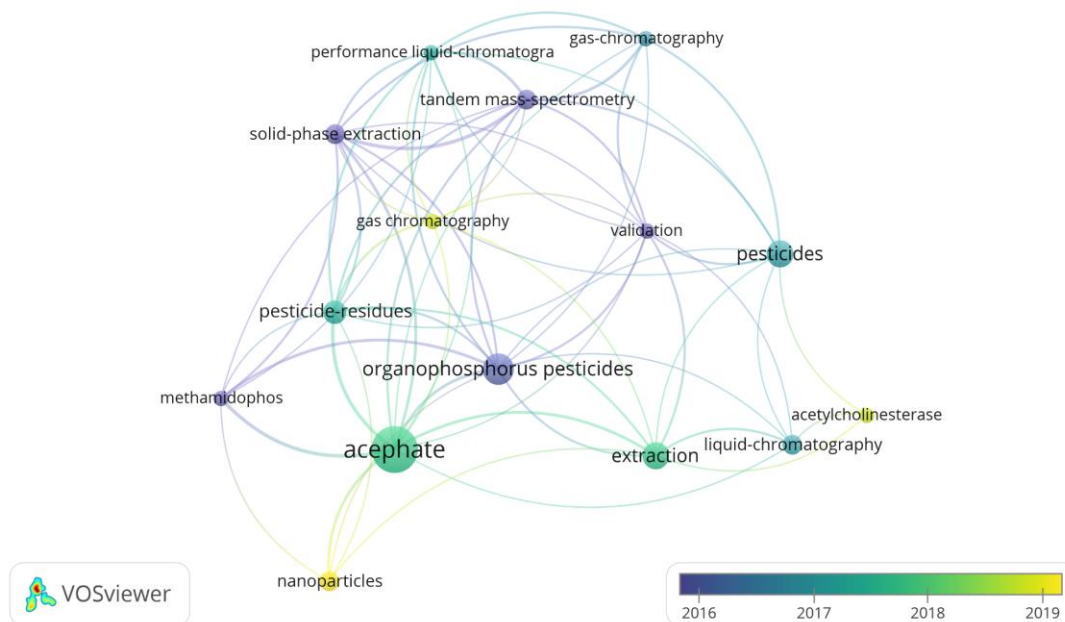
Cromatografia Líquida acoplado à Espectrometria de Massa em Tandem (LC- MS/MS), Cromatógrafo Gasoso acoplado à Espectrometria de Massa (GC-MS)	Amêndoas	Balkan <i>et al.</i> 2023
Cromatografia Líquida Com Espectrometria De Massa Em Tandem (LC-MS/MS)	Água	Brovini <i>et al.</i> , 2024

Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Com o passar dos anos, é notável o aprimoramento das técnicas de quantificação. Assim, pode-se notar que artigos publicados a partir de 2014 (Tabela 1) já utilizavam o acoplamento da espectrometria de massas (MS - do inglês, *Mass Spectrometry*) nos cromatógrafos, uma vez que todos os artigos estudados estão relacionados à identificação de resíduos de organofosforado em amostras. O acoplamento de um cromatógrafo a um espectrômetro de massas combina as vantagens da cromatografia, como a alta eficácia na separação e a seletividade, com os benefícios da espectrometria de massa, permitindo a obtenção de informações estruturais, determinação da massa molar e um acréscimo adicional de seletividade (Júnior *et al.*, 2021). No entanto, o elevado custo dos reagentes de alta pureza e da aquisição do acoplamento, especialmente da espectrometria de massa, estimula a busca por estratégias de otimização de parâmetros em técnicas de menor custo.

Com base no levantamento bibliográfico realizado por meio das bases de dados *Web of Science* e *Scopus*, foi possível elaborar um mapa bibliográfico das palavras-chave dos artigos selecionados para a revisão, utilizando-se do software *VOSviewer*. Os resultados indicaram que a técnica mais recorrente nos estudos analisados é a cromatografia líquida (Figura 4), sendo a maioria dos sistemas acoplada à espectrometria de massa (MS).

Figura 4 - Mapa bibliográfico de 18 artigos fornecidos pelo banco de dados *Web of Science*, palavras-chaves como “*Acephate*”, “*Extraction*” e “*Liquid-Chromatography*” destacam-se em círculos maiores.



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Neste trabalho, procurou-se evidenciar a técnica de cromatografia gasosa com o intuito de ampliar as possibilidades de quantificação, além de vislumbrar a utilização de técnicas alternativas para a quantificação de acefato.

2.4 O ESTUDO DA CROMATOGRAFIA GASOSA

A disseminação da cromatografia como técnica analítica ocorreu em meio a contextos desafiadores. Originalmente, a cromatografia é uma técnica do século XIX, mas foi com a proximidade da revolução eletrônica nos anos 1960 que ela experimentou uma evolução significativa, o que a transformou de maneira notável (Guiochon, 1993).

Em março de 1903, Mikhail Siemionowic Tswiett, professor de botânica da Universidade Imperial de Varsóvia e da Universidade de Tecnologia de Varsóvia, apresentou a ideia e os resultados da pesquisa ordenada sobre a cromatografia líquida em coluna, na separação de corantes, como clorofilas, cloroplastos e carotenóides. Ele utilizou carbonato de cálcio (giz moído) como preenchimento da coluna (leito), e a fase móvel constituiu-se de solventes, como álcool etílico ou benzeno. A técnica responsável pelo processo de separação

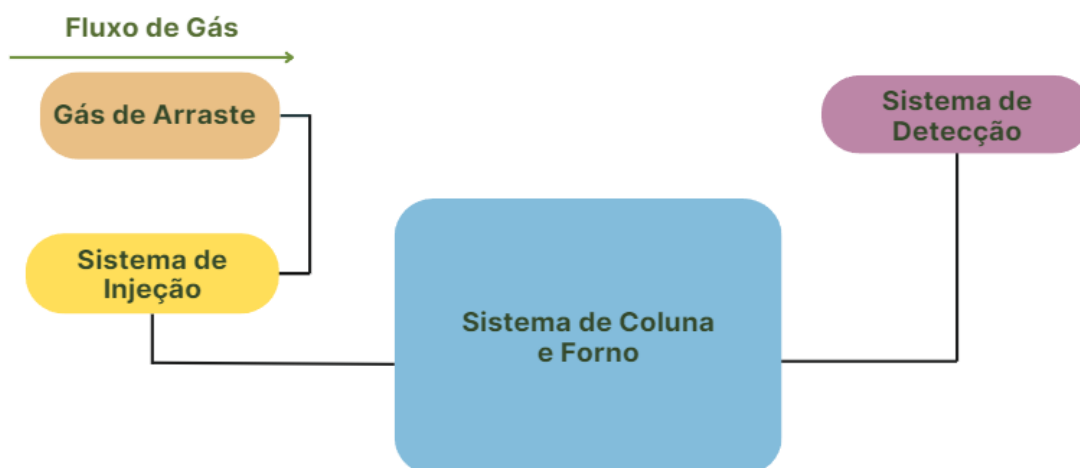
foi de adsorção e separação (Buszewski, 2022). Mais tarde, Martin e Synge apresentaram o conceito de cromatografia gás-líquido (Skoog *et al.*, 2005).

No momento em que uma gota de um líquido que contém algumas substâncias é posta em um papel, o líquido, de forma gradual, começa a se espalhar. As substâncias presentes no papel começam a se espalhar em velocidades distintas e originam marcas de diferentes cores no papel. Na década de 1940, Martin e Synge utilizaram estes e demais fenômenos similares em misturas de gases, para o desenvolvimento de tipos de cromatografia (The Nobel Prize, 2025).

A cromatografia gasosa é uma técnica amplamente utilizada para a separação de misturas gasosas, na qual ocorre a divisão dos componentes de uma amostra vaporizada por meio de uma partição entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida (ou sólida), que está confinada na coluna cromatográfica. Diversos métodos de separação por cromatografia gasosa (GC) podem ser aplicados, como o modo de eluição, no qual a amostra é injetada na coluna e é transportada por meio de um gás de arraste. O cromatograma resultante (ou curva de eluição) consiste em um conjunto de picos, sendo que, idealmente, cada pico corresponde a um único analito presente na amostra (Kolomnikova *et al.*, 2018; Skoog *et al.*, 2005).

A cromatografia gasosa é constituída por quatro principais sistemas: gás de arraste, injeção de amostras, coluna e forno, e detecção.

Figura 5 - Diagrama de blocos para a cromatografia gasosa. O gás de arraste é responsável por “viajar” a amostra por todo o sistema até chegar ao detector, responsável pela emissão de sinais analíticos, vistos por meio de cromatogramas.



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

2.4.1 Sistema de Gás de Arraste

Os gases de arraste precisam atender a diversos requisitos para serem úteis. Primeiramente, ele deve ser inerte, seco, seguro, ultra puro e adequado ao injetor escolhido (McCann, 2020). Gases como nitrogênio, argônio e hélio, fornecidos em cilindros pressurizados, são utilizados como fase móvel no cromatógrafo gasoso, os quais recebem a denominação de gases de arraste. Esses gases, por sua natureza inerte, percorrem a coluna cromatográfica (fase estacionária) sem estabelecer qualquer interação com o analito de interesse. A vazão do gás é habitualmente regulada por meio de dispositivos de controle de pressão e/ou fluxo acoplados ao equipamento, podendo também ser ajustada com o auxílio de um rotâmetro. (Skoog *et al.*, 2005).

2.4.2 Mecanismo de Injeção de Amostra

As amostras devem apresentar volume adequado e formar uma “zona estreita de vapor”, evitando injeções lentas ou excessivamente volumosas, que podem comprometer o espalhamento das bandas cromatográficas e reduzir a resolução. Para garantir a precisão na injeção de amostras líquidas, torna-se imprescindível a calibração periódica das seringas utilizadas. Essas amostras são introduzidas na entrada da coluna cromatográfica por meio de septos de silicone ou diafragmas, e de uma abertura de admissão previamente aquecida, localizada na extremidade superior da coluna. Essa abertura é mantida a uma temperatura de aproximadamente 50 °C superior ao ponto de ebulição do componente menos volátil da amostra, assegurando a vaporização total e eficiente. No caso de amostras sólidas, estas são previamente dissolvidas para a obtenção de uma solução, que deve ser acondicionada em vials hermeticamente fechados com tampas de paredes finas. Esse tipo de vedação permite a introdução precisa e segura da solução na entrada da coluna cromatográfica (Skoog *et al.*, 2005).

