

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Instituto de Ciências Exatas**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

Josimar Marques Batista

**ABORDAGENS MULTIDIMENSIONAIS AVANÇADAS PARA A  
CARACTERIZAÇÃO DE POLUENTES AMBIENTAIS USANDO GC×GC/Q-TOFMS**

Belo Horizonte

2025

UFMG/ICEX/DQ. 1.651

T. 748

Josimar Marques Batista

**ABORDAGENS MULTIDIMENSIONAIS AVANÇADAS PARA A  
CARACTERIZAÇÃO DE POLUENTES AMBIENTAIS USANDO GC×GC/Q-TOFMS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências – Química.

Orientadora: Zenilda de Lourdes Cardeal

Belo Horizonte

2025



Ficha Catalográfica

B328a  
2025  
T

Batista, Josimar Marques.  
Abordagens multidimensionais avançadas para a caracterização de poluentes ambientais usando GCxGC/Q-TOFMS [manuscrito] / Josimar Marques Batista. 2025.  
284 f. : il., gráfs., tabs.

Orientadora: Zenilda de Lourdes Cardeal.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais – Departamento de Química.  
Bibliografia: f. 169-200.  
Apêndices: f. 201-284.

1. Química analítica – Teses. 2. Quimiometria – Teses. 3. Metabolômica – Teses. 4. Cromatografia a gás – Teses. 5. Espectrometria de massa – Teses. 6. Saúde ambiental – Teses. 7. Ar – Poluição – Belo Horizonte (MG) – Teses. 8. Ar – Poluição – Brumadinho (MG) – Teses. 9. Herbicidas – Teses. I. Cardeal, Zenilda de Lourdes, Orientadora. II. Título.

CDU 043



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

UFMG

Programa de Pós-Graduação em Química  
Departamento de Química - ICEX



## **"Abordagens Multidimensionais Avançadas Para A Caracterização de Poluentes Ambientais Usando GCxGC/Q-TOFMS"**

**Josimar Marques Batista**

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Profa. Zenilda de Lourdes Cardeal - Orientadora  
UFMG

Profa. Adriana Nori de Macedo  
UFMG

Profa. Leiliane Coelho André  
UFMG/Farmácia

Prof. Leandro Wang Hantao  
UNICAMP

Prof. Madson Moreira Nascimento  
SENAI CIMATEC

Belo Horizonte, 21 de maio de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Zenilda de Lourdes Cardeal, Professora do Magistério Superior**, em 22/05/2025, às 09:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Madson Moreira Nascimento, Usuário Externo**, em 22/05/2025, às 11:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adriana Nori de Macedo, Professora do Magistério Superior**, em 22/05/2025, às 15:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leandro Wang Hantao, Usuário Externo**, em 23/05/2025, às 06:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Leiliane Coelho Andre, Professor(a)**, em 23/05/2025, às 15:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **4219194** e o código CRC **ADAA4122**.

Ao espírito do meu querido irmão Josiney  
Batista.

## AGRADECIMENTOS

Sou grato, primeiramente, a Deus, aos orixás, aos espíritos amigos e à minha família. Especialmente, à minha mãe, Marlene, ao meu pai, José Adão, à minha irmã, Josiene, ao meu irmão, Josiney (*desencarnado*), à minha avó, Jasmira, e ao meu avô, Sebastião (*desencarnado*), que constituem o meu alicerce e me formaram através da humildade, da ética e do amor.

Aos meus amigos de longa data, Giovany, Marlon (*desencarnado*), Dian, Ronaldo, Ícaro, Josiane (Jojô) e Rodrigo, pelas vivências compartilhadas e pelo apoio incondicional. Às minhas amigas de pouca data, mas de longa fidelidade, Dulce e Cássia, pelo companheirismo inabalável.

À minha prima Kátia, por ter me apresentado a UFMG, em tempos longínquos, mas esperançosos. À D. Cele e à Gláucia, minhas conterrâneas, por terem sido determinantes para a minha vinda para Belo Horizonte, em uma época de muitas dificuldades.

Aos queridos e queridas colegas do Laboratório 171 (DQ-UFMG), que fizeram parte desta caminhada nada florida, mas de grandes conquistas: Nayara, Rosi, Gabriela (*desencarnada*), Lucas Martins, Mirra, Samantha e Nathan. Aos amados e amadas do Laboratório Biolink (ICB-UFMG), pelos maravilhosos e terapêuticos momentos entre bancadas, cafés e experimentos: Majito, Clara, Thaís, Érica, Vanessa, Michele e Gislene.

À Profa. Zenilda e ao Prof. Helvécio, pela orientação de longa data. Ao Prof. Dawidson, pela parceria, pela maestria em ensinar e pela beleza do cuidado com seus estudantes. A todas e todos os professores que fizeram parte da minha formação, por me guiarem no caminho mágico do conhecimento.

À FAPEMIG, ao CNPq e à Capes, pelo financiamento dos projetos que participei.

À UFMG e à FUMP, pelas oportunidades e apoios determinantes para que este momento chegasse.

Senhor,  
Fazei de mim um instrumento de vossa Paz.  
Onde houver Ódio, que eu leve o Amor,  
Onde houver Ofensa, que eu leve o Perdão.  
Onde houver Discórdia, que eu leve a União.  
Onde houver Dúvida, que eu leve a Fé.  
Onde houver Erro, que eu leve a Verdade.  
Onde houver Desespero, que eu leve a Esperança.  
Onde houver Tristeza, que eu leve a Alegria.  
Onde houver Trevas, que eu leve a Luz!

Ó Mestre,  
fazei que eu procure mais:  
consolar, que ser consolado;  
compreender, que ser compreendido;  
amar, que ser amado.  
Pois é dando, que se recebe.  
Perdoando, que se é perdoado e  
é morrendo, que se vive para a vida eterna!

*Assim seja!*

**Oração de São Francisco**

## RESUMO

Esta tese apresenta três estudos inovadores em saúde ambiental usando a técnica avançada de cromatografia a gás bidimensional abrangente acoplada a espectrômetro de massas híbrido do tipo quadrupolo-tempo de voo (GC×GC/Q-TOFMS). No primeiro estudo, foi desenvolvido e validado um método analítico baseado em GC×GC/Q-TOFMS, usando derivatização por propil cloroformato/propanol, para a análise (*untargeted* e *targeted*) de metabólitos em amostras de extratos de células de fibroblastos de pele humana expostas ao herbicida Roundup®. A abordagem *untargeted* permitiu identificar 379 compostos de classes metabólicas diversificadas, incluindo ácidos graxos, álcoois, hidrocarbonetos, cetonas, aldeídos, aminas e amidas, enquanto a estratégia *targeted* quantificou 21 aminoácidos com alta especificidade. O tratamento dos dados revelou um painel de 7 potenciais biomarcadores altamente discriminatórios: metilcisteína e *N*-acetil-L-metionina (alterações no metabolismo de enxofre), metil estearato e ácido linoleico (disfunção lipídica), L-ácido glutâmico, L-cisteína e ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) (desregulação neurotransmissora). A identificação do GABA e de intermediários lipídicos sugeriu mecanismos toxicológicos associados a estresse oxidativo e neurotoxicidade, alinhando-se a estudos recentes sobre o impacto do glifosato em vias metabólicas críticas. No segundo estudo, foi desenvolvido um método analítico de alta resolução baseado em GC×GC, usando microextração em fase sólida por imersão direta (DI-SPME), para análise *untargeted* de material particulado (PTS e MP<sub>2,5</sub>). As amostras foram coletadas no município de Brumadinho/Minas Gerais, após o rompimento da barragem de rejeitos de mineração localizada no Córrego do Feijão. O estudo identificou 382 compostos orgânicos nas amostras atmosféricas, abrangendo classes de toxicidade crítica para a saúde humana, como agrotóxicos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e outros compostos orgânicos voláteis (VOCs). Os resultados constituíram a primeira evidência analítica robusta da contaminação atmosférica pós-rompimento, catalisando ações emergenciais. Por fim, o terceiro trabalho consistiu na aplicação de ferramentas de planejamento e otimização de experimentos no desenvolvimento de um método GC×GC para análise *untargeted* de material particulado (MP<sub>2,5</sub>) coletado em Belo Horizonte/MG, usando extração por DI-SPME. O estudo investigou contrastes da contaminação do ar entre duas regiões de Belo Horizonte: uma região predominantemente de preservação florestal (Parque Ecológico da UFMG), considerada referência de baixo impacto antrópico; e outra em zona urbana de alta densidade veicular (Portaria 1 da UFMG, situada na Av. Antônio Carlos). Utilizando GC×GC/Q-TOFMS, foram identificados 189 compostos orgânicos voláteis e semivoláteis nas amostras coletadas. Dentre estes, destacaram-se plastificantes e derivados de HPAs. Os resultados indicaram transporte atmosférico de poluentes da zona urbana para regiões naturais de Belo Horizonte, como a Estação Ecológica da UFMG. Os resultados expõem a vulnerabilidade de ecossistemas urbanos a dinâmicas atmosféricas, onde mesmo áreas protegidas sofrem infiltração de poluentes de origem veicular e industrial.

**Palavras-chave:** GC×GC; glifosato; metabolômica; quimiometria; material particulado.

## ABSTRACT

This thesis presents three innovative studies in environmental health using the advanced technique of comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with hybrid quadrupole time-of-flight mass spectrometer (GC×GC/Q-TOFMS). In the first study, an analytical method based on GC×GC/Q-TOFMS, using propyl chloroformate/propanol derivatization, was developed and validated for the analysis (untargeted and targeted) of metabolites in samples of human skin fibroblast cell extracts exposed to the herbicide Roundup®. The untargeted approach allowed the identification of 379 compounds from diverse metabolic classes, including fatty acids, alcohols, hydrocarbons, ketones, aldehydes, amines, and amides, while the targeted strategy quantified 21 amino acids with high specificity. Data analysis revealed a panel of 7 highly discriminatory potential biomarkers: methylcysteine and *N*-acetyl-L-methionine (alterations in sulfur metabolism), methyl stearate and linoleic acid (lipid dysfunction), L-glutamic acid, L-cysteine and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) (neurotransmitter dysregulation). The identification of GABA and lipid intermediates suggested toxicological mechanisms associated with oxidative stress and neurotoxicity, in line with recent studies on the impact of glyphosate on critical metabolic pathways. In the second study, a high-resolution analytical method based on GC×GC, using direct immersion solid-phase microextraction (DI-SPME), was developed for untargeted analysis of particulate matter (PTS and PM<sub>2.5</sub>). The samples were collected in Brumadinho/MG after the collapse of the mining tailings dam in Córrego do Feijão. The study identified 382 organic compounds in the atmospheric samples, covering classes of critical toxicity for human health, such as pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), and other volatile organic compounds (VOCs). The results constituted the first robust analytical evidence of post-failure atmospheric contamination, catalyzing emergency actions. Finally, the third work consisted of applying design of experiments and optimization tools in developing a GC×GC method for untargeted analysis of particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) collected in Belo Horizonte/Minas Gerais, using DI-SPME extraction. The study investigated contrasts in air contamination between two regions of Belo Horizonte: a predominantly forested region (UFMG Ecological Park), considered a reference for low anthropogenic impact, and another in an urban area with high vehicle density (UFMG Entrance 1, located on Antônio Carlos Avenue). Using GC×GC/Q-TOFMS, 189 volatile and semi-volatile organic compounds were identified in the collected samples. Among these, plasticizers and PAH derivatives stood out. The results indicated atmospheric transport of pollutants from the urban area to natural regions of Belo Horizonte, such as the UFMG Ecological Park. The results expose the vulnerability of urban ecosystems to atmospheric dynamics, where protected areas suffer infiltration of pollutants from vehicular and industrial sources.