2.4.3 Sistema de Coluna e Forno

Os cromatógrafos gasosos empregam dois modelos principais de colunas: as colunas recheadas e as colunas capilares (também denominadas tubulares abertas). As colunas recheadas têm sido progressivamente substituídas pelas colunas capilares, devido à superioridade destas em termos de rapidez e eficiência operacional (Skoog *et al.*, 2005).

As colunas cromatográficas capilares são constituídas por materiais como aço inoxidável, vidro, sílica ou Teflon, com comprimentos que variam entre 2 a 50 metros. Essas colunas são geralmente enroladas em carretéis que possuem diâmetros de 10 a 30 centímetros e são posicionadas em um forno termostatizado, uma vez que a temperatura da coluna constitui uma variável de significativa relevância para a obtenção de resultados analíticos precisos (Skoog *et al.*, 2005). As fases estacionárias podem ser líquidas ou sólidas.

Fases estacionárias líquidas apresentam três fundamentais interações: força de dispersão, momento dipolo e ligação de hidrogênio (Nascimento *et al.*, 2018). As propriedades dos líquidos iônicos de relevância são ponto de fusão, pressão de vapor, estabilidade térmica, tensão superficial, viscosidade, solubilidade em solventes orgânicos, e reatividade com diversos grupos funcionais (Poole; Lenca, 2014).

Para assegurar sua integridade e evitar possíveis danos, é imprescindível o uso de gases de arraste com pureza superior a 99,99%. Além disso, cada coluna capilar possui seletividade específica, podendo ser polar, não polar ou intermediária, e apresenta uma temperatura máxima recomendada, cujo excesso pode comprometer sua performance ou causar danos irreversíveis. A temperatura ideal da coluna deve ser mantida ligeiramente acima do ponto de ebulição do componente menos volátil da amostra, de modo a assegurar tempos de retenção adequados e desempenho eficiente da separação cromatográfica (Grob; Barry, 2004).

Após a injeção, a amostra é vaporizada a alta temperatura e conduzida pela fase móvel por meio do fluxo na coluna cromatográfica. A vaporização é definida como a mudança de uma substância da fase líquida para fase gasosa, sem alteração de sua composição (Britannica, 2025). A velocidade do fluxo é regulada pela pressão aplicada na porta do injetor. Durante seu percurso pela coluna, na amostra, ocorre uma série de interações, nas quais há a adsorção pela fase estacionária, seguida da subsequente dessorção de volta ao fluxo da fase móvel. Cada uma dessas interações é denominada placa teórica (Agilent Technologies, 2016).

A teoria de placas teóricas presume que a coluna é repartida em várias zonas. A altura e espessura da zona (HEPT - *Height Equivalent to a Theoretical Plate*) é determinável, presumindo que há o perfeito equilíbrio entre as fases líquidas e gasosas no interior de cada placa. O desempenho resultante decorrente da coluna de placas é mensurado com fundamento na suposição de que o coeficiente de distribuição não é acometido pela existência de outros

solutos, e que a isotérmica de ordenação é linear. É desprezível a difusão do soluto na fase móvel de uma placa para outra (Grob; Barry, 2004).

Equação 1 - Derivação da quantidade total q_n de soluto na placa n e o volume de gás de arraste que passa pela coluna.

$$q_n = \frac{1}{(2\pi N)^{1/2}} \exp \left\{ \frac{-(V/v_R - N)^2}{2N} \right\}$$

Em que v_R é igual ao volume de retenção por placa e V como volume total de retenção.

Com base nas propriedades geométricas da curva, tem-se a obtenção da equação 2, que mensura a eficiência de uma coluna de um cromatógrafo gasoso.

Equação 2 - Eficiência de coluna em cromatógrafo gasoso.

$$N = 16 \left(\frac{V_R}{w_b} \right)^2$$

Em que V_R é igual ao tempo de retenção do pico, em minutos ou segundos, e w_b equivale à largura total da base do pico.

2.4.4 Sistema de Detecção

Há diversos tipos de detectores seletivos utilizados em cromatógrafos gasosos. O Detector de ionização em Chama (*Flame Ionization Detector* - FID) é o mais recorrente acoplado ao equipamento, no geral. A detecção abrange a vigilância da corrente produzida pela exaço de portadores de carga, desprendidos à medida que há a produção de íons e elétrons quando compostos orgânicos são pirolisados à temperatura da chama de ar/hidrogênio. A corrente consequente resultante, em voltagem do processo de pirólise, é medida em um picoamperímetro, amplificada e captada pelo registrador (Collins *et al.*, 1997; Skoog *et al.*, 2005). Visto que o FID replica o número de átomos de carbono que atravessam seu detector, ele é considerado um dispositivo sensível à massa (Skoog *et al.*, 2005).

A pirólise é definida como a degradação de um composto por meio de energia térmica, geralmente na ausência de oxigênio. A decomposição da amostra resulta na formação de pequenas moléculas, que posteriormente são associadas à composição do material original. A quebra inicial de moléculas mais complexas, por meio da clivagem homolítica de ligações

químicas, proporciona condições favoráveis e respostas reprodutíveis ao longo do processo (Silvério; Barbosa, 2008).

A utilização do FID torna-se ainda mais eficiente em análises de compostos orgânicos, englobando o estudo de amostras contaminadas com água, óxidos de enxofre ou hidrogênio, uma vez que o detector é insensível a gases que não são combustíveis (Skoog *et al.*, 2005).

2.4.4.1 Registrador

O registrador é responsável por transcrever graficamente o sinal gerado pelo FID. Na cromatografia gasosa, o potenciométrico opera em escalas de 1 mV, com um tempo de retorno em segundos. O cromatograma é formado a partir de sinais que podem ser processados em integradores ou *softwares*, quando acoplados ao detector, que registram também os tempos de retenção e áreas de cada um dos picos presentes. Para *softwares* programados apropriadamente, é possível a obtenção de outros dados calculados a partir do cromatograma, como área do pico (Collins *et al.*, 1997).

A área do pico pode ser calculada traçando-se tangentes nos dois lados do pico; o encontro entre estas duas tangentes, com a linha de base, proporciona um triângulo, dita área pode ser calculada pela equação 3.

Equação 3 - Cálculo de área de pico em cromatograma.

$$A = \frac{h \times w_b}{2}$$

Em que A representa a área do pico, h a altura do pico e w_b a largura do pico na linha de base.

2.5 A CROMATOGRAFIA PARA IDENTIFICAÇÃO DE RESÍDUOS

O rápido desenvolvimento tecnológico na área da química analítica tem contribuído significativamente para o aprimoramento da proficiência nas análises. O monitoramento de resíduos de pesticidas exige uma metodologia multirresíduo que seja rápida, simples e altamente sensível para a detecção, uma vez que os resíduos podem estar presentes em concentrações tão baixas quanto partes por bilhão. No entanto, atualmente, não existem procedimentos multirresíduos específicos que possam ser aplicados a análises síncronas, abrangendo o amplo espectro de agroquímicos (Kottadiyil *et al.*, 2024).

Uma alternativa para análise de resíduos de pesticidas é o chamado método QuEChERS, “*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*”, que possui como objetivo de superar limitações pertencentes aos métodos existentes, com a otimização para suportar uma ampla variedade de analitos (Abdulra’uf *et al.*, 2025)

Para a resolução de problemas de quantificação do acúmulo de pesticidas no corpo humano, com toxicidade aguda ou crônica, uma forte ênfase foi disposta na avaliação do perigo alimentar de residuais de pesticidas em produtos alimentícios. Para a padronização dos limites máximos de resíduos (LMR) em produtos pecuários, é fundamental o estabelecimento de um método multirresíduos confiáveis que possam ser aplicados (Lee *et al.*, 2022).

O trabalho apresentado por Prodhan *et al.*, (2023) retrata a otimização e validação de um método analítico, baseado nos princípios da QuEChERS, para a determinação de resíduos de pesticidas organofosforados e piretróides. Para o preparo do equipamento foram utilizados os parâmetros cromatográficos de coluna capilar Restek Rtx-OPPesticide2 (30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno, 0,32 µm de espessura de filme), temperaturas de injetor e detector como 250 °C e 280 °C, respectivamente, temperatura de forno gradiente, com início em 150 °C até a 220 °C, com acréscimo de 10 °C por minuto, volume de injeção de 1 µL, split com razão de 10:1 e 10 minutos de corrida.

A partir dos conceitos apresentados, é viável realizar adaptações metodológicas visando otimizações nos resultados da análise de compostos organofosforados, em GC-FID, com base em um ponto inicial definido por parâmetros previamente estabelecidos.

2.6 EFEITOS DO ACEFATO À SAÚDE HUMANA

Sem pesticidas, a produção agrícola global teria sido reduzida em até 30-40% devido às infestações por diversas pragas. Embora possam exercer um papel crítico na garantia da segurança alimentar, o rendimento agrícola necessita aumentar em até 60% até 2050. Contudo, devido ao uso excessivo em diversos países, particularmente em países em desenvolvimento, surgem preocupações substanciais em relação à saúde dos consumidores (Andrade *et al.*, 2023), com possíveis efeitos agudos e crônicos, com base na quantidade de exposição dos seres humanos. Os trabalhadores agrícolas são os principais afetados, uma vez que estão em contato direto com estes produtos (Evaristo *et al.*, 2022; Akande *et al.*, 2020).

Os organofosforados (OP) e carbamatos (CB) foram considerados seguros comparados aos pesticidas organoclorados, como aldrina, dieldrina e diclorodifeniltricloroetano (DDT). Contudo, mais de quarenta pesticidas OP foram apontados por órgãos como a Organização Mundial da Saúde (OMS), Alimentação e Agricultura (FAO) e Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA), como nível de perigo médio a alto para a saúde humana (Kanja *et al.*, 2020). Entre os sintomas, quando expostos a altos níveis de OP, a inibição da acetilcolinesterase (AChE) pode trazer impactos neurológicos, como tremores, fadiga e náusea. Constatou-se que a inibição da AChE (acetilcolinesterase) é o efeito mais relevante para a saúde humana ao avaliar as exposições ao acefato (EPA, 2024).

Análises clínicas do envenenamento por OPs podem desenvolver-se com uma crise colinérgica aguda, que se caracterizam do acúmulo de acetilcolina endógena de transmissão colinérgica. A síndrome intermediária pode ocorrer de 12 a 96 horas após a exposição ao OP, durante o quadro de colinérgica aguda, diante do bloqueio neuromuscular pré e pós-sináptico, combinado da estimulação prolongada da nicotina. Efeitos tardios ou crônicos constituem da neuropatia tardia induzida por organofosforados (OPIDN) (Pannu *et al.*, 2020). A OPIDN é uma axonopatia distal que atinge o sistema nervoso periférico, caracterizado pela polineuropatia motor-sensorial, e central, apresentado por sintomas mielopáticos, provocando perda gradual dos movimentos do corpo (Chhabra *et al.*, 2024).