**Keywords:** GC×GC; glyphosate; metabolomics; chemometrics; particulate matter.



## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1.1 - Evolução da importação de agrotóxicos pelo Brasil e sua contribuição no mercado mundial. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 29 |
| Figura 1.2 - Classificação dos agrotóxicos pela composição química. Adaptado de Hassaan e El Nemr (2020). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 31 |
| Figura 1.3 - Esquema de um sistema GC×GC, mostrando as duas colunas conectadas em série, através de um modulador. A primeira coluna ( <sup>1</sup> D) tem comprimento de 30 a 60 m e a segunda coluna ( <sup>2</sup> D) geralmente mede de 0,5 a 2 m. Fonte: adaptado de Ramos <i>et al.</i> (2009). ....                                                                                                                          | 37 |
| Figura 1.4 - Esquema do processo de visualização dos dados adquiridos por GC×GC. Fonte: adaptado de Ramos <i>et al.</i> (2009). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 38 |
| Figura 2.1 - a) Estrutura química da molécula de glifosato. b) Espécies iônicas do glifosato, de acordo com o pH do meio. Fonte: Borggaard e Gimsing (2008). ....                                                                                                                                                                                                                                                                  | 41 |
| Figura 2.2 - Produção nacional, importações, exportações e vendas totais de glifosato ao longo dos anos de 2009 a 2022. Fonte: IBAMA (2023). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 42 |
| Figura 2.3 - Dados do comércio brasileiro de agrotóxicos para o ano de 2022: a) vendas de glifosato por estado da federação, b) ingredientes ativos mais vendidos e c) vendas por classe de uso dos produtos formulados. 2,4-d: ácido 2,4-diclorofenoxiacético. Fonte: IBAMA (2023). ....                                                                                                                                          | 43 |
| Figura 2.4 - Estados brasileiros com os maiores valores brutos de produção (VBP) do agronegócio brasileiro. SP: São Paulo, MT: Mato Grosso, PR: Paraná, MG: Minas Gerais, RS: Rio Grande do Sul, GO: Goiás, MS: Mato Grosso do Sul, SC: Santa Catarina, BA: Bahia, PA: Pará. ....                                                                                                                                                  | 44 |
| Figura 2.5 - Via do chiquimato (essencial para a vida de plantas), com destaque para a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), alvo do glifosato. Fonte: adaptado de Schönbrunn <i>et al.</i> (2001). ....                                                                                                                                                                                                       | 45 |
| Figura 2.6 - Vias de biodegradação do glifosato a AMPA e o subproduto glioxilato. Fonte: adaptado de Borggaard e Gimsing (2008). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 46 |
| Figura 2.7 - Estrutura da pele humana, com suas camadas e os fibroblastos em destaque. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 47 |
| Figura 2.8 - Fluxograma das ferramentas utilizadas no estudo da exposição de fibroblastos humanos ao GLYP-R. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 69 |
| Figura 2.9 - Curva de proliferação de células HDFa ( $n = 3$ ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 70 |
| Figura 2.10 - a, c e d) Metabolização de resazurina pelas células HDFa exposta a diferentes concentrações de GLYP-R (10,0 a 400,0 mg L <sup>-1</sup> ), em diferentes tempos (24, 48 e 72 h). b) Curva de dose-dependência do efeito citotóxico de GLYP-R considerando o período de exposição de 24 h ( $n = 5$ ). CT(+): células com Triton 0,2 %; CT(-): apenas células. * $p < 0,05$ , ** $p < 0,01$ , **** $p < 0,0001$ . .... | 72 |
| Figura 2.11 - Metabolização de resazurina pelas células HDFa exposta a diferentes concentrações de GLYP (10,0 a 400,0 mg L <sup>-1</sup> ), em diferentes tempos (24, 48 e 72 h), $n = 5$ . CT(+): células com Triton 0,2 %; CT(-): apenas células. ....                                                                                                                                                                           | 73 |
| Figura 2.12 - Metabolização de resazurina pelas células HDFa expostas a AMPA e GLYP, nas concentrações de 10,0 a 400,0 mg L <sup>-1</sup> , em dois tratamentos (AMPA puro e mistura AMPA + GLYP), em diferentes tempos (24, 48 e 72 h), $n = 5$ . CT(+): células com Triton 0,2 %; CT(-): apenas células. * $p < 0,05$ , ** $p < 0,01$ , **** $p < 0,0001$ . ....                                                                 | 74 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 2.13 - a) Imagens representativas das células sem marcação (campo claro), marcadas com Hoechst (azul) e PI (vermelho) em diferentes condições de exposição ao GLYP-R e do CT (células não expostas), barra de escala de 400 $\mu\text{m}$ . b) Porcentagem de células mortas por necrose (média com desvio-padrão, $n = 10$ ) induzida pela exposição ao GLYP-R, construído pela razão do número de células marcadas com PI pelo número de células marcadas com Hoechst. ....                                                                                                                                     | 76 |
| Figura 2.14 - Efeito da concentração de $\text{H}_2\text{O}_2$ na indução de estresse oxidativo. Controle negativo (CT-): células não tratadas com $\text{H}_2\text{O}_2$ . Os experimentos foram realizados com $n = 5$ ; $**p < 0,01$ , $***p < 0,001$ . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 77 |
| Figura 2.15 - Fluorescência emitida por células marcadas com carboxi- $\text{H}_2\text{DCFDA}$ não expostas (CT-), expostas a $\text{H}_2\text{O}_2$ 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (CT+) e a diferentes concentrações de GLYP-R; $n = 5$ . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 78 |
| Figura 2.16 - Esquema do procedimento de derivatização por MCF baseado no trabalho de Villas-Bôas <i>et al.</i> (2003). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 79 |
| Figura 2.17 - a) Diagrama de cores para amostra de extrato celular (controle) derivatizado com MCF/MeOH. b) Região ampliada do mesmo diagrama nas regiões de $6,5 \text{ min} < t_R < 30 \text{ min}$ e $1 \text{ min} < t_R < 4 \text{ min}$ . Sarcosina (Sar), L-Alanina (Ala), Glicina (Gly), L-Valina (Val), L-Norvalina (Norv), L-Leucina (Leu), L-Isoleucina (Ile), L-Treonina (Thr), L-Serina (Ser), L-Prolina (Pro), L-Metionina (Met), L-Ácido aspártico (Asp), L-Fenilalanina (Phe), L-Ácido glutâmico (Glu), L-Cisteína (Cys), L-Lisina (Lys), L-Tirosina (Tyr), L-Triptofano (Trp). IS: padrão interno. .... | 81 |
| Figura 2.18 - Esquema do procedimento de derivatização por PCF/PrOH otimizado em trabalho anterior (Batista <i>et al.</i> , 2020). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 82 |
| Figura 2.19 - Diagramas de cores dos extratos celulares derivatizados com PCF/PrOH usando as temperaturas de ionização de a) 200 $^{\circ}\text{C}$ e b) 250 $^{\circ}\text{C}$ . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 85 |
| Figura 2.20 - Cromatograma de íon extraído (EIC) dos 21 derivados de AA de uma solução 1,0 $\text{mg L}^{-1}$ com o padrão interno (IS) L-norvalina adicionado. Sarcosina (Sar), L-Alanina (Ala), L-Glutamina (Gln), Glicina (Gly), L-Asparagina (Asn), L-Valina (Val), L-Norvalina (Norv), L-Leucina (Leu), L-Isoleucina (Ile), L-Treonina (Thr), L-Serina (Ser), $\gamma$ -Ácido aminobutírico (GABA), L-Prolina (Pro), L-Metionina (Met), L-Ácido aspártico (Asp), L-Fenilalanina (Phe), L-Ácido glutâmico (Glu), L-Cisteína (Cys), L-Lisina (Lys), L-Histidina (His), L-Tirosina (Tyr), L-Triptofano (Trp). ....     | 86 |
| Figura 2.21 - Volumes de pico de 21 AA utilizados na otimização univariada do preparo de extratos de metabólitos, em que foram avaliadas as etapas de liofilização (a), solvente de extração (b) e solução tampão de lise (c), com $n = 3$ . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 91 |
| Figura 2.22 - Protocolo otimizado de <i>quenching</i> , <i>cell harvesting</i> e extração dos metabólitos. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 92 |
| Figura 2.23 - Diagramas de cores da análise <i>untargeted</i> de metabólitos: A) extrato de células não expostas, B) extrato de células expostas ao GLYP-R. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 93 |
| Figura 2.24 - Volcano plot dos 400 metabólitos identificados nas amostras de células expostas e não expostas ao GLYP-R. Fold change (FC) threshold: 2.0, $p$ -value threshold: 0.05. O eixo $y$ , $\log_{10}(p\text{-value})$ , mede a diferença estatística entre os dois grupos de amostras, enquanto o eixo $x$ , $\log_2(FC)$ , mede a magnitude da mudança dos valores entre os dois grupos. ....                                                                                                                                                                                                                   | 95 |
| Figura 2.25 - Scores de PC 1 $\times$ PC 2 e PC 1 $\times$ PC 3 (a, b) e <i>loadings</i> de PC 1 $\times$ PC 2 (c) do modelo PCA dos dados normalizados da análise <i>untargeted</i> . Dendrograma                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| do modelo HCA (d), aplicando distância euclidiana e o algoritmo <i>ward clustering</i> . GLYP-R: células expostas, controle: células não expostas. ....                                                                                                                                                                                                                                                               | 97  |
| Figura 2.26 - Resultados do modelo PLS-DA: a) validação cruzada <i>leave-one-out</i> indicando o número ótimo de variáveis latentes (asterisco), b) teste de permutação, c) <i>scores</i> de LV 1 × LV 2 e d) os 15 maiores VIP <i>scores</i> de LV 1. 3,4-MDB: 3,4-metilenedioxibenzaldeído, 6-amino-9H-purina-9-PA: ácido 6-amino-9H-purina-9-propanoico. ....                                                      | 99  |
| Figura 2.27 - Modelo de potenciais biomarcadores <i>untargeted</i> de células HDFa expostas ao GLYP-R: a) curvas ROC para modelos com diferentes quantidades de metabólitos, b) gráfico de previsão de classificação mostrando que apenas uma amostra foi incorretamente classificada e c) os 4 metabólitos do modelo de potenciais biomarcadores. $n(\text{GLYP-R}) = 13$ , $n(\text{controle}) = 11$ . ....         | 101 |
| Figura 2.28 - a) Redes de vias metabólicas associadas aos 25 metabólitos de maiores VIP <i>scores</i> e (b, c) avias mais importantes na diferenciação das amostras. O tamanho do círculo corresponde à contribuição da via e a cor indica o <i>p</i> -valor. ....                                                                                                                                                    | 102 |
| Figura 2.29 - Resultado gráfico da análise feita no módulo Pathway impact analysis, com os 25 metabólitos de maiores VIP <i>scores</i> . Método de visualização: scatter plot ( <i>testing significant features</i> ); método de <i>enrichment</i> : teste hipergeométrico; medida de topologia: <i>relative-betweenness centrality</i> ; metaboloma de referência: compostos da biblioteca de vias selecionada. .... | 103 |
| Figura 2.30 - Quantidades relativas de potenciais biomarcadores <i>untargeted</i> nas amostras; $n(\text{GLYP-R}) = 13$ , $n(\text{controle}) = 12$ . ....                                                                                                                                                                                                                                                            | 104 |
| Figura 2.31 - Aminoácidos quantificados nas amostras. $n(\text{GLYP-R}) = 13$ , $n(\text{controle}) = 12$ . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 107 |
| Figura 2.32 - <i>Heatmap</i> dos AA quantificados em amostras de células expostas e não expostas ao GLYP-R. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 108 |
| Figura 2.33 - Gráficos de <i>scores</i> dos dados normalizados de concentração de AA nas amostras: a) PC 1 × PC 2 e b) PC 2 × PC 3. c) Gráfico de <i>loadings</i> de PC 1 × PC 2. d) Dendrograma do modelo HCA, aplicando distância euclidiana e o algoritmo <i>ward clustering</i> . ....                                                                                                                            | 109 |
| Figura 2.34 - a) LOOCV aplicada aos dados normalizados de concentração de AA nas amostras, indicando 5 LVs como a melhor escolha para a construção do modelo PLS-DA. b) Teste de permutação utilizando B/W com 1000 permutações. c) Gráfico de <i>scores</i> de LV 1 × LV 2. d) Os 15 AA de maiores VIP <i>scores</i> em LV 1. ....                                                                                   | 110 |
| Figura 2.35 - Gráficos da análise ROC: (a) avaliação de desempenho do diagnóstico com AUROC, (b) desempenho de classificação de amostras e (c) importância de cada AA no modelo de biomarcador <i>targeted</i> da exposição ao GLYP-R. $n(\text{GLYP-R}) = 13$ , $n(\text{controle}) = 12$ . ....                                                                                                                     | 111 |
| Figura 2.36 - Concentrações de AA nas amostras; $n(\text{GLYP-R}) = 13$ , $n(\text{controle}) = 12$ . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 112 |
| Figura 3.1 - a) Amostrador AGV para monitoramento de PTS, MP <sub>2,5</sub> ou MP <sub>10</sub> . b e c) Amostrador ARA, modelo N-FRM, para monitoramento de MP <sub>2,5</sub> ou MP <sub>10</sub> . Fontes: ARA Instruments (USA) e ENERGÉTICA. ....                                                                                                                                                                 | 116 |
| Figura 3.2 - Ilustração do procedimento de extração por HS-SPME com dessorção no injetor de um cromatógrafo a gás. Fonte: García <i>et al.</i> (2021). ....                                                                                                                                                                                                                                                           | 117 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 3.3 - Mapa destacando os pontos de coleta (em amarelo) e a região da Mina do Feijão. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 121 |
| Figura 3.4 - a) Amostrador do tipo AGV utilizado nas campanhas de amostragem de PTS região de Brumadinho. b) Amostrador do tipo AMV utilizado nas campanhas de amostragem de MP <sub>2,5</sub> na região de Brumadinho. ....                                                                                                                                                                                                                                                     | 122 |
| Figura 3.5 - Diagramas de cores obtidos como resultados dos testes de escolha da fibra de SPME, utilizando a amostra H-Q-PTS-P5-3. (A) Fibra de DVB/CAR/PDMS. (B) Fibra de PA. (C) Fibra de PDMS/DVB. (D) Fibra de CAR/PDMS. Não foi observado efeito memória, com base em cromatogramas de brancos das fibras. ....                                                                                                                                                             | 127 |
| Figura 3.6 - Diagrama de cores de amostras de MP. (A) H-Q-PTS-P2-1 (Campanha 1). (B) A-Q-PM2,5-P2-8 (Campanha 2) mostrando as principais classes de compostos identificados. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 129 |
| Figura 3.7 - Distribuição dos VOCs por ponto de amostragem da campanha 1. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 130 |
| Figura 3.8 - Distribuição dos VOCs por ponto de amostragem da campanha 2. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 130 |
| Figura 3.9 - Modelo PCA construído com os dados do conjunto C1 centrados na média ( $n = 80$ ): a) autovalores em função do número de componentes principais, b) amostras anômalas ( <i>outliers</i> ) indicadas por valores elevados de resíduos $Q$ e Hotelling $T^2$ , c) <i>scores</i> de PC 1 $\times$ PC 2 e d) <i>loadings</i> de PC 1 $\times$ PC 2. ....                                                                                                                | 135 |
| Figura 3.10 - Modelo PLS-DA construído com os dados do conjunto C1 centrados na média ( $n_{MP2,5} = 40$ , $n_{PTS} = 40$ ): a) <i>scores</i> de LV 1 $\times$ LV 2 com as elipses de confiança delimitando as classes MP <sub>2,5</sub> e PTS (limite de confiança de 95 %), b) valores do limite de discriminação das classes (linha pontilhada vermelha) e de Y predito para os subconjuntos de calibração e validação, c) vetores de regressão e d) VIP <i>scores</i> . .... | 137 |
| Figura 3.11 - Modelo PCA construído com os dados do conjunto C2 centrados na média ( $n = 65$ ): a) <i>scores</i> de PC 1 $\times$ PC 2 (quadrante amarelo: amostras MP <sub>2,5</sub> -P2) e de b) PC 1 $\times$ PC 3 (quadrante amarelo: amostras PTS-P2), c) <i>loadings</i> de PC 1, d) PC 2 e e) PC 3. ....                                                                                                                                                                 | 139 |
| Figura 3.12 - Diagramas de Venn mostrando os compostos responsáveis pela separação das amostras de MP <sub>2,5</sub> (●) e PTS (●) do ponto P2 (interseções), bem como os compostos responsáveis pela discriminação global de amostras de MP <sub>2,5</sub> (●) e PTS (●). ....                                                                                                                                                                                                  | 141 |
| Figura 3.13 - Modelo PLS-DA construído com os dados do conjunto C2 centrados na média ( $n_{MP2,5} = 32$ , $n_{PTS} = 33$ ): a) valores do limite de discriminação das classes (linha pontilhada vermelha) e de Y predito para os subconjuntos de calibração e validação, b) vetores de regressão e c) VIP <i>scores</i> . ....                                                                                                                                                  | 142 |
| Figura 4.1 - Imagem de satélite indicando os pontos de amostragem de MP <sub>2,5</sub> (distantes aproximadamente de 1,8 km). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 149 |
| Figura 4.2 - Gráfico de paretos com os efeitos significativos do planejamento fatorial fracionário 2 <sup>IV</sup> 4 – 1. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 152 |
| Figura 4.3 - Resultados gráficos da otimização: influência do a) período de modulação na resposta, b) da duração do jato quente e c) da vazão de jato frio. d, e) Superfícies de resposta para o planejamento fatorial e f) para o planejamento Doehlert, com $P_M$ fixado em 6 s. ....                                                                                                                                                                                          | 153 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 4.4 - <i>Heatmap</i> das intensidades de pico dos compostos mais abundantes identificados em amostras de MP <sub>2,5</sub> . ECO01 a ECO17 representam as amostras de filtro coletadas no ponto ECO; PAC01 a PAC16 representam as amostras de filtro coletadas no ponto PAC. O número após ECO e PAC é o dia de amostragem.....                                                                                                                                                                                  | 155 |
| Figura 4.5 - Distribuição por classe química de compostos identificados em amostras de MP <sub>2,5</sub> coletadas em PAC e ECO. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 156 |
| Figura 4.6 - Compostos tóxicos representativos identificados em amostras de MP <sub>2,5</sub> , de acordo com suas classes químicas. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 157 |
| Figura 4.7 - <i>Boxplots</i> de alguns derivados de HPA identificados em amostras de MP <sub>2,5</sub> (após remoção de <i>outliers</i> ). 9-etil-1,2,3,4,5,6,7,8-octa-hidroantraceno ( $n = 16$ para ECO e $n = 15$ para PAC); 2,7-diterc-butil-1,2,3,4-tetra-hidronaftaleno ( $n = 5$ para ECO e $n = 8$ para PAC); 9,10-di-hidrofenantreno-9-carbonitrila ( $n = 17$ para ECO e $n = 16$ para o PAC); (8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> )-11-metil-8,9-di-hidrobenzo[ <i>b</i> ]fenantreno-8,9-diol ( $n = 13$ para PAC). .... | 159 |
| Figura 4.8 - <i>Boxplots</i> das intensidades de pico do DBP, de acordo com os locais de amostragem ( $n = 5$ para ECO e $n = 13$ para PAC). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 160 |
| Figura 4.9 - Gráficos de <i>scores</i> do modelo PCA construído com os dados centrados na média. (A) PC 1 × PC 2; (B) PC 2 × PC 3. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 161 |
| Figura 4.10 - Gráficos de <i>loadings</i> do modelo PCA: (A) para PC 1 e (B) PC 1 × PC 3. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 162 |
| Figura 4.11 - Gráficos de <i>scores</i> do modelo PCA dos dados centrados na média. (A) PC 1 × PC 3; (B) PC 1 × PC 4. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 164 |
| Figura A1 - Diagramas de cores dos extratos celulares derivatizados com PCF/PrOH usando diferentes períodos de modulação: a) $P_M = 4$ s, b) $P_M = 5$ s e c) $P_M = 6$ s. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 201 |
| Figura A2 - Diagramas de cores dos extratos celulares derivatizados com PCF/PrOH usando diferentes tempos de janto quente: a) 0,3 s; b) 0,8 s; c) 1,0 s e d) 1,2 s. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 202 |
| Figura A3 - Diagrama de cores de extratos de células controle (não expostas ao GLYP-R), não submetidos à liofilização (A) e submetidos (B). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 203 |
| Figura A4 - <i>Heatmap</i> dos dados normalizados mostrando os 100 metabólitos mais intensos em células expostas e não expostas ao GLYP-R. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 216 |
| Figura A5 - Normalização dos <i>features</i> antes dos tratamentos estatísticos. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 217 |
| Figura A6 - Avaliação de <i>outliers</i> usando a ferramenta Random Forest. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 218 |
| Figura A7 - Normalização de <i>features</i> após a remoção de <i>outlier</i> , fornecendo melhor distribuição normal (curva gaussiana com formato mais similar ao de um “sino”). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 219 |
| Figura A8 - Porcentagem de variância explicada de acordo com o número de PCs. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 220 |
| Figura A9 - Sistema GC×GC utilizado na otimização do procedimento de extração de VOCs/agrotóxicos e nas análises de amostras de MP. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 223 |
| Figura A10 - Diagramas de cores mostrando os resultados da otimização do período de modulação. (A) $P_M = 6$ s. (B) $P_M = 8$ s. Foi utilizada um mistura-padrão de agrotóxicos (500,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ ). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 224 |
| Figura A11 - (A) Diagrama de cores da amostra de código H-Q-PTS-P1-4. (B) Diagrama de cores da amostra de código A-Q-PM2,5-P1-4. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 225 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura A12 - Modelo PCA construído com os dados do conjunto C1 + C2 centrados na média ( $n = 145$ ): a) autovalores em função do número de componentes principais, b) <i>scores</i> de PC 1 $\times$ PC 2 e c) <i>loadings</i> de PC 2.....                                                                                                                                                                                                                                                                      | 272 |
| Figura A13 - Resultado gráfico do teste de permutação ( $n = 50$ permutações) para amostras do conjunto C1. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 273 |
| Figura A14 - Avaliação do desempenho de classificação do modelo PLS-DA dos dados de C1 usando curvas ROC: a) curva ROC para a classe MP <sub>2,5</sub> ; b) escolha do <i>threshold</i> bayesiano (limite de discriminação da classe) para a classe MP <sub>2,5</sub> , com base na maximização simultânea da sensibilidade e da especificidade; c) curva ROC para a classe PTS; d) escolha do <i>threshold</i> bayesiano para a classe PTS. C: calibração, CV: <i>cross validation</i> (validação cruzada). .... | 274 |
| Figura A15 - Resultado gráfico do teste de permutação ( $n = 50$ permutações) para amostras do conjunto C2. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 275 |
| Figura A16 - Avaliação do desempenho de classificação do modelo PLS-DA dos dados de C2 usando curvas ROC: a) curva ROC para a classe MP <sub>2,5</sub> ; b) escolha do <i>threshold</i> bayesiano para a classe MP <sub>2,5</sub> ; c) curva ROC para a classe PTS; d) escolha do <i>threshold</i> bayesiano para a classe PTS. C: calibração, CV: <i>cross validation</i> (validação cruzada). ....                                                                                                              | 276 |
| Figura A17 - Diagramas de cores de duas amostras de MP <sub>2,5</sub> representativas dos pontos de coleta ECO (a) e PAC (b). ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 283 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela 2.1 - Estudos de exposição de fibroblastos humanos a agrotóxicos, sem o uso de metabolômica. ....                                                                                                                                                                                       | 49  |
| Tabela 2.2 - Principais características dos diferentes métodos de validação cruzada. Adaptado de Wise <i>et al.</i> (2006). ....                                                                                                                                                               | 52  |
| Tabela 2.3 - Principais trabalhos de metabolômica da exposição de células, humanos e animais ao glifosato. ....                                                                                                                                                                                | 55  |
| Tabela 2.4 - Estruturas químicas dos produtos de reações de derivatização de aminoácidos com MSTFA e alquilcloroformatos. Adaptado de Kaspar <i>et al.</i> (2009). ....                                                                                                                        | 58  |
| Tabela 2.5 - Tempos de retenção e razões massa/carga ( $m/z$ ) dos derivados de aminoácidos utilizados na validação do método. ....                                                                                                                                                            | 87  |
| Tabela 2.6 - Parâmetros de validação do método GC×GC. ....                                                                                                                                                                                                                                     | 88  |
| Tabela 3.1 - Pontos de coleta das duas campanhas de amostragem. ....                                                                                                                                                                                                                           | 121 |
| Tabela 3.2 - Nome comum, número CAS, fórmula molecular, coeficiente de partição octanol-água ( $\log K_{ow}$ ) e solubilidade em água de agrotóxicos selecionados (mais comumente usados no setor agrícola). ....                                                                              | 124 |
| Tabela 3.3 - Compostos de elevada toxicidade para humanos e sua distribuição por pontos de amostragem. ....                                                                                                                                                                                    | 131 |
| Tabela 4.1 - Condições experimentais da matriz Doehlert. ....                                                                                                                                                                                                                                  | 150 |
| Tabela A1 - Composição da solução tampão NETN (NaCl, EDTA, Tris-base, Nonidet P-40), pH 8,0. ....                                                                                                                                                                                              | 203 |
| Tabela A2 - Nomes dos compostos identificados nas amostras de extratos celulares, identificação CAS, dados de retenção e de fragmentação $m/z$ . ....                                                                                                                                          | 204 |
| Tabela A3 - Resultados da análise <i>untargeted</i> de enriquecimento ( <i>enrichment</i> ) de vias metabólicas. ....                                                                                                                                                                          | 220 |
| Tabela A4 - Metabólitos usados nas análises de vias metabólicas e seus identificadores HMDB, PubChem e KEGG. ....                                                                                                                                                                              | 221 |
| Tabela A5 - Nomes e importância ( <i>impact</i> ) das vias metabólicas na análise <i>untargeted</i> de metabólitos. ....                                                                                                                                                                       | 222 |
| Tabela A6 - Compostos identificados nas amostras de PTS e MP <sub>2,5</sub> das campanhas 1 e 2. ....                                                                                                                                                                                          | 226 |
| Tabela A7 - Compostos identificados (em inglês) na fração MP <sub>2,5</sub> do material particulado coletado na Campanha 1. ....                                                                                                                                                               | 236 |
| Tabela A8 - Compostos identificados (em inglês) na fração MP <sub>2,5</sub> do material particulado coletado na Campanha 2. ....                                                                                                                                                               | 248 |
| Tabela A9 - Compostos identificados (em inglês) na fração PTS do material particulado coletado na Campanha 1. ....                                                                                                                                                                             | 255 |
| Tabela A10 - Compostos identificados (em inglês) na fração PTS do material particulado coletado na Campanha 2. ....                                                                                                                                                                            | 266 |
| Tabela A11 - Avaliação da significância do modelo com $p$ -valores para diferentes testes estatísticos, considerando 50 permutações ( $n_{MP2,5} = 40$ , $n_{PTS} = 40$ ). Valores de $p$ menores do que 0,05 indicaram que o modelo é significativo, ou seja, que não houve sobreajuste. .... | 273 |