A exposição a compostos organofosforados também está atrelada a aumento de risco de infecções por COVID-19 e SARS-COV-2, contribuindo para a imunossupressão e suscetibilidade a doenças infecciosas em pessoas que contém níveis de biomarcadores do pesticida (Lopez *et al.*, 2024).

2.7 REGULAMENTAÇÃO

Em suma, a Lei nº 14.785/2023, intitulada Lei dos Agrotóxicos, determina instruções para, entre os tópicos de armazenamento e comercialização, o destino final de resíduos e embalagens, registro, classificação e o controle e fiscalização de agrotóxicos, para produtos de controle ambiental e seus produtos técnicos (BRASIL, 2023). Diante da extensão do documento, o artigo 2, parágrafo XVII, dispõe:

Limite Máximo de Resíduo (LMR): quantidade máxima de resíduo de agrotóxicos ou afins oficialmente aceita no alimento, em decorrência de aplicação adequada em fases específicas, desde a sua produção até o consumo, expressa em partes (em peso) do

ingrediente ativo do agrotóxico, afim ou seus resíduos por milhão de partes (em peso) de alimento (ppm ou mg kg^{-1}) (BRASIL, 2023).

A Tabela 2 prevê o limite de resíduo (LMR) de acefato em cada uma das culturas em que sua utilização é permitida, listados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Tabela 2 – Relação de limite de resíduo (LMR) para cada uma das culturas em que o acefato é aplicável.

Culturas	LMR (mg kg^{-1})
Algodão	0,09
Alho	0,15
Amendoim	0,02
Batata	0,20
Cebola	0,15
Cenoura	0,15
Citros	0,20
Feijão	0,02
Melão	0,10
Milho	0,02
Soja	0,02
Tomate	0,02

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2022.

A Resolução Diretoria Colegiada - RDC nº 45, de 02 de outubro de 2013, trouxe a reavaliação toxicológica do ingrediente ativo e as recomendações da Comissão de Revalidação Toxicológica, que, segundo o Art. 3, estabelece o LMR para o produto de degradação de metamidófos deverá ser menor que 0,01 ppm, além do limite de Ingestão Diária Aceitável (IDA) parametrizada em $0,0012 \text{ mg kg}^{-1}$ do peso corpóreo/dia (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013). A Resolução nº 2.080, de 31 de julho de 2019, estabeleceu que produtos à base de acefato sejam classificados na categoria 4, faixa azul e produto pouco tóxico, além de fixar que produtos técnicos a base de acefato devem conter no mínimo 98% de pureza de ingrediente ativo (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019).

No Brasil, foi sancionado em 2001 o Programa de Análise de Resíduos em Alimentos (PARA), que visa o monitoramento de resíduos produtos agrícolas potencialmente tóxicos em

alimentos de origem vegetal, com foco na diminuição de riscos à saúde decorrente da exposição dessas substâncias. Em conjunto ao PARA, o Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCR) traz uma ferramenta adotada pela ANVISA que visa a segurança química de alimentos de origem animal (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2024; Jardim; Caldas, 2024).

3. METODOLOGIA

3.1 MATERIAIS

O padrão de referência de Acefato utilizado na medida das amostras possui pureza certificada de 98,5% e foi adquirido da UPL Limited (Gujarat, Índia). Os solventes orgânicos utilizados, como a acetona (pureza 100,0%) e o isopropanol (pureza 99,0%), foram adquiridos pela Neon (Suzano, São Paulo, Brasil) e Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA), respectivamente. A coluna cromatográfica HP-5, composta por 5% de fenil-metilpolissiloxano como fase estacionária, foi adquirida pela *Agilent Technologies* (Wilmington, DE, USA) e possui 30 m de comprimento; 0,320 mm de diâmetro e 0,25 µm de espessura do filme. Os filtros para seringa utilizados para filtragem das amostras possuem membrana de 0,45 µm e foram adquiridos pela MERCK (Darmstadt, Frankfurter, German). O Padrão Interno (PI) de benzoato de benzila foi adquirido igual ao isopropanol, pela Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Mediu-se as amostras em Balança Analítica Sartorius Cubis II (Göttingen, Lower Saxony, Germany). O Cromatógrafo Gasoso 7890A (sistema de detecção FID), fornecido pela *Agilent Technologies* (Wilmington, DE, USA), foi utilizado para quantificação do acefato. O gás de arraste utilizado foi o N₂, com pureza de 99,999%, fornecido pela Air Liquid (Paris, Île-de-France, France).

3.2 PREPARO DE SOLUÇÕES

3.2.1 Preparo de Amostras

As massas medidas em Balança Analítica foram transferidas para balões volumétricos e avolumadas com os solventes orgânicos, individualmente. As soluções foram homogeneizadas e colocadas em banho ultrassônico por 10 minutos, a fim de garantir a dissolução completa do organofosforado. Após homogeneização, uma alíquota de 1 mL de amostra foi retirada do balão com auxílio de uma seringa de plástico, e, posteriormente, filtrada

com filtro de membrana para seringa de 0,45 µm. A alíquota filtrada foi colocada em vial e posicionada na bandeja no equipamento.

As soluções possuíam concentrações de 4 e 10 g L⁻¹. A cada resultado, novas amostras foram preparadas com ajustes de parâmetros em cromatógrafo gasoso, conforme listado na seção 3.3.

3.2.2 Preparo de Curva Analítica

Para preparo da curva de calibração, utilizou-se do intervalo de trabalho estabelecida pela RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos. A Conforme determina o artigo 25, para o estabelecimento da linearidade, deve-se utilizar, no mínimo, 5 concentrações diferentes da substância química de referência (SQR) (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017). Para cálculo dos 5 pontos, utilizou-se de concentrações equivalentes às porcentagens de 60%, 80%, 100%, 120% e 140% de ingrediente ativo de acefato.

A ABNT NBR 14029:2016, intitulada validação de métodos analíticos para agrotóxicos e afins, também traz estas mesmas concentrações para preparo de curva analítica (linearidade).

Partindo deste princípio, e, considerando a pureza do padrão utilizado sendo 98,5%, aplicou-se a Equação 4 para cálculo das concentrações.

Equação 4 - Cálculo de concentração (g L⁻¹) para preparo de curva analítica

$$\text{Concentração (g L}^{-1}\text{)} = \frac{\% \text{ de ativo} \times \frac{\text{pureza do padrão (g)}}{1000}}{\text{Volume do balão (L)}}$$

O preparo da curva analítica partiu de concentrações variando de 2,4 a 5,6 (2,4; 3,2; 4,0; 4,8 e 5,6 g L⁻¹), equivalente às porcentagens citadas acima.

3.2.3 Preparo do Padrão Interno

O preparo do padrão interno partiu da diluição do benzoato de benzila em isopropanol. A solução preparada possuía concentração de 3 g L⁻¹.

3.2.4 Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

De acordo com a RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, e Skoog *et al* (2005), os valores de LQ e LD podem ser calculados de acordo com a Equação 5 e 6.

Equação 5 - Cálculo para limite de quantificação

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC}$$

Equação 6 - Cálculo para limite de detecção

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC}$$

Em que σ equivale ao desvio padrão do branco, e IC, como o coeficiente angular da curva de calibração.

3.3 OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS PARA QUANTIFICAÇÃO DE ACEFATO

Os parâmetros cromatográficos utilizados para a realização deste trabalho foram baseados no artigo publicado por Phodhan *et al* (2023). O artigo citado apresenta indicadores para a validação de oito resíduos de pesticidas, incluindo o acefato, em folha de betel, utilizando da Cromatografia Gasosa Acoplada ao Detector Termiônico de Chama (DTC). Embora o sistema do Cromatógrafo Gasoso utilizado para este presente trabalho faz uso do FID, parâmetros de temperaturas de coluna, injetor e detector permaneceram semelhantes, assim como as dimensões de coluna utilizada e volume de injeção. Diante da disponibilidade de materiais, como gás de arraste e coluna, ajustes foram necessários.

Os parâmetros cromatográficos otimizados estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros cromatográficos utilizados para análise de teor de ativo de acefato em Cromatógrafo Gasoso 7890A.

Descrição	Parâmetros	Unidade
Temperatura da coluna (isotérmico)	185, 195 e 200	°C
Temperatura do injetor	160, 195 e 270	°C
Temperatura do detector	200, 220, 230, e 280	°C
Pressão de entrada da coluna	16,75	Psi
Vazão de nitrogênio na coluna	2	mL min ⁻¹

Vazão total <i>split</i>	19,4	mL min ⁻¹
Fluxo de gás Nitrogênio no <i>Make Up</i>	25	mL min ⁻¹
Fluxo de gás Hidrogênio	28 e 30	mL min ⁻¹
Fluxo de Ar	280 e 300	mL min ⁻¹
Volume de Injeção	1 e 2	μL
<i>Split Ratio</i>	75:1	-
<i>Split Flow</i>	150	mL
Coluna	HP-5	30 m; 0,32 mm; 0,25 μm

Fonte: Elaborado pela Autora (2024)

3.4 AJUSTES DE PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS

Os parâmetros cromatográficos partiram das especificações listadas na Tabela 3. Foram realizados diversos testes com variações de fluxo de gás hidrogênio e ar, volume de injeção e temperaturas de coluna, injetor e detector, sendo que os restantes dos parâmetros permaneceram inalterados.

Para a primeira etapa, os parâmetros cromatográficos iniciaram-se do fluxo de gás e hidrogênio em 28 e 280 mL min⁻¹, respectivamente, e volume de injeção em 2 μL; estes valores foram fixados, enquanto as temperaturas sofreram variações, conforme a Tabela 4. Os demais parâmetros estão listados na Tabela 3.

Tabela 4 - Ajustes de temperaturas realizadas para a primeira etapa de análises.

Temperatura de coluna (°C)	Temperatura de injetor (°C)	Temperatura de detector (°C)
200	195	220
180	160	230
180	160	200
180	160	220
195	160	230
195	160	200
195	160	250

Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Para a segunda etapa, houveram mudanças de volume de injeção para 1 μL e fluxo de hidrogênio e ar, para 30 e 300 mL min^{-1} , respectivamente. As mudanças de temperatura estão listadas na Tabela 5, enquanto os demais parâmetros permaneceram inalterados.

Tabela 5 - Ajustes de temperaturas realizados para a segunda etapa de análises. As demais especificações estão listadas na Tabela 3.