|                                                                                                      |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabela A12 - Valores de sensibilidade e especificidade para o conjunto de dados C2.....              | 275 |
| Tabela A13 - Identificação dos compostos encontrados em todas as amostras de MP <sub>2,5</sub> ..... | 277 |



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                              |                                                                                                                     |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1,2-dhATQ                    | 1,2-dihidroxiantraquinona                                                                                           |
| 1,4-DMN                      | 1,4-dimetilnaftaleno                                                                                                |
| 1-PD                         | 1-pentadecino                                                                                                       |
| 4-FeQ                        | 4-(2-hidroxi-2-metoxi-1-tioxoetil)-2-fenil-quinolina                                                                |
| 6,2-EAT                      | Éster 6-metil-hept-2-il octil do ácido tereftálico                                                                  |
| AGV                          | Amostrador de Grande Volume                                                                                         |
| ALRTIs                       | Infecções agudas do trato respiratório inferior                                                                     |
| ALT                          | Alanina Aminotransferase                                                                                            |
| AMV                          | Amostrador de Médio Volume                                                                                          |
| AST                          | Aspartato Aminotransferase                                                                                          |
| AVOCs                        | <i>Anthropogenic Volatile Organic Compounds</i> (compostos orgânicos voláteis antropogênicos)                       |
| BSTFA                        | <i>N,O</i> -bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida                                                                   |
| BVOCs                        | <i>Biogenic volatile organic compounds</i> (compostos orgânicos voláteis biogênicos)                                |
| CAR                          | <i>Carboxen</i>                                                                                                     |
| carboxi-H <sub>2</sub> DCFDA | 6-carboxi-2',7'-diclorodi-hidrofluoresceína diacetato                                                               |
| CE/MS                        | <i>Capillary Electrophoresis/Mass Spectrometry</i> (eletroforese capilar com detector por espectrometria de massas) |
| CI                           | <i>Confidence Interval</i> (intervalo de confiança)                                                                 |
| CRA                          | Centro de Referência Ambiental                                                                                      |
| CUPs                         | <i>Current-Use Pesticides</i> (pesticidas de uso atual)                                                             |
| DBP                          | Dibutil ftalato                                                                                                     |
| DDE                          | Diclorodifenildicloroetileno                                                                                        |
| DDT                          | Diclorodifeniltricloroetano                                                                                         |

|        |                                                                                                             |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DI     | <i>Direct immersion</i> (imersão direta)                                                                    |
| DMEM   | <i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i> (meio de cultura)                                                 |
| DMSO   | Dimetilsulfóxido                                                                                            |
| DNA    | <i>Deoxyribonucleic Acid</i>                                                                                |
| DoE    | <i>Design of Experiments</i> (planejamento de experimentos)                                                 |
| DPOC   | Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica                                                                          |
| DQ     | Departamento de Química                                                                                     |
| DVB    | Divinilbenzeno                                                                                              |
| ED     | Etil decanoato                                                                                              |
| EFSA   | <i>European Food Safety Authority</i> (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar)                      |
| EI     | <i>Electron Ionization</i> (ionização por elétrons)                                                         |
| EIC    | Extracted Ion Chromatogram (cromatograma de íon extraído)                                                   |
| EUA    | Estados Unidos da América                                                                                   |
| FAO    | Food and Agriculture Organization (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura)        |
| FDA    | Food and Drug Administration                                                                                |
| GC/MS  | <i>Gas Chromatography/Mass Spectrometry</i> (cromatografia a gás com detector por espectrometria de massas) |
| GC×GC  | Cromatografia a gás bidimensional abrangente                                                                |
| HCH    | Hexaclorocicloexano                                                                                         |
| Hi-Vol | <i>High-volume</i> (grande volume)                                                                          |
| HPA    | Hidrocarboneto Policíclico Aromático                                                                        |
| HPLC   | <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (cromatografia líquida de alta eficiência)                    |
| HS     | <i>Headspace</i>                                                                                            |
| IA     | Ingrediente Ativo                                                                                           |

|                   |                                                                                                                  |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IARC              | <i>International Agency for Research on Cancer</i> (Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer)            |
| IBAMA             | Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis                                         |
| ICB-UFMG          | Instituto de Ciências Biológicas da UFMG                                                                         |
| IS                | Internal Standard (padrão interno)                                                                               |
| KEGG              | <i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i> (Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto)                        |
| $K_{ow}$          | Coeficiente de partição octanol-água                                                                             |
| LC/MS             | <i>Liquid Chromatography/Mass Spectrometry</i> (cromatografia líquida com detector por espectrometria de massas) |
| LDL               | <i>Low-Density Lipoprotein</i>                                                                                   |
| LOOCV             | <i>Leave-One-Out Cross-Validation</i>                                                                            |
| MBT               | 2-mercaptobenzotiazol                                                                                            |
| MCCV              | <i>Monte-Carlo Cross-Validation</i>                                                                              |
| MCF               | Metil cloroformato                                                                                               |
| MP                | Material Particulado                                                                                             |
| MP <sub>10</sub>  | Material particulado inalável, cujo diâmetro aerodinâmico é menor ou igual a 10 µm                               |
| MP <sub>2,5</sub> | Material particulado respirável, cujo diâmetro aerodinâmico é menor ou igual a 2,5 µm                            |
| MSTFA             | <i>N</i> -metiltrimetilsililtrifluoroacetamida                                                                   |
| MTBT              | 2-(metilmercapto)benzotiazol                                                                                     |
| NAT1              | <i>N</i> -acetiltransferase                                                                                      |
| NHL               | Linfoma de Non-Hodgkin                                                                                           |
| NIST              | <i>National Institute of Standards and Technology</i>                                                            |
| NP                | Nanoplástico                                                                                                     |
| OCPs              | <i>Organochlorine Pesticides</i>                                                                                 |

|         |                                                                |
|---------|----------------------------------------------------------------|
| OR      | <i>Odds Ratio</i>                                              |
| oxi-HPA | Hidrocarboneto policíclico aromático oxigenado                 |
| PA      | <i>Polyacrylate</i>                                            |
| PCA     | <i>Principal Component Analysis</i>                            |
| PCBs    | <i>Polychlorinated biphenyls</i>                               |
| PCF     | Propil cloroformato                                            |
| PDMS    | <i>Polydimethylsiloxane</i>                                    |
| PeCB    | Pentaclorobenzeno                                              |
| PEG     | <i>Polyethyleneglycol</i>                                      |
| PLS-DA  | <i>Partial Least Squares - Discriminant Analysis</i>           |
| PMT     | Permetrina                                                     |
| POP     | Poluente Orgânico Persistente                                  |
| PTFE    | Politetrafluoretileno                                          |
| PTS     | Partículas Totais em Suspensão                                 |
| PUF     | Polyurethane foam                                              |
| RMCA    | Rede Mineira de Cromatografia Avançada                         |
| RMN     | Ressonância Magnética Nuclear                                  |
| RNA     | <i>Ribonucleic Acid</i> (ácido ribonucleico)                   |
| ROS     | <i>Reactive Oxygen Species</i> (espécies reativas de oxigênio) |
| RR      | <i>Relative Risk</i>                                           |
| RSM     | <i>Response Surface Methodology</i>                            |
| SMPDB   | <i>The Small Molecule Pathway Database</i>                     |
| SPME    | <i>Solid Phase Microextraction</i>                             |
| SSQ     | <i>Sum Squared</i>                                             |
| SVOC    | <i>Semi-volatile organic compound</i>                          |
| TOF     | Time of Flight (tempo de voo)                                  |

|          |                                                                 |
|----------|-----------------------------------------------------------------|
| U.S. EPA | <i>United States Environmental Protection Agency</i>            |
| UFMG     | Universidade Federal de Minas Gerais                            |
| uPA      | <i>Urokinase</i>                                                |
| uPAR     | Receptor de urokinase                                           |
| WHO      | <i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde) |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|         |                                                                                                                                 |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $^1D$   | Coluna da primeira dimensão                                                                                                     |
| $^2D$   | Coluna da segunda dimensão                                                                                                      |
| $^1t_R$ | Tempo de retenção na primeira coluna                                                                                            |
| $^2t_R$ | Tempo de retenção na segunda coluna                                                                                             |
| C1      | Campanha 1                                                                                                                      |
| C2      | Campanha 2                                                                                                                      |
| P1      | Ponto 1                                                                                                                         |
| P2      | Ponto 2                                                                                                                         |
| P3      | Ponto 3                                                                                                                         |
| P4      | Ponto 4                                                                                                                         |
| P5      | Ponto 5                                                                                                                         |
| ppb     | Partes por bilhão                                                                                                               |
| ppt     | Partes por trilhão                                                                                                              |
| $m/z$   | Razão massa/carga                                                                                                               |
| $P_M$   | Período de modulação                                                                                                            |
| $^2w_b$ | largura de pico na base de um pico eluído da coluna da segunda dimensão de um sistema de cromatografia bidimensional abrangente |
| $T_M$   | temperatura do modulador                                                                                                        |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>CAPÍTULO 1. ASPECTOS GERAIS .....</b>                                                                                                                                   | <b>28</b> |
| <b>1.1 Agrotóxicos.....</b>                                                                                                                                                | <b>29</b> |
| 1.1.1 Definição e mercado dos agrotóxicos.....                                                                                                                             | 29        |
| 1.1.2 Classificação e toxicidade dos agrotóxicos .....                                                                                                                     | 29        |
| 1.1.3 Dispersão e degradação .....                                                                                                                                         | 34        |
| <b>1.2 Metabolômica.....</b>                                                                                                                                               | <b>35</b> |
| <b>1.3 Cromatografia a gás bidimensional abrangente (GC×GC).....</b>                                                                                                       | <b>36</b> |
| <b>CAPÍTULO 2. ESTUDO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES DA EXPOSIÇÃO DE FIBROBLASTOS DE PELE HUMANA AO GLIFOSATO (ROUNDUP®), USANDO METABOLÔMICA UNTARGETED E TARGETED .....</b> | <b>40</b> |
| <b>2.1 Introdução .....</b>                                                                                                                                                | <b>40</b> |
| 2.1.1 Glifosato .....                                                                                                                                                      | 40        |
| 2.1.2 A pele humana .....                                                                                                                                                  | 46        |
| 2.1.3 Biomarcadores .....                                                                                                                                                  | 50        |
| 2.1.4 A contribuição da metabolômica ambiental .....                                                                                                                       | 54        |
| 2.1.5 Aminoácidos.....                                                                                                                                                     | 57        |
| <b>2.2 Objetivos.....</b>                                                                                                                                                  | <b>58</b> |
| 2.2.1 Objetivo geral .....                                                                                                                                                 | 58        |
| 2.2.2 Objetivos específicos.....                                                                                                                                           | 59        |
| <b>2.3 Parte experimental .....</b>                                                                                                                                        | <b>59</b> |
| 2.3.1 Suprimentos e equipamentos .....                                                                                                                                     | 59        |
| 2.3.2 Gases, reagentes e soluções .....                                                                                                                                    | 60        |
| 2.3.3 Ensaios biológicos .....                                                                                                                                             | 61        |
| 2.3.4 <i>Quenching</i> , coleta das células e preparo do extrato de metabólitos .....                                                                                      | 64        |
| 2.3.5 Sistema cromatográfico (GC×GC/Q-TOFMS) .....                                                                                                                         | 64        |
| 2.3.6 Derivatização .....                                                                                                                                                  | 65        |
| 2.3.7 Desenvolvimento do método GC×GC.....                                                                                                                                 | 65        |
| 2.3.8 Processamento de dados .....                                                                                                                                         | 66        |
| 2.3.9 Identificação dos metabólitos .....                                                                                                                                  | 66        |
| 2.3.10 Validação <i>targeted</i> .....                                                                                                                                     | 67        |
| <b>2.4 Resultados e discussão.....</b>                                                                                                                                     | <b>68</b> |
| 2.4.1 Ensaio de proliferação celular .....                                                                                                                                 | 69        |