Temperatura de coluna (°C)	Temperatura de injetor (°C)	Temperatura de detector (°C)
180	270	280
195	160	250

Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

3.5 QUANTIFICAÇÃO DE ACEFATO POR CROMATOGRAFIA GASOSA

O equipamento utilizado para a otimização de parâmetros para quantificação de acefato foi o Cromatógrafo Gasoso 7890A, marca *Agilent Technologies*, (Wilmington, DE, USA) com a técnica de Cromatografia Gás-Líquido (Kravchenko, 2024), com utilização do sistema de Detecção por Ionização de Chama (FID). O GC é compreendido com um injetor, colunas, um forno, detectores, um sistema de controle e a pneumática do gás de suporte e de reposição (Laajimi *et al.*, 2022). Anterior ao começo das análises, as válvulas de gás e a solução de limpeza e descarte do equipamento foram inspecionadas, a fim de garantir que o fluxo de gás de arraste seja constante e uniforme e as seringas, a cada injeção, sejam limpas. A amostra foi preparada e o *vial* posicionado na bandeja, acoplada ao cromatógrafo. Ao início da corrida, o equipamento, de forma automatizada, retirou do *vial*, e, com auxílio de uma seringa, uma alíquota foi injetada na ponta da coluna cromatográfica, com a amostra já totalmente vaporizada. A amostra atravessou toda extensão da coluna, com auxílio do gás de arraste, até chegar ao detector, que registrou os picos cromatográficos em um registrador.

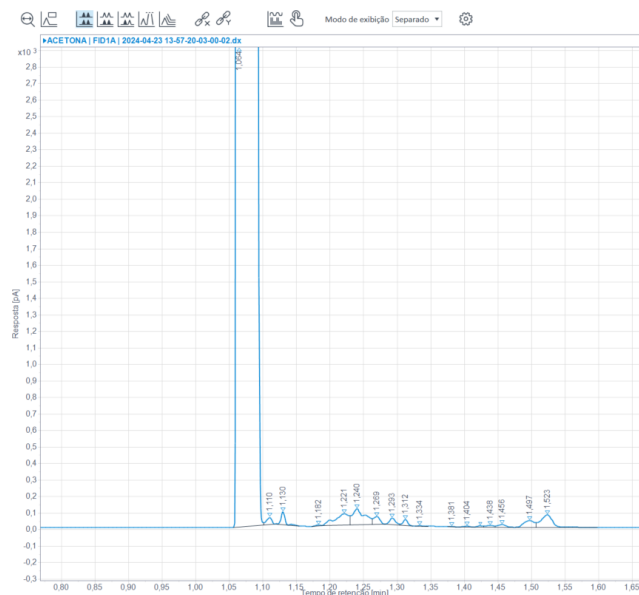
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 PARAMETRIZAÇÃO DE PICO CROMATOGRÁFICO NA IDENTIFICAÇÃO DO ACEFATO

4.1.1 Solvente e Identificação de Pico de Solvente

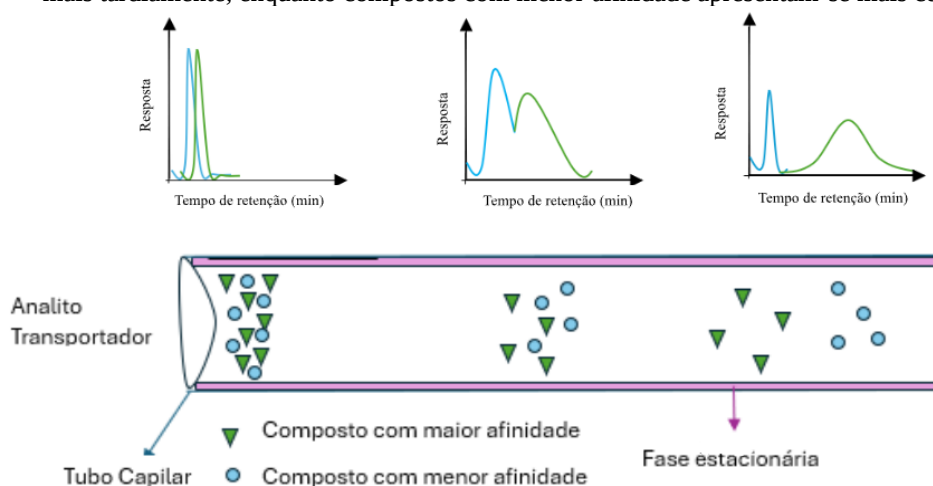
O emprego dos solventes acetona e isopropanol resultou, no início de cada corrida, em um pico mais intenso com tempo de retenção de 1,0 minuto (Figura 6). Esse pico indica a presença de um solvente orgânico altamente volátil, conhecido como pico de solvente. Sua rápida eluição, quando submetido a altas temperaturas, deve-se ao baixo ponto de ebulição (PE), permitindo que os solventes alcancem o detector antes dos demais compostos, após percorrerem toda a coluna. A seleção do solvente adequado é crucial em cromatografia gasosa para evitar que o analito de interesse seja eluído na cauda do pico do solvente (Grob; Barry, 2004). Além disso, a chegada do solvente ao detector pode estar relacionada à afinidade do composto com a coluna (Figura 7). Fases estacionárias apolares separam os compostos principalmente com base no PE, enquanto fases polares promovem a separação de compostos com PE semelhantes devido a interações específicas (Laajimi *et al.*, 2022).

Figura 6 - Cromatograma somente de isopropanol, empregado como solvente nas análises de otimização de parâmetros para análise de acefato.



Fonte: Elaborado pela Autora (2024)

Figura 7 - À medida que o gás de arraste, inerte, percorre a coluna cromatográfica com os analitos, a afinidade de cada composto define quanto tempo levará para eluir. Compostos que possuem maior afinidade apresentam-se mais tardiamente, enquanto compostos com menor afinidade apresentam-se mais cedo.



Fonte: Elaborado pela Autora (2025)

Tanto a acetona como o isopropanol, ambos solventes orgânicos polares, apresentaram fácil solubilização do acefato, sendo a solubilidade do acefato em acetona igual a 150 g L^{-1} (National Library of Medicine, 2018).

4.1.2 Identificação de Picos Fantasmas

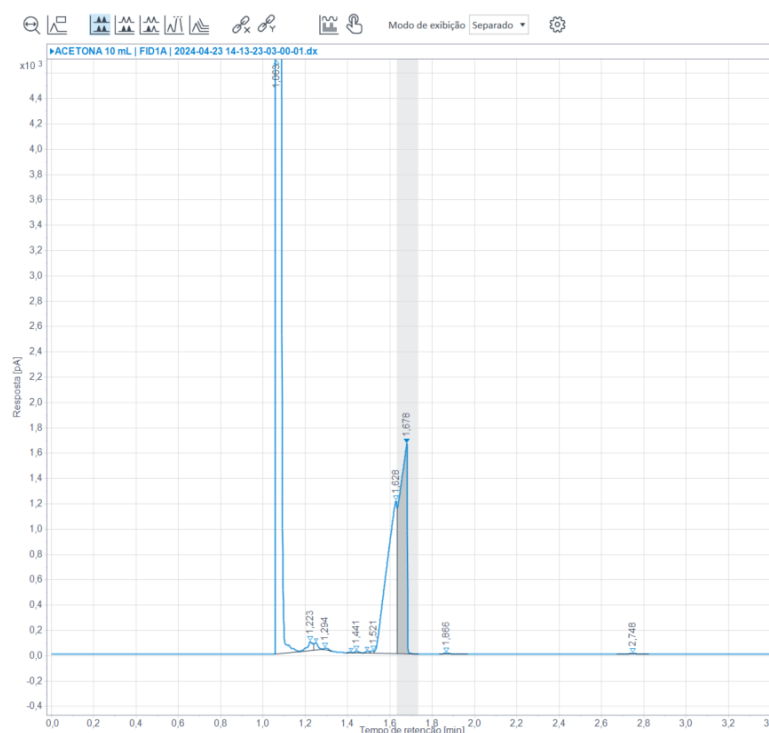
Conforme observado na Figura 6, identificaram-se picos próximos à linha de base. Esses picos, conhecidos como picos fantasmas ou picos desconhecidos, podem surgir em análises cromatográficas devido a diversos fatores. A presença desses picos compromete a resolução cromatográfica, pois podem coincidir com o tempo de retenção do analito, dificultando sua identificação precisa. A formação desses pseudo-picos pode estar relacionada a diferentes causas, como a presença de gases de arraste com pureza inadequada, que interagem com fases estacionárias compostas por polidimetilsiloxanos, sangramentos de septos revestidos com silicone e a degradação de amostras ou solventes orgânicos devido à sua decomposição na porta injetora (Kumar; Sharma, 2022). Devido à utilização do solvente, a maioria dos picos desconhecidos apresenta características vestigiais e classificação imprevisível, tornando morosa a realização de uma pesquisa sistemática para sua identificação e controle (Zhang *et al.*, 2022)

O artigo publicado por Laajimi *et al.* (2022) relata sobre as possíveis causas do aparecimento de picos desconhecidos durante o estudo da cromatografia gasosa, e, entre eles,

razões de amostras, entradas contaminadas e sangramento do septo foram apontadas. Como ação corretiva, a limpeza do injetor ou substituição do revestimento e septo e análise minuciosa do método foram citados.

A Figura 8 evidencia uma falha significativa na resolução do pico cromatográfico. Analisando a Figura 6, verificou-se que picos desconhecidos se estabilizam por volta de 1,60 minutos, entretanto, o surgimento do pico cromatográfico de acefato ocorre em uma região temporal muito próxima, prejudicando a separação e a qualidade do sinal analítico, com a presença de “ombros”. Ruídos, desorientação da linha de base, coleta imprópria de dados ou rejeitos de pico são capazes de levar a erros relevantes (Olive *et al*, 1989).

Figura 8 - Sobreposição de dois picos cromatográficos.



Fonte: Elaborado pela Autora (2024)

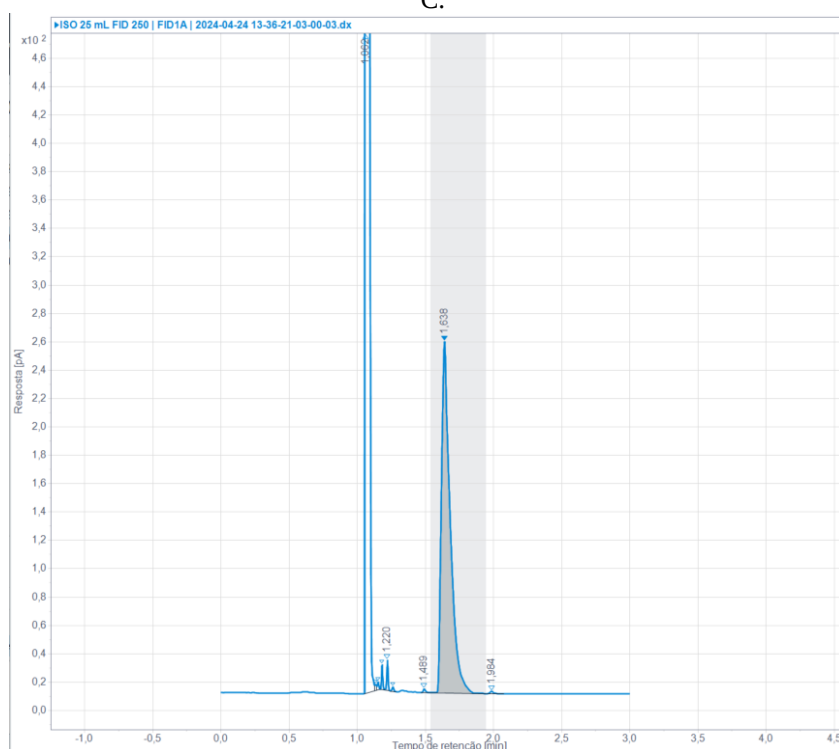
4.1.3 Mudança de Tempo de Retenção em Efeito à Temperatura de Coluna

A utilização de temperatura de coluna em 195 °C apresentou resultados satisfatórios em relação ao tempo de retenção (RT) do acefato, com a eluição do pico em 1,53 minutos (Figura 9). Quando a coluna foi operada a 180 °C, o RT observado foi de 1,80 minutos. Além disso, a diferença no tempo de retenção entre as amostras preparadas com diferentes solventes,

considerando a mesma temperatura da coluna, foi de poucos centésimos de segundo, não impactando a resolução do pico cromatográfico.

O aumento da temperatura pode alterar o tempo de retenção (RT) de um determinado composto e também pode estar relacionado a outros fatores de pequeno impacto, como temperatura ambiente e taxas de fluxo de gás. Essas influências estão associadas a características como volatilidade, polaridade e grupos funcionais. Mudanças drásticas nas configurações do sistema podem alterar a ordem de eluição dos analitos (Zang *et al.*, 2023).

Figura 9 - Cromatograma com identificação de pico de acefato, com temperatura de forno a 195 °C e injetor 160 °C.



Fonte: Elaborado pela Autora (2024)

4.1.4 Possível Degradação de Analito em Decorência à Altas Temperatura de Injeção

Segundo Emmanouil *et al.* (2021), o período de injeção é considerado mais árduo em GC, quando comparado ao LC-MS. A amostra possui grande potencial de sofrer degradação térmica no tempo em que é induzida ao sistema de entrada. O autor destaca um efeito semelhante de potencial degradação de pequenas moléculas orgânicas, em que é reforçado a

relevância da etapa de injeção, uma vez que a degradação pode ser acelerada por produtos de degradação resultante de interior sujo ou da própria amostra.

Amostras que utilizaram temperaturas de injetor em 160 °C apresentaram picos mais próximos de uma curva gaussiana, simétrica e acentuada, vista na Figura 9. Temperaturas de 270 °C trouxeram uma “inversão” do pico cromatográfico, em que houve a formação de uma espécie de triângulo (Figura 10). A amostra, ao ser inserida no sistema de injeção, é vaporizada totalmente, mas quando expostas a limites altos de temperaturas de injeção, possuem tempo de estância suficiente para que sítios ativos do insertor do injetor absorvam ou incitem à degradação térmica de um número de analitos, antes mesmo de serem transportadas para a coluna (Neves; Queiroz, 2009). Há a possibilidade do aparecimento de caudas de acordo com o perfil de injeção, em que a temperatura da porta de injeção não é suficientemente alta para total vaporização da amostra (Pápai; Pap, 2002).

Figura 10 - Cromatograma de possível degradação de analito de interesse devido a altas temperaturas do sistema de injeção.



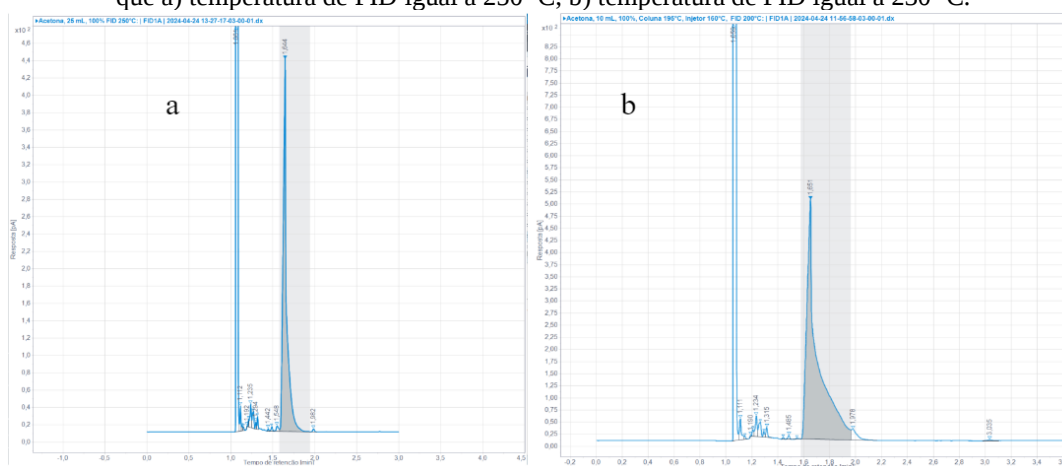
Fonte: Elaborado pela Autora (2024)

A assimetria de um pico cromatográfico, como apresentado na Figura 10, pode ser entrelaçada a funções de modelos, que englobam no mínimo três parâmetros: um referente à posição do pico, sua variância (amplitude) e o último, à assimetria em si. Outro fator é a área do pico ou altura, que está relacionado à concentração do soluto (Bolanča *et al.*, 2009).

4.1.5 Efeitos Ajuste de Fluxo de Gases Combustíveis e Temperatura do Detector (FID) na Resolução do Pico Cromatográfico

A Figura 11 representa a mudança de temperatura de detector entre duas amostras, com os mesmos parâmetros (Tabela 3). É visível que a Figura 11a possui melhor resolução, com um pico mais estreito, quando comparada a Figura 11b, que apresenta cauda e uma área maior. Essa melhor resolução está relacionada à condição de que a temperatura do FID foi superior à temperatura da coluna, evitando possíveis condensações de componentes da amostra, nas linhas de transferência e no jato (Grob; Barry, 2004). As sutis mudanças de fluxo de ar e hidrogênio, combustíveis da chama do FID, não apresentaram mudanças significativas na resolução do pico. A competência do detector depende, também, da razão das vazões dos gases que alimentam a chama. Usualmente, boa sensibilidade e imutabilidade são alcançáveis usando a proporção de 1:1:10 para o gás de arraste, hidrogênio e ar comprimido, respectivamente (Collins *et al.*, 1997). Entende-se que as desigualdades nas respostas dos compostos decorrem do tempo de permanência na chama sob diferentes condições de operação, o que pode resultar em uma combustão parcial (Poole, 2015).

Figura 11 - Cromatogramas para otimização de pico cromatográfico de acefato, com parâmetros da Tabela 3, em que a) temperatura de FID igual a 250 °C, b) temperatura de FID igual a 230 °C.



Fonte: Elaborado pela Autora (2024)

4.1.6 Melhor Resolução de Pico em Volumes de Injeções Menores e Amostras Concentradas

As amostras que utilizaram como parâmetro 1 μL de volume de injeção obtiveram melhores resoluções, quando comparado às amostras que utilizaram 2 μL . Como resultado,

obteve-se topos mais acentuados e estreitos. Volumes grandes de injeção podem sobrecarregar a porta de injeção e distorcer e alterar a forma do pico, com frente afiada e cauda difusa, enquanto volumes menores apresentam pico simétrico (Grob; Barry, 2004).

Amostras com concentração de 10 g L^{-1} apresentaram picos de maior altura quando comparadas às amostras com concentração de 4 g L^{-1} . Essas concentrações foram estabelecidas conforme a RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, na qual ambas correspondem a 100% do ativo do padrão, porém utilizando balões volumétricos de capacidades distintas. O cálculo para a concentração equivalente a 100% é apresentado na Equação 7.

Equação 7 - Cálculo de concentração (g L^{-1}) de amostra, com 100% de ingrediente ativo

$$\text{Concentração } (\text{g L}^{-1}) = \frac{100 \times \frac{\text{pureza do padrão (g)}}{1000}}{\text{Volume do balão (L)}}$$

4.1.7 Eficácia de Coluna HP-5

A escolha da coluna capilar HP-5 trouxe excelentes resultados, com a apresentação dos picos cromatográficos e possíveis quantificações. Ela é composta por uma fase estacionária líquida do tipo *Wall Coated Open Tubular* (WCOT), ou seja, é constituída por uma fina película líquida que reveste a parede interna da coluna, e sua tubulação é composta de sílica fundida (Agilent Technologies, 2024; Laajimi *et al*, 2022).

As colunas capilares possuem maior controle de separação e menor sangria da coluna, acarretando em picos mais simétricos (Laajimi *et al*, 2022). A utilização de colunas compostas por sílica fundida em sua tubulação é ideal para compostos que não necessitam de temperaturas acima de $350 \text{ }^{\circ}\text{C}$ para análises de compostos orgânicos (Grob; Barry, 2004).

A eficiência da coluna pôde ser calculada a partir da Equação 2, com relação de número teórico de placas. O tempo médio de retenção das amostras que obtiveram melhores resultados de resolução de picos foi de aproximadamente 1,55 minutos (V_R), e a largura de pico para estes cromatogramas foram de 0,15 minutos (ω_b).