|            |                                                                        |            |
|------------|------------------------------------------------------------------------|------------|
| 2.4.2      | Efeito citotóxico de GLYP-R e GLYP em células HDFa .....               | 70         |
| 2.4.3      | Efeito citotóxico de AMPA e sua mistura com GLYP em células HDFa ..... | 74         |
| 2.4.4      | Ensaio de morte celular em HDFa.....                                   | 75         |
| 2.4.5      | Estresse oxidativo de GLYP-R em células HDFa .....                     | 77         |
| 2.4.6      | Escolha do melhor protocolo de derivatização .....                     | 78         |
| 2.4.7      | Validação do método de análise de metabólitos por GC×GC/Q-TOFMS .....  | 86         |
| 2.4.8      | Análise <i>untargeted</i> de metabólitos por GC×GC/Q-TOFMS .....       | 88         |
| 2.4.9      | Análise <i>untargeted</i> uni e multivariada.....                      | 93         |
| 2.4.10     | Modelo <i>untargeted</i> de potenciais biomarcadores .....             | 99         |
| 2.4.11     | Interpretação biológica da análise <i>untargeted</i> .....             | 101        |
| 2.4.12     | Análises uni e multivariada dos metabólitos <i>targeted</i> .....      | 106        |
| 2.4.13     | Modelo <i>targeted</i> de potenciais biomarcadores .....               | 110        |
| 2.4.14     | Interpretação biológica da análise <i>targeted</i> .....               | 111        |
| <b>2.5</b> | <b>Conclusões .....</b>                                                | <b>113</b> |

### **CAPÍTULO 3. ANÁLISE DE VOCs ASSOCIADOS AO MATERIAL PARTICULADO (PTS E MP<sub>2,5</sub>) EM BRUMADINHO, USANDO DIS-PME-GC×GC/Q-TOFMS .....**

|            |                                                                 |            |
|------------|-----------------------------------------------------------------|------------|
| <b>3.1</b> | <b>Introdução .....</b>                                         | <b>114</b> |
| 3.1.1      | Agrotóxicos no ar atmosférico .....                             | 114        |
| 3.1.2      | Amostradores de ar atmosférico .....                            | 115        |
| 3.1.3      | Microextração em fase sólida .....                              | 116        |
| <b>3.2</b> | <b>Objetivos.....</b>                                           | <b>118</b> |
| 3.2.1      | Objetivo geral .....                                            | 118        |
| 3.2.2      | Objetivos específicos .....                                     | 119        |
| <b>3.3</b> | <b>Parte experimental .....</b>                                 | <b>119</b> |
| 3.3.1      | Suprimentos e equipamentos .....                                | 119        |
| 3.3.2      | Solventes e gases .....                                         | 119        |
| 3.3.3      | Amostragem .....                                                | 120        |
| 3.3.4      | Método de microextração em fase sólida por imersão direta ..... | 123        |
| 3.3.5      | Sistema cromatográfico .....                                    | 123        |
| 3.3.6      | Identificação dos compostos.....                                | 124        |
| 3.3.7      | Análise quimiométrica.....                                      | 125        |
| <b>3.4</b> | <b>Resultados e discussão.....</b>                              | <b>125</b> |



|                                                                                                                                                                                          |                                                                                          |            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.4.1                                                                                                                                                                                    | Otimização do método de separação por GC×GC e do procedimento de extração por SPME ..... | 125        |
| 3.4.2                                                                                                                                                                                    | Identificação dos compostos.....                                                         | 128        |
| 3.4.3                                                                                                                                                                                    | Análise quimiométrica das amostras ambientais coletadas em Brumadinho .....              | 132        |
| 3.4.4                                                                                                                                                                                    | Marcadores de poluição atmosférica .....                                                 | 143        |
| <b>3.5</b>                                                                                                                                                                               | <b>Conclusões .....</b>                                                                  | <b>145</b> |
| <b>CAPÍTULO 4. ANÁLISE DE VOCs/SOVCs ASSOCIADOS AO MATERIAL PARTICULADO (MP<sub>2,5</sub>) EM BELO HORIZONTE/MG, USANDO DI-SPME-GC×GC/Q-TOFMS .....</b>                                  |                                                                                          | <b>146</b> |
| <b>4.1</b>                                                                                                                                                                               | <b>Introdução .....</b>                                                                  | <b>146</b> |
| <b>4.2</b>                                                                                                                                                                               | <b>Objetivos.....</b>                                                                    | <b>148</b> |
| 4.2.1                                                                                                                                                                                    | Objetivo geral .....                                                                     | 148        |
| 4.2.2                                                                                                                                                                                    | Objetivos específicos .....                                                              | 148        |
| <b>4.3</b>                                                                                                                                                                               | <b>Parte experimental .....</b>                                                          | <b>148</b> |
| 4.3.1                                                                                                                                                                                    | Suprimentos e equipamentos .....                                                         | 148        |
| 4.3.2                                                                                                                                                                                    | Materiais e solventes .....                                                              | 148        |
| 4.3.3                                                                                                                                                                                    | Amostragem .....                                                                         | 149        |
| 4.3.4                                                                                                                                                                                    | Preparo de amostras.....                                                                 | 149        |
| 4.3.5                                                                                                                                                                                    | Análise por GC×GC/Q-TOFMS.....                                                           | 150        |
| 4.3.6                                                                                                                                                                                    | Planejamento de experimentos e otimização de parâmetros .....                            | 150        |
| 4.3.7                                                                                                                                                                                    | Processamento de dados .....                                                             | 151        |
| <b>4.4</b>                                                                                                                                                                               | <b>Resultados e discussão.....</b>                                                       | <b>151</b> |
| 4.4.1                                                                                                                                                                                    | Otimização do processo de modulação térmica .....                                        | 151        |
| 4.4.2                                                                                                                                                                                    | Análise estatística multivariada .....                                                   | 154        |
| <b>4.5</b>                                                                                                                                                                               | <b>Conclusões .....</b>                                                                  | <b>165</b> |
| <b>CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>                                                                                                                                            |                                                                                          | <b>167</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                                                                                                                                 |                                                                                          | <b>169</b> |
| <b>APÊNDICES .....</b>                                                                                                                                                                   |                                                                                          | <b>201</b> |
| <b>APÊNDICE 1 – Estudo de potenciais biomarcadores da exposição de fibroblastos de pele humana ao glifosato (roundup), usando metabolômica <i>untargeted</i> e <i>targeted</i> .....</b> |                                                                                          | <b>201</b> |
| <b>APÊNDICE 2 – Análise de material particulado (PTS e MP<sub>2,5</sub>) em Brumadinho usando DI-SPME-GC×GC/Q-TOFMS.....</b>                                                             |                                                                                          | <b>223</b> |

|                                                                                                                            |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>APÊNDICE 3 – Análise de material particulado (MP<sub>2,5</sub>) em Belo Horizonte usando DI-SPME-GC×GC/Q-TOFMS.....</b> | <b>277</b> |
| <b>APÊNDICE 4 – Artigos publicados.....</b>                                                                                | <b>284</b> |

## **CAPÍTULO 1. ASPECTOS GERAIS**

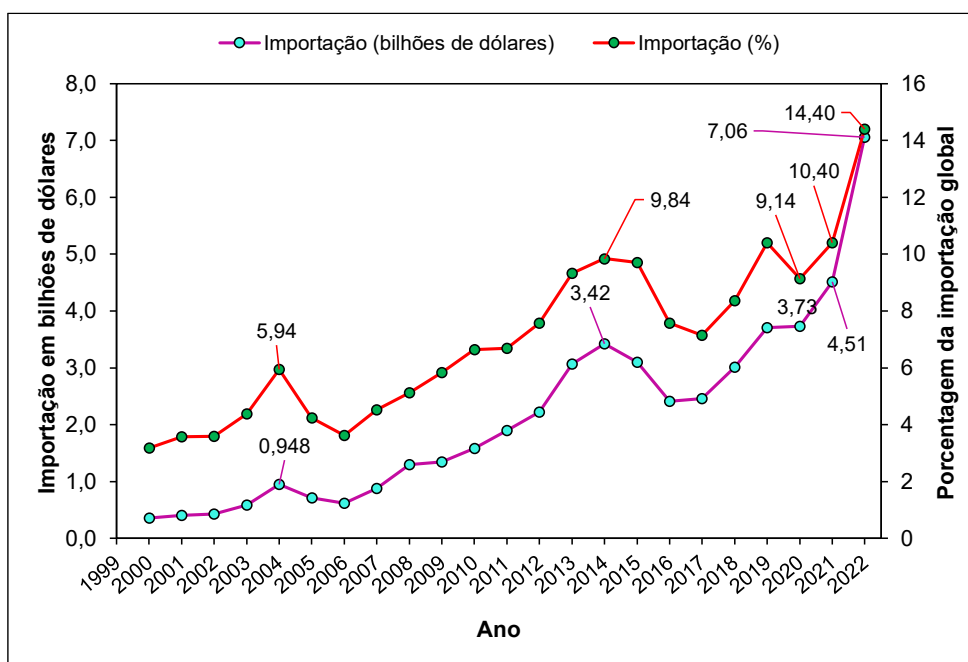
A sociedade contemporânea enfrenta sérios desafios relacionados à poluição ambiental, causados principalmente pelo uso inadequado dos recursos tecnológicos e naturais. Diante disso, a comunidade científica tem investigado os impactos de diversas classes de poluentes na saúde humana e no meio ambiente. Nesse contexto, esta tese descreve três trabalhos de análise de poluentes ambientais, utilizando cromatografia a gás bidimensional abrangente (GC×GC). Métodos GC×GC de sofisticado desempenho analítico foram desenvolvidos e aplicados na análise de amostras reais de interesse ambiental e biológico. Os trabalhos reportados são de alta relevância para o aperfeiçoamento da área de análise de traços e ofereceram significativas contribuições para as áreas de metabolômica e toxicologia ambiental.

Este capítulo contextualiza os principais temas abordados no texto, com foco nas características e na literatura associada aos agrotóxicos, à metabolômica e à técnica GC×GC. No CAPÍTULO 2, é apresentado o estudo de potenciais biomarcadores da exposição de células de fibroblastos de pele humana ao herbicida glifosato (formulação comercial Roundup®), por meio de uma abordagem metabolômica. No CAPÍTULO 3, é reportado o trabalho de análise de varredura dos compostos (agrotóxicos e compostos orgânicos voláteis) presentes no material particulado atmosférico coletado em Brumadinho (Minas Gerais, Brasil), após o desastre ambiental de 2019. Um outro estudo similar às análises de Brumadinho, porém feito com amostras coletadas em Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil), em duas regiões (de preservação florestal e urbana), está relatado no CAPÍTULO 4. Por fim, o CAPÍTULO 5 conclui a tese, com o resumo das principais contribuições dos trabalhos para o desenvolvimento científico e as perspectivas futuras.

## 1.1 Agrotóxicos

### 1.1.1 Definição e mercado dos agrotóxicos

O Decreto Federal brasileiro Nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002 define *agrotóxicos* (Art. 1º, inciso IV) como “produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento” (Decreto Nº 4.074, 2002). O Brasil é o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, liderando em 2022 a importação desses produtos, responsável por 14,40 %

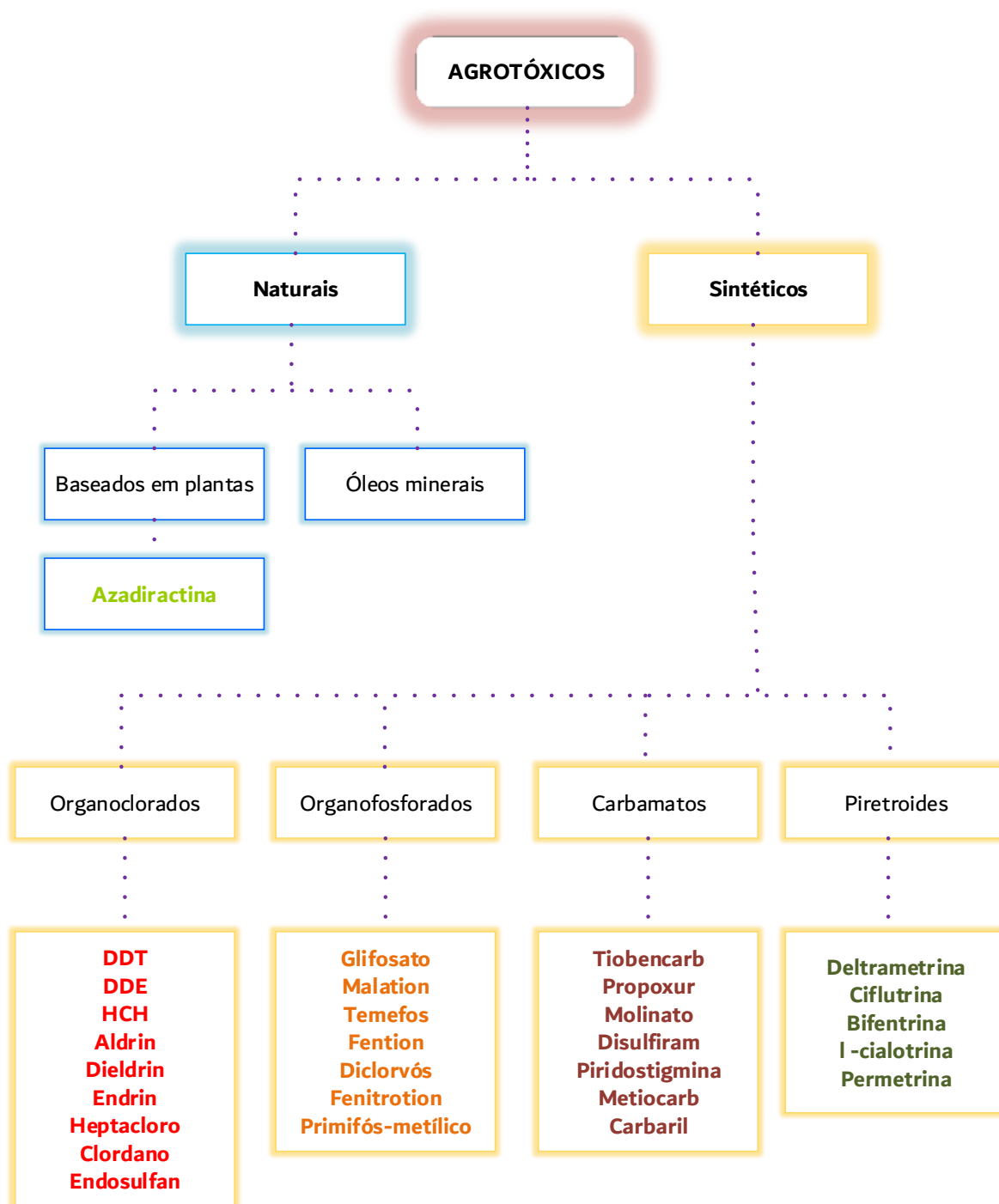


**Figura 1.1** - Evolução da importação de agrotóxicos pelo Brasil e sua contribuição no mercado mundial. das importações mundiais (7,06 bilhões de dólares). A Figura 1.1 mostra a evolução do perfil de importações de agrotóxicos pelo Brasil, de 2000 a 2022 (OEC Trend Explorer, 2024).

### 1.1.2 Classificação e toxicidade dos agrotóxicos

A contaminação do meio ambiente por agrotóxicos tem sido objeto de vários estudos, devido à sua alta toxicidade, à bioacumulação nas espécies e aos processos de degradação e

distribuição no meio ambiente, incluindo a atmosfera (Valenzuela; Menezes; Cardeal, 2019). Os agrotóxicos podem ter origem natural (bioagrotóxicos), como, por exemplo, derivados de plantas, fungos e bactérias; ou podem ter origem sintética (a maioria), que são aqueles produzidos em laboratório e não existem na natureza. Esses compostos apresentam diferentes propriedades físico-químicas e se apresentam na forma de compostos orgânicos voláteis (VOCs) ou semivoláteis (SVOCs). Uma maneira de classificar os agrotóxicos é pela estrutura química. Quanto à composição química (Figura 1.2), os agrotóxicos podem ser classificados em quatro categorias principais: organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretrinas/piretroides. Quanto ao alvo e aos efeitos toxicológicos, os agrotóxicos são geralmente classificados como herbicidas, inseticidas, fungicidas, acaricidas, dentre outros (Chandran; Thomas; Unni, 2019; Hassaan; El Nemr, 2020).



**Figura 1.2** - Classificação dos agrotóxicos pela composição química. Adaptado de Hassaan e El Nemr (2020).

Os agrotóxicos organoclorados contêm cloro em suas estruturas químicas, acumulam-se no tecido adiposo e são altamente estáveis no meio ambiente (com tempos de meia-vida que variam de 9 dias a 15 anos) (Sparling, 2016). Esses compostos e seus metabólitos afetam o sistema nervoso central humano, através de alterações da cinética do fluxo de  $K^+$  e  $Na^+$  pelas membranas celulares nervosas; o que pode causar intoxicação crônica e convulsões. Existem

cinco classes de organoclorados, sendo elas: (1) diclorodifeniltricloroetano (DDT) e seu análogo diclorodifenildicloroetileno (DDE); (2) hexaclorocicloexano (HCH): lindano; (3) ciclodienos (aldrin, dieldrin, endrin, heptacloro, clordano e endosulfan); (4) toxafeno; (5) mirex e clordecona (Hassaan; El Nemr, 2020). Os organoclorados foram amplamente usados como inseticidas no século XX e atualmente o seu uso é proibido em diversos países, incluindo o Brasil (Flores *et al.*, 2004).

Organofosforados são ésteres derivados do ácido fosfórico. Esses agrotóxicos afetam o sistema nervoso central humano através do bloqueio da enzima acetilcolina, a qual controla o nível do neurotransmissor acetilcolinesterase. Os organofosforados são largamente usados como inseticidas e herbicidas na agricultura, horticultura e medicina veterinária. São usados domesticamente e no controle de infestações, como de sarna e piolhos. Também são empregados como armas químicas (como sarin, tabun, etc) em ataques terroristas e em guerras (Vale; Lotti, 2015). A intoxicação por organofosforados pode causar coma, tontura, náuseas, dor de cabeça, câibras, convulsões e até a morte. Os principais compostos representantes desta classe são glifosato, malation, temefos, fention, diclorvós, fenitrothion e primifós-metilico (Hassaan; El Nemr, 2020).

Os carbamatos são ésteres derivados do ácido carbâmico e são usados como herbicidas, inseticidas, nematicidas (contra parasitas nematoides) e fungicidas. São menos persistentes no meio ambiente do que os organoclorados e organofosforados, sendo geralmente uma alternativa a estes (Vale; Lotti, 2015). Os sintomas de intoxicação por carbamatos são similares aos dos organofosforados. Alguns exemplos de carbamatos largamente usados em cães e gatos são: tiobencarb, propoxur, molinato, disulfiram, piridostigmina, metiocarb e carbaril (Hassaan; El Nemr, 2020).

Piretroides têm ocorrência natural e são derivados de flores de crisântemo. Essas substâncias atuam no sistema nervoso central de vertebrados e insetos, causando flutuações na dinâmica dos canais de  $\text{Na}^+$  das membranas de células nervosas, o que provoca um aumento do tempo de abertura desses canais e hiperexcitação neuronal. Apresentam baixa toxicidade para aves e mamíferos, alta toxicidade para artrópodes e peixes (se aplicado diretamente na água) e ação rápida contra insetos. Piretroides também são produzidos por síntese orgânica e alguns exemplos são deltrametrina, ciflutrina, bifentrina,  $\lambda$ -cialotrina e permetrina. Essas substâncias são usadas em vários tipos de produtos comerciais, tais como shampoos para animais, no

tratamento de piolhos em humanos, repelentes tópicos contra mosquitos, *sprays* inseticidas em empresas, residências, fazendas, etc. (Hassaan; El Nemr, 2020).

Além do impacto ambiental do uso de agrotóxicos (na saúde de organismos aquáticos, plantas, solo, etc.), é crescente a preocupação do meio científico com os efeitos dessas substâncias na saúde humana. Diversos trabalhos têm mostrado que a exposição a agrotóxicos pode causar patologias em seres humanos e animais, tais como câncer, doença de Parkinson, Alzheimer, distúrbios nos sistemas respiratório/reprodutivo e modificações epigenéticas (Ansbaugh *et al.*, 2013; Bonner *et al.*, 2017; Brouwer *et al.*, 2017; Kirkhorn; Schenker, 2002; Luo *et al.*, 2016; Mazur; Marchitti; Zastre, 2015; Sabarwal; Kumar; Singh, 2018).

O risco causado a humanos e animais pelos agrotóxicos está relacionado à forma de exposição. O modo de exposição é importante, pois determina a dose de exposição. Há três formas de exposição humana a agrotóxicos: intencional (acidente ou suicídio), ocupacional e não ocupacional. Essas formas de exposição podem ocorrer a curto, médio e longo prazos, combinadas com baixas ou altas concentrações de agrotóxicos (Davies *et al.*, 1980). O emprego de agrotóxicos na tentativa de suicídio é um preocupante fator de exposição intencional, principalmente em regiões rurais. De acordo com a brochura publicada pela Organização Mundial da Saúde (WHO) e pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), 15-20 % dos suicídios anuais são causados pela ingestão intencional de agrotóxicos (WHO; FAO, 2024). A exposição ocupacional inclui pessoas que trabalham diretamente com agrotóxicos, como comerciantes, agricultores, aplicadores e vendedores de frutas/legumes nos mercados (Moda *et al.*, 2022). Um exemplo de estudo envolvendo intoxicação por agrotóxicos foi reportado por Wu *et al.* (2023), que incluiu 121 pacientes internados em um hospital chinês, entre 2000 e 2021, intoxicados por via oral (de forma intencional ou ocupacional) com clorpirifós, cipermetrina ou sua mistura. Os autores concluíram que os pacientes intoxicados com a mistura apresentaram os piores parâmetros clínicos e a maior taxa de mortalidade e que o clorpirifós exerceu a maior contribuição na toxicidade da mistura. A exposição não ocupacional a agrotóxicos é uma via preocupante de intoxicação e a investigação dos seus impactos na saúde humana configura um desafio atual (Palaniswamy *et al.*, 2021).

Pesquisas também têm mostrado que a exposição aos agrotóxicos pode causar o desenvolvimento de vários tipos de câncer em crianças e adultos. Os principais carcinomas



relatados são: leucemia, linfoma de Burkitt (câncer de glóbulo branco, que se origina em linfócitos B), neuroblastoma (afeta o sistema nervoso simpático), tumor de Wilms (tumor maligno de origem nos rins), linfoma de Non-Hodgkin (de origem nas células do sistema linfático), cânceres de ovário, pulmão, estômago, cólon, bexiga e reto (Alavanja; Bonner, 2012; Bonner *et al.*, 2017; Dich *et al.*, 1997).