Equação 2 - Eficiência de coluna em cromatógrafo gasoso.

$$N = 16 \left(\frac{V_R}{\omega_b} \right)^2$$

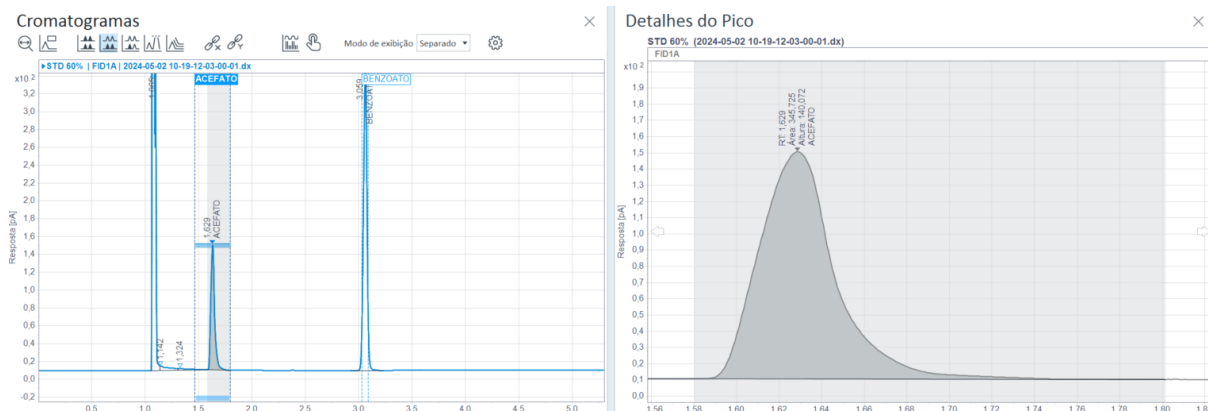
O N encontrado é de aproximadamente 1.708,45. A teoria das placas descreve que, valores de N maiores, acarretam picos mais nítidos (Shimadzu, 2025). Segundo Grob e Barry (2004), os valores de N são maiores em condições de: emprego de colunas capilares, quando comparadas às compactadas, e comprimento da coluna, ou seja, quanto maior ela for, mais eficaz ela será.

O número de placas teóricas pode ser utilizado para avaliar o desempenho da coluna sob condições isotérmicas (Meng et al., 2024). De acordo com Hartig *et al.* (2015), análises preliminares demonstraram que, para o modelo de Langmuir em uma superfície homogênea, o valor de N (número de placas teóricas) deve ser, no mínimo, 2000 para reduzir falhas cromatográficas em pelo menos 3% e 5000 para reduzi-las em 5%. Embora esses valores sejam alcançáveis, nem todos os adsorventes ou colunas permitem atingi-los, especialmente nos estágios iniciais do desenvolvimento metodológico. Nessa fase, a disponibilidade de adsorvente e eluente pode ser limitada, e as combinações das fases de separação ainda não estão completamente otimizadas, o que resulta em desvios no desempenho real da coluna em relação às condições ideais. Além disso, a eficiência da coluna é influenciada por diversos fatores, como não idealidades na adsorção dinâmica de fluidos, resistência à transferência de massa, taxas finitas de adsorção e dessorção, além de isothermas não lineares. Em uma análise comparativa, o número de placas teóricas encontrado neste trabalho está de acordo com o estabelecido por Hartig *et al.* (2015), com um valor muito próximo a 2000 em uma superfície homogênea, sugerindo que aperfeiçoamentos na metodologia sejam necessários para atingir esse valor.

4.1.8 Padrão Interno para Quantificação de Acefato e Curva Analítica

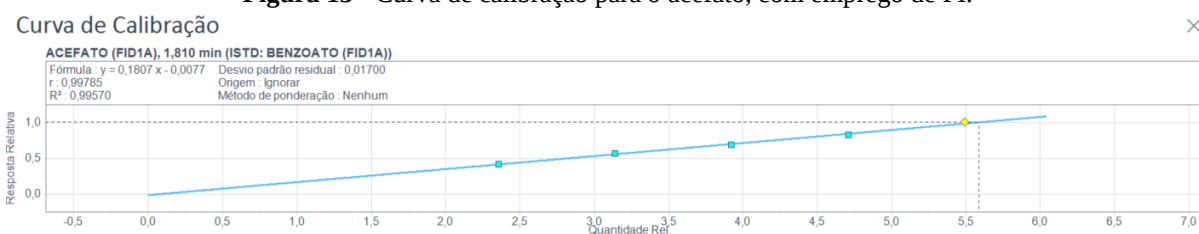
O Padrão Interno foi utilizado para fins de quantificação do melhor resultado obtido a partir das parametrizações testadas (Tabela 3). O benzoato de benzila foi escolhido como padrão interno por possuir massa molecular semelhante ao acefato, como alternativa para uma possível eliminação de intervenções da matriz ambiental na análise quantitativa em GC (Yang *et al.*, 2022). Com a adição de uma concentração conhecida de benzoato de benzila, qualquer variação no processo pode ser visualizada no cromatograma, uma vez que ele também será afetado, caso alguma intercorrência aconteça (SCION Instruments, 2024). A Figura 12 representa o cromatograma para a concentração de 100% da curva analítica.

Figura 12 - Cromatograma para o acefato, com utilização de PI. Parâmetros cromatográficos: temperatura de coluna 185 °C; injetor 160°C; FID 250 °C; vazão de gás de arraste 2 mL min⁻¹, fluxo N₂ Make Up 25 mL min⁻¹, fluxo de gás H₂ 30 mL min⁻¹; fluxo de ar 300 mL min⁻¹, volume de injeção 1 uL, split Ratio 75:1; split Flow 150 e Coluna HP-5.



Fonte: Elaborada pela Autora (2024)

Figura 13 - Curva de calibração para o acefato, com emprego de PI.



Fonte: Elaborado pela Autora (2024)

A curva analítica preparada (Figura 13) apresentou excelente resultado, com coeficiente de correlação linear igual a $R = 0,99785$. O coeficiente de correlação linear (R) é um valor numérico que varia entre -1 e 1, utilizado para expressar a intensidade e a direção da relação entre variáveis. Esse coeficiente representa a similaridade entre medições de duas ou mais variáveis dentro de um conjunto de dados (Bhadalari, 2023).

A Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, que estabelece a respeito da validação de métodos analíticos e dá outras providências, prevê parâmetros para realização de validações analíticas. Entre elas, o artigo 27 rege a avaliação da associação linear entre as variáveis, por meio dos coeficientes de correlação (r) e de determinação (r^2), sendo esta $r = 0,99$ (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017).

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) foram calculados a partir das equações 5 e 6.

Equação 5 - Cálculo para limite de quantificação

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC}$$

Equação 6 - Cálculo para limite de detecção

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC}$$

O desvio padrão do branco para os valores de ruído (0,0089; 0,0092; 0,0085; 0,0113 e 0,0114) foi igual a 0,0014 e IC de 0,1807. Os resultados encontrados para LD e LQ foram, respectivamente, 0,0300 e 0,0800 mg kg⁻¹.

O limite de detecção (LD) pode ser definido como a menor concentração a ser mensurada (detectada) significativamente, de forma confiável, do zero; enquanto o limite de quantificação (LQ) significa a menor quantidade ou a menor concentração de uma substância possível de ser determinada, ambas em um procedimento analítico (Pawliszyn, 2012; Paschoal; Rath, 2008).

As análises realizadas por Imoto e Freitas (2008) na determinação de LD e LQ de resíduos de pesticidas organohalogenados, com a técnica de cromatografia gasosa, trouxeram resultados de 0,0050 a 0,0300 mg kg⁻¹ para limites de detecção e 0,0012 a 0,0060 para quantificação. O autor também compara estes valores de LQ com o de LMR estabelecido de cada pesticida de acordo com a legislação vigente no ano de publicação.

Comparando o limite de quantificação (LQ) encontrado igual a 0,0800 mg kg⁻¹ e os máximos de resíduos (LMR) de acefato apresentados na Tabela 2, observa-se que a quantificação do pesticida é viável em culturas como algodão, alho, batata, cebola, cenoura, citros e melão, uma vez que o LQ está abaixo dos valores de LMR estabelecidos pela ANVISA.

Tabela 2 – Relação de limite de resíduo (LMR) para cada uma das culturas em que o acefato é aplicável.

Culturas	LMR (mg kg⁻¹)
Algodão	0,09
Alho	0,15
Amendoim	0,02
Batata	0,20
Cebola	0,15
Cenoura	0,15

Citros	0,20
Feijão	0,02
Melão	0,10
Milho	0,02
Soja	0,02
Tomate	0,02

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2022

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho teve como principal objetivo a otimização de parâmetros cromatográficos para a quantificação de acefato por meio da cromatografia gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (GC-FID), uma alternativa de menor custo em comparação com a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS).

A análise de resíduos em alimentos frequentemente exige etapas rigorosas de pré-tratamento, caracterizadas pelo alto consumo de tempo, necessidade de equipamentos de elevada sofisticação tecnológica e uso de reagentes químicos. Nesse contexto, a otimização de métodos analíticos representa uma contribuição significativa para o desenvolvimento de abordagens mais eficientes e economicamente viáveis, possibilitando a obtenção de resultados analíticos mais precisos e reprodutíveis.

As análises realizadas para a otimização do método por GC-FID resultaram na obtenção de picos cromatográficos simétricos e bem definidos. A utilização de uma temperatura de coluna de 195 °C proporcionou excelente resolução do pico cromatográfico, sem sobreposição de sinais indesejados, como os provenientes do solvente ou de picos fantasmas. A elevação significativa da temperatura reduziu o tempo de retenção da amostra (RT), proporcionando uma análise mais rápida. No entanto, temperaturas elevadas comprometeram a resolução cromatográfica, resultando na sobreposição de picos e na perda de definição.

A otimização do sistema de injeção mostrou-se uma etapa crucial para a análise do analito de interesse, uma vez que temperaturas excessivas poderiam levar à degradação da amostra logo na fase inicial do processo. Foi observado que temperaturas do injetor de 270 °C resultaram na inversão do pico cromatográfico, possivelmente indicando degradação térmica

do analito. Em contrapartida, a temperatura de 160 °C revelou-se ideal, favorecendo a formação de um pico mais próximo ao perfil de uma curva gaussiana.

A temperatura do detector FID de 250 °C proporcionou melhor resolução dos picos cromatográficos. Por outro lado, temperaturas inferiores a 230 °C resultaram em caudas no pico cromatográfico e aumento da área próxima à linha de base, possivelmente devido à proximidade da temperatura do detector em relação à temperatura da coluna. Alterações sutis no fluxo de hidrogênio e ar não produziram impactos significativos na formação dos picos cromatográficos. Em relação ao volume de injeção, volumes menores (1 µL) resultaram em picos mais estreitos e bem definidos, enquanto volumes maiores (2 µL) apresentaram picos mais largos. Amostras mais concentradas produziram picos de maior intensidade.

A escolha da coluna HP-5 mostrou-se adequada para a análise do acefato, uma vez que não houve sangria entre a amostra e a fase estacionária. As dimensões selecionadas foram apropriadas, conforme indicado na literatura para a análise de organofosforados, e o número de placas teóricas encontrado (1.708,45) demonstrou a eficiência do sistema cromatográfico adotado.