### 1.1.3 Dispersão e degradação

Devido ao amplo uso de agrotóxicos, seus resíduos podem permanecer no ambiente por maior ou menor tempo, dependendo das propriedades físico-químicas de cada composto, de condições climáticas e das tecnologias de aplicação nas culturas agrícolas. Além da contaminação do solo e dos corpos d'água, os agrotóxicos podem contaminar também o ar, inclusive de locais distantes do alvo. Quanto maior a persistência de um agrotóxico no ambiente, maior o seu potencial de transporte para a atmosfera. A dispersão de resíduos de agrotóxicos na atmosfera pode ocorrer, principalmente, através de perdas por pulverização, volatilização (no solo e nas folhas das plantas) e erosão eólica (Galon *et al.*, 2021).

A aplicação por pulverização provoca perdas pela ação do vento e de condições climáticas sobre as gotículas do *spray* de agrotóxicos. Esse efeito, conhecido como *spray drift*, causa a dispersão de determinada quantidade de agrotóxicos para regiões não alvo, alcançando a atmosfera. Os fatores que influenciam esse efeito, segundo Celen e Onler (2011), são: características da solução de agrotóxicos, como volatilidade e viscosidade; equipamentos e técnicas de aplicação; condições climáticas (como velocidade e direção do vento, temperatura, umidade relativa, estabilidade do ar e local de aplicação), além de cuidados, atitudes e habilidades dos aplicadores.

A volatilização é um processo físico-químico no qual um composto é transferido da fase condensada (líquida ou sólida) para a fase gasosa. Após a aplicação, parte da massa de agrotóxicos é volatilizada. Os principais fatores que afetam o processo de volatilização são as propriedades físico-químicas dos compostos (principalmente a pressão de vapor), condições meteorológicas, propriedades dos solos e das plantas e as práticas de manejo adotadas na aplicação dos agrotóxicos (Spencer; Farmer; Cliath, 1973).

Outra forma de perda de agrotóxicos para a atmosfera é por meio da erosão eólica. Esse processo consiste na ação do vento em movimentar pequenas partículas ou grânulos do solo aos quais estão ligadas moléculas de agrotóxicos. Os principais fatores que influenciam esse fenômeno são: prática de cultivo, intemperismo, velocidade horizontal do vento, precipitação e temperatura (Klik; Rosner, 2020; Majewski; Capel, 1996).

## 1.2 Metabolômica

Uma maneira de avaliar os impactos de compostos tóxicos (como os agrotóxicos) na saúde é por meio da metabolômica. Ela consiste no estudo do conjunto de metabólitos<sup>1</sup> alterados (metaboloma) pela ação de fatores exógenos ou endógenos em um sistema vivo. Assim, as amostras comumente estudadas são sangue, plasma, urina, saliva, fezes, células, tecidos e órgãos. A metabolômica se divide em dois tipos de abordagens: alvo (*targeted*) e não alvo (*untargeted*). A metabolômica *targeted* é responsável por estudar um conjunto de metabólitos de interesse, já a abordagem *untargeted* envolve a varredura abrangente dos metabólitos. Existem diversas áreas de aplicação dos estudos metabolômicos, tais como na análise clínica, nutrição, ciências do esporte, toxicologia e ciências ambientais. Esses estudos são feitos em um organismo modelo que deve ser escolhido criteriosamente para a determinação do seu metaboloma (Fiehn, 2002; Villas-Bôas *et al.*, 2007).

Um estudo de metabolômica se inicia com a proposição de uma pergunta biológica (o motivo da investigação). A questão proposta pode ser, por exemplo, a avaliação de efeitos toxicológicos de drogas ou contaminantes ambientais no perfil de metabólitos de um organismo, ou ainda, os efeitos de doenças ou da alimentação no metaboloma. Em estudos envolvendo células, o fluxo de trabalho começa com a cultura celular. Em seguida, é feita a interrupção metabólica, conhecida como *quenching*<sup>2</sup> – que é necessária para evitar a conversão de metabólitos ao longo do processo de preparo de amostras, pois, caso isso ocorra, poderão surgir problemas na identificação de metabólitos em baixa concentração e/ou erros na quantificação. O *quenching* geralmente é feito utilizando baixas temperaturas ou condições extremas de pH.

---

<sup>1</sup> Produtos intermediários ou finais de processos regulatórios celulares, com massa molecular geralmente inferior a 1000 Da.

<sup>2</sup> Processo químico ou físico que inativa as enzimas responsáveis pela catalização de reações bioquímicas de síntese e consumo de metabólitos.

Após o *quenching*, é feita a extração dos metabólitos através da lise<sup>3</sup> celular, quando a amostra é constituída por células, seguida de extração por solventes orgânicos que apresentem afinidade química com os metabólitos. No caso de fluidos biológicos e fezes, faz-se apenas a extração por solventes ou por soluções tampão. Em seguida, é feita a identificação e/ou quantificação dos metabólitos, usando, principalmente, cromatografia a gás com detector por espectrometria de massas (GC/MS), cromatografia líquida com detector por espectrometria de massas (LC/MS), eletroforese capilar com detector por espectrometria de massas (CE/MS) ou ressonância magnética nuclear (RMN). Os dados resultantes são tratados com análises estatísticas, usando ferramentas uni ou multivariadas. Por fim, o estudo é concluído com a interpretação biológica do metaboloma (Artati; Tokarz, 2020; Chong; Wishart; Xia, 2019; Kim *et al.*, 2013).

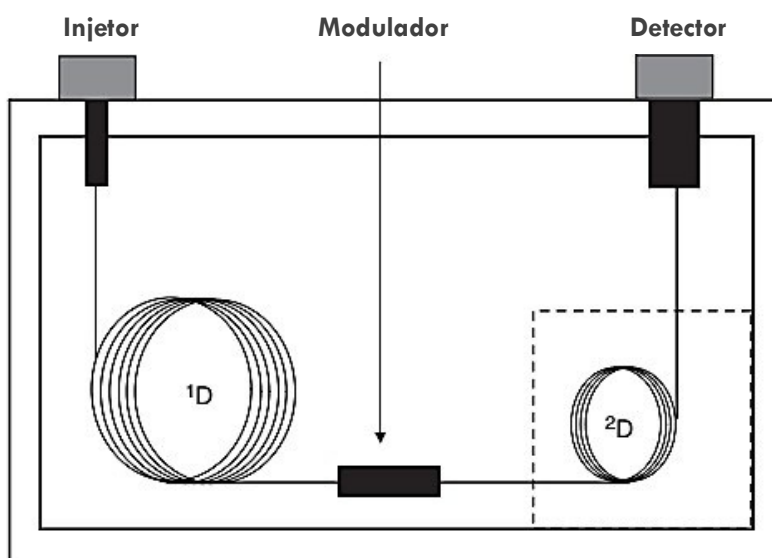
### 1.3 Cromatografia a gás bidimensional abrangente (GC×GC)

Análises do tipo impressão digital ou global podem ser convenientemente utilizadas como um método de triagem, além de permitir a detecção de analitos cujas fontes podem ser desconhecidas. Alguns estudos mostraram a forte relação entre poluição ambiental e doenças oriundas da exposição a VOCs, principalmente os sorvidos no material particulado (Chaturvedi *et al.*, 2023; Paterson *et al.*, 2021). Muitos VOCs são conhecidos por sua toxicidade e presença no ar atmosférico, sendo, portanto, alvo de diferentes métodos de análise. No entanto, considerando a grande diversidade de classes de compostos presentes na atmosfera, assim como a provável produção de outros compostos catalisados pelas condições ambientais de umidade, temperatura e radiação solar, a análise de compostos alvos (*targeted*) é limitada para uma avaliação global de poluentes atmosféricos e seus efeitos na saúde ambiental. As técnicas cromatográficas convencionais acopladas a espectrometria de massas (GC/MS e LC/MS) têm-se mostrado eficientes para a análise de poluentes orgânicos em níveis de traços e ultra traços. Contudo, diversos estudos mostram algumas limitações, como a interferência de outros compostos devido à complexidade das matrizes estudadas e/ou limites de detecção insuficientes para concentrações muito baixas (Ghio; Soukup; Madden, 2018).

---

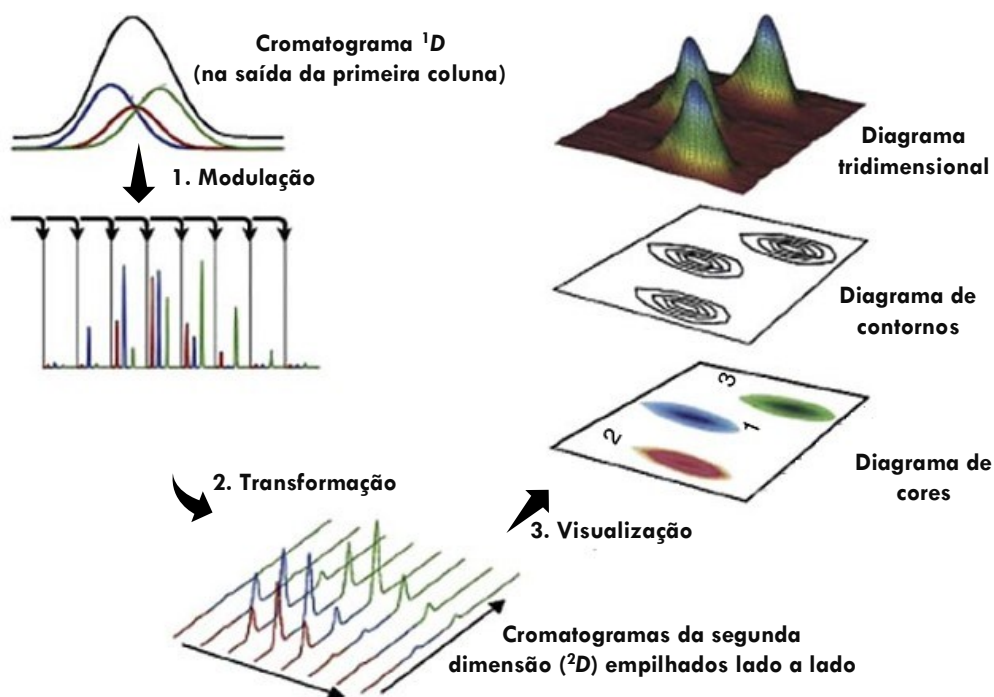
<sup>3</sup> Ruptura da membrana celular, geralmente feita com solução tampão ou solventes apropriados.

Uma alternativa para a análise de matrizes complexas com concentrações dos analitos no nível de traços é a utilização da cromatografia a gás bidimensional abrangente (*comprehensive two-dimensional gas chromatography*, GC×GC) (Liu, Z.; Phillips, 1991). Esta técnica aumenta a capacidade de pico, por operar em duas dimensões de separação cromatográfica ( $^1D$  com coluna de maior comprimento e  $^2D$  com coluna de menor comprimento e polaridade oposta a  $^1D$ ) em série, conectadas por um modulador (Figura 1.3). Este componente coleta o eluato de  $^1D$ , comprime no espaço e no tempo as bandas cromatográficas e faz a reinjeção rápida em  $^2D$ . Nesse processo, todo o cromatograma de  $^1D$  é reanalisado em  $^2D$ , sendo mantida a separação obtida em  $^1D$ .



**Figura 1.3** - Esquema de um sistema GC×GC, mostrando as duas colunas conectadas em série, através de um modulador. A primeira coluna ( $^1D$ ) tem comprimento de 30 a 60 m e a segunda coluna ( $^2D$ ) geralmente mede de 0,5 a 2 m. Fonte: adaptado de Ramos *et al.* (2009).

Os cromatogramas bidimensionais ( $2D$ ) obtidos em análises por GC×GC são apresentados na forma de diagramas de cores ou de contornos, cujos planos contêm os eixos de tempos de retenção em  $^1D$  e  $^2D$ . No diagrama de cores, cada mancha representa um composto resolvido e a escala de cores indica a intensidade de pico relacionada com a abundância do analito. No diagrama de contornos, em preto e branco, cada contorno representa um composto resolvido. Os cromatogramas também podem ser apresentados na forma de gráficos tridimensionais, em que cada pico no plano dos tempos de retenção representa um composto, com uma escala de cores indicando a intensidade de pico (Figura 1.4).



**Figura 1.4** - Esquema do processo de visualização dos dados adquiridos por GC×GC. Fonte: adaptado de Ramos *et al.* (2009).