Por fim, os parâmetros otimizados permitiram a obtenção de uma curva analítica, com o auxílio de um padrão interno, cujo coeficiente de correlação linear (R) foi de 0,99785, atendendo aos critérios estabelecidos pela Resolução RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Além disso, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados como 0,0300 mg kg⁻¹ e 0,0800 mg kg⁻¹, respectivamente. O valor de LQ atendeu às exigências para quantificação do acefato em culturas como algodão, alho, batata, cebola, cenoura, citros e melão, conforme os limites máximos de resíduo (LMR) estabelecidos pela ANVISA. Dessa forma, os resultados obtidos demonstram a adequação da técnica de GC-FID para a quantificação do acefato, apresentando-se como uma alternativa eficiente e acessível para essa finalidade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULRA'UF, L. B.; JUNAID, A. M.; LAWAL, A. R.; IBRAHIM, H. B.; TAN, G. H. Determination of Pesticides Residues in Beans Using: QuEChERS Technique Coupled to Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Multivariate Optimization of CEN and AOAC Methods. **Food Chemistry**, v. 463, 2025.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 45, de 02 de outubro de 2013. Regulamento técnico para o ingrediente ativo acefato

em decorrência de sua reavaliação toxicológica. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 152, p. 15, 04 out. 2013.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 156, p. 87, 25 jul. 2017.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RE nº 2.080, de 31 de julho de 2019. Reclassificação Toxicológica de Agrotóxicos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 158, p. 94, 01 ago. 2019.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **ANVISA**: Monografias autorizadas: A02 – Acefato, 22 ago. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/a/acefato>. Acesso em: 10 jan. 2025.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **ANVISA**: Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos - PARA. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos>. Acesso em: 24 nov. 2024.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **ANVISA**: Publicada Reclassificação Toxicológica de Agrotóxico. 01 ago. 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2019/publicada-reclassificacao-toxicologica-de-agrotoxicos>. Acesso em: 20 fev. 2025.

AGILENT TECHNOLOGIES [S. l.: s.n], 2016. 1 vídeo (15 min.). Publicado pelo canal Agilent Technologies. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=uD-29-mV3N0>. Acesso em: 10 out. 2024.

AGILENT TECHNOLOGIES. **COLLUNS**: Capillary Collumn HP-5. Disponível em: <https://www.agilent.com/en/product/gc-columns/standard-polysiloxane-gc-columns/hp-5-columns>. Acesso em: 10 dez. 2024.

AKANDE, M. G.; SANNI, F. S.; ENEFE, N. G. Human Health Risk Evaluation of Organophosphate Insecticide Residues in Post-Harvest Cowpea in Gwagwalada, Abuja, Nigeria. **Journal of Health and Pollution**, vol. 10, n. 28, 2020.

ALIZADECH, Ismaeil; GOROUHI, M. A.; AFSHAR, A. A.; FARAJI, Maryam; NAKHAEIPOUR, Mojtaba; POURCHANGIZ, Fatemeh. Risk of Leucemia and Brain Tumors in Children Exposed to Pesticide Residual in Households and Approaches to Reduce its Side Effects. **Journal of Pediatrics Review**. v. 9, n. 21, 2021.

ANACLETO, Bianca. **GLOBO RURAL**: PL dos Agrotóxicos: o que é, qual objetivo e o que muda. Brasília, 28 nov. 2023. Disponível em:

<https://globorural.globo.com/politica/noticia/2023/11/pl-dos-agrotoxicos-o-que-e-qual-objetivo-e-o-que-muda-pl-1459-2022.ghtml>. Acesso em: 10 jan. 2025.

ANDRADE, J.C.; GALVAN, Diego; KATO, L. S.; CONTE-JUNIOR, C. A. Consumption of Fruits and Vegetables Contaminated with Pesticides Residues in Brazil: A Systematic Review with Health Risk Assessment. **Chemosphere**, v. 322, 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 14029**: Agrotóxicos e afins – Validação de métodos Analíticos. Rio de Janeiro: ABNT, 2016.

BARTLE, K.D.; MYERS, Peter. History of Gas Chromatography. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 9-10, p. 547-557, 2002.

BHADALARI, Pritha. **SCRIBBR**: Coeficiente de correlação | Tipos, Fórmulas e Exemplos. 22 jun. 2023. Disponível em: <https://www.scribbr.com/statistics/correlation-coefficient/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

BOLANČA, Tomislav; CERJAN-STEFANOVIĆ, Štefica; UKIĆ, Šime; ROGOŠIĆ, Marko; LUŠA, Melita. Application of a Gradient Retention Model Development by Using Isocratic Data, for the Prediction of Retention, Resolution, and Peak Asymetry in Ion Chromatography. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 32, n. 10, 2009.

BRANKOV, Tatjana; MATKOVSKI, Bojan; JEREMIĆ, Marija; ZEKIĆ, Stanislav. Impact of Economic Development on Pesticide Use in South-East Europe. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 30, n. 2, p. 1563-1572, 2021.

BRASIL, Lei nº 14.785, de 27 de dezembro de 2023. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, DF, ano 162, 16 abr. 2023.

Britannica. **BRITTANICA**: Vaporization. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/vaporization>. Acesso em: 20 fev. 2025.

BROVINI, E. M.; MARTUCCI, M. E. P.; OLIVEIRA, Mariana; OLIVEIRA, A. H. S.; AQUINO, S. F. Faster and More Accessible Method for the Analysis of Acephate and Methamidophos in Water Samples by LC-MS/MS. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 2024a.

BROVINI, E. M.; OLIVEIRA, Mariana; PEREIRA, A. R.; MARTUCCI, E. P.; AQUINO, S. F. Removal of Acephate and Methamidophos from Water: Coagulation and Adsorptive Treatment Approaches. **Environmental Pollution**, v. 358, 2024b.

BUSZEWSKI, Bogusław. Separation Sciences in Poland. **Separations**, v. 9, n. 2, p. 50, 2022. CARBONARI, C. A; VELINI, E. D. Risk assessment of Herbicides Compared to Other Pesticides in Brazil. **Journal of the Brazilian Weed Science Society**, v. 39, 2022.

CHHABRA, Jayksh; OBEROI, Akankshi; PANDITA, Neha; BANGA, Vinit. The Enigma of Delayed Neurotoxicity in Organophosphate Poisoning: A Case Report of Clinical Presentation with Normal MRI Findings. **Cureus**, v. 16, n. 6, 2024.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. Introdução a Métodos Cromatográficos. 7 ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1997.

DEMIR, Eşref; KANSIZ, Seyithan; DOĞAN, Mehmet; TOPEL, Önder; AKKOYUNLU, Gökhan; KANDUR, M. Y.; DEMIR, F. T. Hazard Assessment of the Effects of Acute and Chronic Exposure to Permethrin, Copper Hydroxide, Acephate, and Validamycin Nanopesticides on the Physiology of *Drosophila*: Novel Insights into the Cellular Internalization and Biological Effects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, 2022.

EMMANOUIL, T. D.; NEBEL, Caroline; DANIELSEN, Marianne; SUNDEKILDE, U. K.; DALSGAARD, T. K. Thermal Degradation of Metabolites in Urine Using Multiple Isotope-labelled Internal Standards for off-line GC Metabolomics - Effects of Injector and Oven Temperatures. **Journal of Chromatography B**, v. 1181, 2021.

EVARISTO, Aryane; PEDROSO, D. O.; RECH, N. L. S.; BOMBARDI, B. F. S. SIEGLOCH, A. E.; AGOSTINETTO, Lenita. Pesticides and Farmers' Health: An Analysis of Variables Related to Management and Property. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 2, 2022.

FINGER, Robert. On the Definition of Pesticide-Free Crop Production Systems. **Agricultural Systems**, v. 214, 2024.

GROB, R.L.; BARRY, E.F. Modern Practice of Gas Chromatography. 4 ed. Canadá: Wiley Interscience, 2004.

GUIOCHON, G. A. Chromatography, Today and Tomorrow. **Analytica Chimica Acta**, v. 283, n. 1, p. 309-319, 1993.

HARTIG, Dave; WALUGAL, Thomas; SCHOLL, Stephan. Expanding the Elution by Characteristic Point Method to Columns with a Finite Number of Theoretical Plates. **Journal of Chromatography A**, v. 1413, p. 77-84, 2015.

HLOŽEKA, Tomáš; BURSOVÁ, Miroslava; ČABALAA, Radomír. Simultaneous and Cost-Effective Determination of Ethylene Glycol and Glycolic Acid in Human Serum and Urine for Emergency Toxicology by GG-MS. **Clinical Biochemistry**, v. 48, n. 3, p. 189-191, 2015.

IMOTO, M. N.; FREITAS, R. J. S. Determinação dos Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ) em Análise de Resíduos de Pesticidas Organohalogenados por Cromatografia Gasosa. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 18, p. 35-44, 2008.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Pesticide Residues in Food of Plant Origin Commercialized in Brazil from 2010 to 2020 – An Update from the Two National Monitoring Programs. **Food Control**, v. 165, 2024.

JÚNIOR, D. S. T.; SANTOS, S. N.; MARQUES, A. B. S.; FARIAS, K. P.; SOUZA, A. B.; LIMA, G. N.; RODRIGUES, J. L. Revisão Sobre Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas Aplicada à Análise Toxicológica de Alimentos. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, 2021.

KANJA, Laetitia; ZOMER, Paul; LOUISSE, Jochem; RIETJENS, I. M. C. M.; MOL, Han. Organophosphate and Carbamate Pesticide Residues and Accompanying Risks in Commonly Consumed Vegetables in Kenya. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 14, n. 1, 2020.

KOLOMNIKOVA, I. G.; EFREMOVA, A. M.; TIKHOMIROVA, T. I.; SOROKINA, N. M.; ZOLOTOVA, Y. A. Early Stages in the History of Gas Chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1537, p. 109-117, 2018.

KOTTADIYIL, Divya; THASALE, Rupal; DEORE, Shital; SIVAPERUMAL, P. Method Development and Optimisation for Analysis of Pesticider Residues in Biological Matrices by Modified QuEChERS and Gas Chromatography–Triple Quadrupole Mass Spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 104, n. 13, p. 3065–3079, 2024.

KRAVCHENKO, Mykhailo. Conceptually New Model of Gas Chromatography. **Journal of Chemistry and Technologies**, v. 32, n. 3, 2024.

KUMAR, Anuj; SHARMA, Chhaya. Recent Update of Various Sources Originating Ghost Peaks in Gas Chromatography: A Review. **Journal of Chromatography A**, v. 1685, 2022. LAAJIMI, Hela; GALLI, Federico; PATIENCE, G. S.; SCHIEPPATI, Dalma. Experimental Methods in Chemical Engineering: Gas chromatography - GC. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 100, p. 3123–3144, 2022.

LEE, Joon-Bae; JEONG, Y. A.; AHN M. D. J.; BANG, I. S. SPME-GC/MS Analysis of Methanol in Biospecimen by Derivatization with Pyran Compound. **Molecules**, v. 40, 2020. LEE, S. H.; KWAK M. S. Y.; SARKER, Aniruddha; MOON, J. K.; KIM, J. E. Optimization of a Multi-Residue Analytical Method during Determination of Pesticides in Meat Products by GC-MS/MS. **Foods**, v. 11, n. 19, 2022.

LEWIS, K.A.; TZILIVAKIS, J.; WARNER, D.; GREEN, A. **An International Database for Pesticide Risk Assessments and Management**. 4 dez. 2024. Disponível em: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/9.htm>. Acesso em: 02 dez. 2024.

LOPEZ, Luiz; KOGUT, Katie; RAUCH, Stephan; GUNIER, R. B.; WONG, M. P. HARRIS, Eva; DEARDORFF, Julianna; ESKENAZI, Brenda; HARLEY, K. G. Organophosphate Pesticide Exposure and Risk of SARS-CoV-2 Infection. **Environmental Research**, v. 255, 2024.

MATOLSCY, Gyorgy; NÁDASY, Miklós; ANDRISKA, Viktor. Pesticide Chemistry. Budapeste: Akadémiai Kiadó, v. 32, 1988.

MCCANN, S. P. Go With the Flow: Thinking About Carrier Gas Flow in GC. **LCGC North America**, v. 38, n. 3, 2020.

MCNAUGHT, A. D.; WILKINSON, A. **IUPAC: Compendium of Chemical Terminology – The Gold Book**. 2. ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1997. Atualizado pela IUPAC. Disponível em: <https://goldbook.iupac.org>. Acesso em 12 jan. 2025.

MENG, Hu; WEI, Yuyu; FENG, Liang. A Microchip Gas Chromatography Column Assembly With a 3D Metal Printing Micro Column Oven and a Flexible Stainless-Steel Column. **Journal of Chromatography A**, v. 1729, 2024.

MORATO, L. F. C.; RIZ, C.M.; PAZIN, W. M.; GOMES, O. P.; JÚNIOR, O. N. O.; BATAGIN-NETO, Augusto; CONSTANTINO, C. J. L. Effects of Insecticide Acephate on Membrane Mimetic Systems: The Role Played by Electrostatic Interactions with Lipid Polar Headgroups. **Journal of Molecular Liquids**, v. 332, 2021.

MOTA, W.M.; BARROS, M.L.; CUNHA, P.E.L.; SANTANA, M.V.A.; STEVAM, C.S.; LEOPOLDO, P.T.G., FERNANDES, R.P.M. Avaliação da Inibição da Acetilcolinesterase por Extratos de Plantas Medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.4, p.624-628, 2012.

NASCIMENTO, R.F.; LIMA, A.C.A.; BARBOSA, P.G.A.; SILVA, V.P.A. Cromatografia Gasosa: Aspectos teóricos e práticos. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2018.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. **PubChem**: Acephate. Washington, 2024. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1982>. Acesso em: 02 out. 2024.

NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Efeito de Matriz na Quantificação de Agrotóxicos por Cromatografia Gasosa. **Química nova**, v. 32, n. 4, 2009.

OLIVE, Joaquim; GRIMALT, J. O.; ITURRIAGA, Hortensia. Resolution of Overlapping Peaks in Gas and Liquid Chromatography: Evaluation of Different Statistical and Empirical Functions. **Analytica Chimica Acta**, v. 219 p. 257-272, 1989.

OLIVEIRA, M. C.; OLIVEIRA, J. K.; SILVA, J. B.; MENDES, L. G.; SILVA, F. S.; ALENCAR, M. S.; NOBRE, C. A.; COSTA, M. G. M.; LIMA, M. A.; MILHOME, A. L. Effect of Thermal Processing on The Degradation of Pesticides in a Banana Jam Partially Formulated with Banana Peel Flour. **Applied Food Research**, v. 4, n. 2, 2024.

OLLINAHOA, O. I.; PEDLOWSKIB, M. A.; KRÖGE, Markus. Toxic Turn in Brazilian Agriculture? The Political Economy of Pesticide Legalisation in Post-2016 Brazil. **Third World Quarterly**, v. 44, n. 3, p. 612–630, 2022.

PANIS, Carolina; CANDIOTTO, L. Z. P.; GABOARDI, S. C.; TEIXEIRA, G.T.; ALVES, F. M.; SILVA, J. C.; SCANDOLARA, T. B.; RECH, Daniel, GURZENDA, Susie; PONMATTAM, Jamie; OHM, Joyce, CASTRO, M. C.; LEMOS, Bernardo. Exposure to Pesticides and Breast Cancer in Agricultural Region in Brazil. **Environtental Science & Technology**, v. 58, n. 24, p. 10470–10481, 2024.

PANNU, A. K.; BHALLA, A.; VISHNU, R. I.; DHIBAR, D. P.; SHARMA, N.; VIJAYVERGIYA, R. Organophosphate Induced Delayed Neuropathy After an Acute Cholinergic Crisis in Self-Poisoning. **Clinical Toxicology**, v. 59, n. 6, 2020.

PÁPAI, Zs; PAP, T.L. Analysis of Peak Asymetry in Chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 953, n. 1-2, p. 31-38, 2002.

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, Susanne; AIROLDI, F. P.; REYES, F. G. Validação de Métodos Cromatográficos para a Determinação de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos. **Química Nova**, v. 31, n.5, p. 1190-1198, 2008

PAWLISZYN, Janusz. Comprehensive Sampling and Sample Preparation Analytical: Techniques for Scientists. 1 ed. Oxford: Academic Press, 2012.

POOLE, C. F.; Ionization-based Detectors for Gas Chromatograph. Elsevier: **Journal of Chromatography B**, v. 1421, p. 137-153, 2015.

POOLE, C. F.; LENCA, Nicole. Gas Chromatography in Wall-Coated Open-Tubular Columns with Ionic Liquid Stationary Phases. **Journal of Chromatography A**, v. 137, p. 87-109, 2014.

PRODHAN, M. D. H.; AFROZE, Marina; AFROZA, Begun; AHMED, M. S.; SARKER, D. Optimization of a QuEChERS Based Analytical Method for the Determination of Organophosphorus and Synthetic Pyrethroid Pesticide Residues in Betel Leaf. **International Journal of Enviromental Analytical Chemistry**, v. 103, n. 6, 2023.

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e Seus Respectivos Riscos Associados à Contaminação da Água. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003.

SAUDERS, B.C.; MCCOMBIE, H. Alkyl Fluorophosphonates: Preparation and Physiological Properties. **Nature**, vol. 137, n. 3984, p. 287-289, 1946.

SCION INSTRUMENTS. Normas Internas: O que são? Como Posso Escolher, Usar e me Beneficiar?. Disponível em: <https://scioninstruments.com/blog/internal-standards-what-are-they-how-do-i-choose-use-and-benefit-from-them/>. Acesso em: 12 jan. 2025.

SHIMADZU. Theoretical Plate Number and Symmetry Factor, 2024. Disponível em: https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/basic/theoretical_plate.html. Acesso em: 24 jan. 2025.

SHIVASHANMUGAM, C.; ARUN, C. Identification and Optimization of Parameters for the Semi-Continuous Production of Garbage Enzyme from Pre-Consumer Organic Waste by Green RP-HPLC Method. **Wasted Management**, v. 22, p. 28-33, 2015.

SILVÉRIO, F.O.; BARBOSA, L.C.A. A Pirólise como Técnica Analítica. **Química Nova**, Belo Horizonte, v. 31, n. 6, p. 1543-1552, 2008.

SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. Fundamentos de Química Analítica. 8 ed. Thomson, 2005.

The Nobel Prize. **Archer J. P. Martin**: Nominations. 2025. Disponível em: <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1952/martin/facts/>. Acesso em: 07 jan. 2025.

TUDI, Muyesaier; RUAN, H. D.; WANG, Li; LYU, Jia; SADLER, Ross; CONNELL, Des; CHU, Cordia; PHUNG, D. T. Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 3, p. 1-23, 2021.

UMETSU, Noriharu; SHIRAI, Yuichi. Development of Novel Pesticides in the 21st Century. **Journal of Pesticide Science**, v. 45, n. 2, p. 54-74, 2020.

United States Environmental Protection Agency. **EPA**: Proposes to Cancel All but One Use of Pesticide Acephate to Protect Human Health, 2024. 30 abr. 2024. Disponível em: <https://www.epa.gov/pesticides/epa-proposes-cancel-all-one-use-pesticide-acephate-protect-human-health>. Acesso em: 09 dez. 2024.

VOUTCHKOVA, D. D.; SCHULLENHNER, Jörg; SKAARUP, Carina; WODSCHOW, Kirstine; Ersbøll, A. K.; HANSEN, Birgitte. Estimating Pesticides in Public Drinking Water at the Household Level in Denmark. **Geological Survey of Denmark and Greenland**, v. 47, 2021.

WENG, Shizhuang; ZHU, Wenxiu; LI, Pan; YUAN, Hecai; ZHANG, Xueyan. ZHENG, Ling; ZHAO, Jinling; HUANG, Linsheng; HAN, Ping. Dynamic Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for the Detection of Acephate Residue in Rice by Using Gold Nanorods Modified with Cysteamine and Multivariate Methods. **Food Chemistry**, v. 310, 2020.

YAN, Wenjuan; ZHENG, Qun; ZHU, Shiqi; MIAO, Xiaoran; YANG, Liupeng; WU, Jian; WANG, Botong; ZHANG, Zhixiang; XU, Hanhong. Coating of Maize Seeds with Acephate for Precision Agriculture: Safety Assessment in Earthworms, Bees, And Soil Microorganisms. **Science of the Total Environment**, v. 943, 2024.

YANG, Ming; TIAN, Shili; LIU, Qingyang; YANG, Zheng; YANG, Yifan; SHAO, Peng; LIU, Yanju. Determination of 31 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Plant Leaves Using Internal Standard Method with Ultrasonic Extraction - Gas Chromatography - Mass Spectrometry. **Toxics**, v. 10, n. 634, 2022.

ZANG, Wenzhe; SHARMA, Ruchi; LI, M.W.; FAN, Xudong. Retention Time Trajectory Matching for Peak Identification in Chromatographic Analysis. **Sensors**, v. 23, p. 1-13 2023.

ZHANG, Li; HU, Qing; WANG, Jie; ZHANG, Huamin; HAN, Jiangbin. A Full-scale Tracing Study of “Ghost Peaks” Encountered in Impurity Analysis of Budesonide Based on Experimental Operation Inspection-Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Fingerprint-mechanism Based Stress Studies Integrated Strategy. **Journal of Separation Science**, v. 45, p. 2128-2139, 2022.