Sistemas GC×GC aumentam a resolução da separação e podem aumentar a sensibilidade da análise; fatores esses que contribuem para eliminar grande parte dos problemas de coeluição, tradicionalmente observados em cromatografia a gás unidimensional (Prebihalo *et al.*, 2018). O sistema GC×GC mais completo é o que acopla a cromatografia bidimensional abrangente à detecção por espectrometria de massas sequencial de alta resolução (GC×GC/Q-TOFMS/MS). Esse sistema consiste em duas colunas conectadas em série através de um modulador; a extremidade da segunda coluna é acoplada a um espectrômetro de massas, com analisador do tipo tempo de voo (TOFMS) e ionização por elétrons (EI, *electron ionization*). O sistema de espectrometria de massas possibilita identificar e quantificar os compostos com limite de detecção instrumental da ordem de fentograma. Ele permite a identificação e quantificação de compostos no nível de traços (na ordem de partes por milhão ou trilhão) em matrizes complexas, com eliminação (ou diminuição drástica) de coeluições com interferentes.

Em metabolômica, GC×GC é largamente empregada na análise *untargeted* dos metabólitos de sistemas vivos, os quais se apresentam em enorme número, em diferentes formas estruturais e variados níveis de concentração (Higgins Keppler *et al.*, 2018). Um estudo de

exposição de células a resíduos de agrotóxicos, usando GC×GC, será de significativa importância para melhor compreender os efeitos desses contaminantes na saúde humana.

---

## CAPÍTULO 2. ESTUDO DE POTENCIAIS BIOMARCADORES DA EXPOSIÇÃO DE FIBROBLASTOS DE PELE HUMANA AO GLIFOSATO (ROUNDUP®), USANDO METABOLÔMICA *UNTARGETED* E *TARGETED*

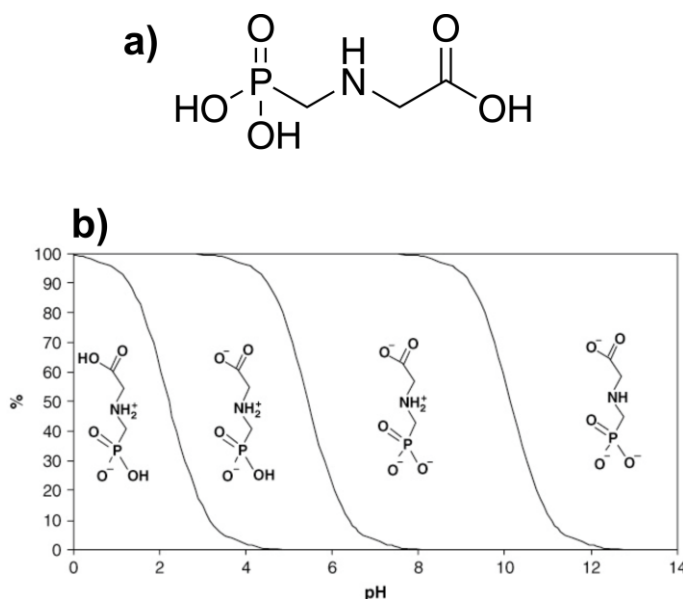
### 2.1 Introdução

#### 2.1.1 Glifosato

O glifosato (GLYP), (*N*-fosfonometil)glicina (Figura 2.1a), um análogo aminofosfônico do aminoácido glicina, é o herbicida mais utilizado no mundo. É uma molécula anfótera, ou seja, a depender do pH, os grupos carboxílico e fosfônico podem ser ionizados e o grupo amina, protonado (Valle *et al.*, 2019). Em  $\text{pH} < 4,0$ , a molécula existe como um *zwitterion*<sup>4</sup>. Em  $\text{pH} > 4,0$ , prevalecem espécies aniônicas (Figura 2.1b). A primeira síntese de GLYP foi feita em 1950, pelo químico Henri Martin, em uma pequena empresa farmacêutica, na Suíça (Duke; Powles, 2008). No entanto, as propriedades herbicidas de GLYP não foram investigadas por Martin, que patenteou a molécula como agente complexante. Os primeiros testes da ação herbicida de GLYP foram feitos pelo químico John Franz, da empresa Monsanto e, então, o produto foi patentado como herbicida em 1970. Em 1974, a Monsanto lançou o Roundup<sup>TM</sup> (GLYP-R), a primeira formulação comercial de glifosato, na forma de seu sal de isopropilamina (Richmond, 2018).

---

<sup>4</sup> Composto químico que contém cargas positivas e negativas, porém, a carga total é nula.



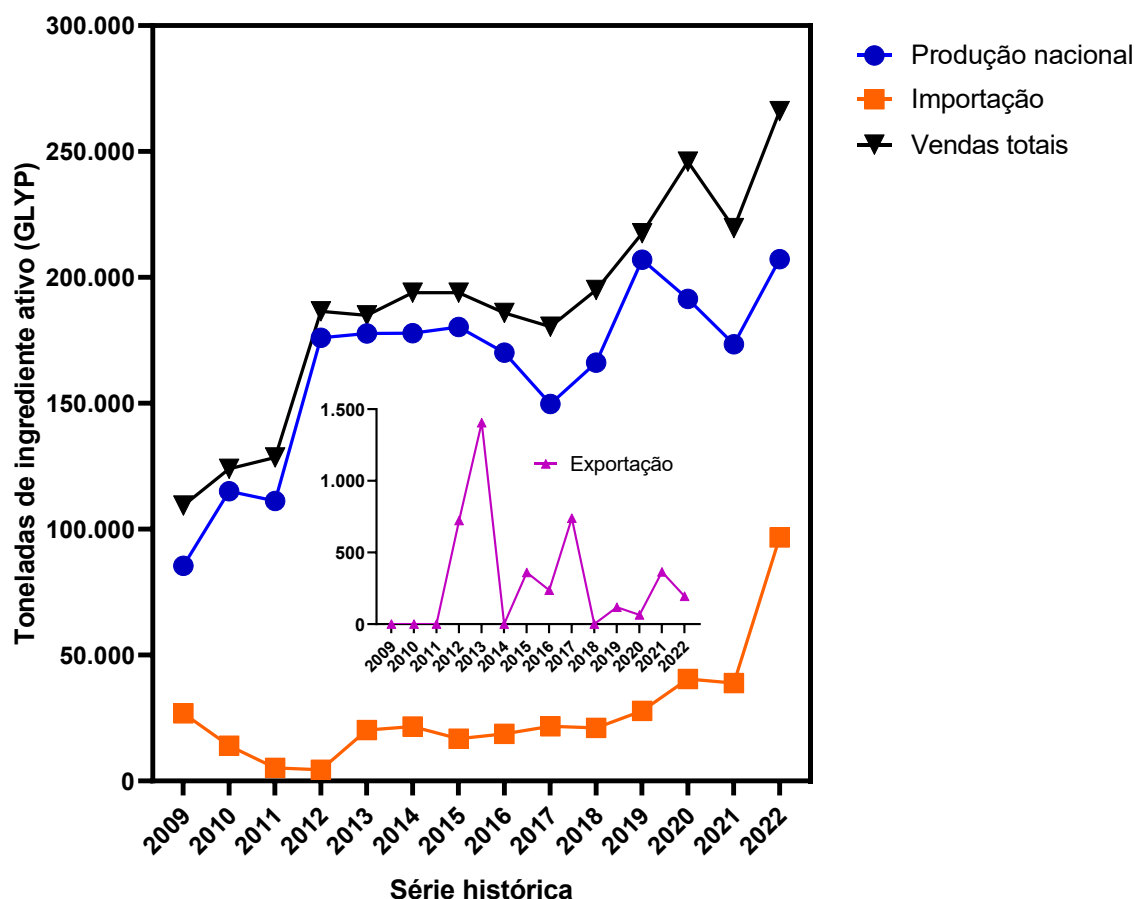
**Figura 2.1** - a) Estrutura química da molécula de glifosato. b) Espécies iônicas do glifosato, de acordo com o pH do meio. Fonte: Borggaard e Gimsing (2008).

GLYP-R tem ação não seletiva e de amplo espectro, ou seja, pode atuar em diversos tipos de ervas daninhas e em outras plantas não-alvo. Sua absorção é feita pelas folhas em crescimento. GLYP-R foi originalmente formulado para atuar no controle de ervas daninhas em plantações de frutas, em regiões próximas a postes de energia elétrica e nas proximidades de linhas de trem. No entanto, a partir de 1996, surgiram no mercado as sementes geneticamente modificadas tolerantes ao GLYP-R. Isso permitiu o uso do herbicida em diversos tipos de culturas (como de soja, milho, algodão, canola, cana-de-açúcar e beterraba), aumentando drasticamente os resíduos do herbicida no ambiente a partir dos anos 1990 (Richmond, 2018; Valle *et al.*, 2019).

Estima-se que, desde 1974, 1,6 milhão de toneladas de GLYP (ingrediente ativo, IA) foram pulverizados nas Américas e 8,6 milhões de toneladas no mundo (Global Glyphosate Study, 2024). O mercado global de herbicidas à base de GLYP (*glyphosate-based herbicides*, GBHs) foi avaliado em US\$ 11,21 bilhões em 2023, com previsão de crescimento para US\$ 11,81 bilhões em 2024 e de US\$ 20,64 bilhões até 2032, com uma taxa de crescimento anual (*compound annual growth rate*, CAGR) de 7,32 %, de 2024 a 2032 (Market Research Future, 2024). Mundialmente, estima-se que houve um total de vendas de GLYP de US\$ 6,05 bilhões em 2023 e que, até 2033, esse valor alcançará US\$ 8,88 bilhões, com CAGR de 4,8 %, no período de 2023 a 2033 (Persistence Market Research, 2023). No Brasil, o mercado

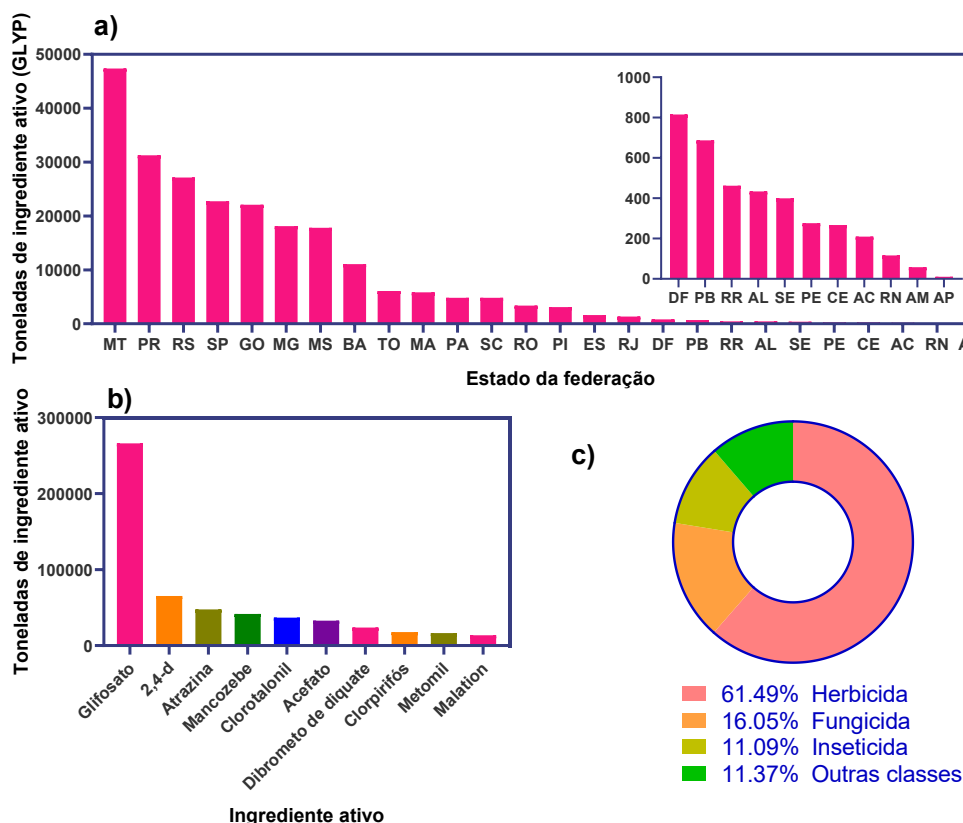


de GLYP também é crescente (Figura 2.2). O último relatório de comercialização de agrotóxicos do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) revelou que, em 2022, o país produziu e vendeu 207.201,25 e 266.088,12 toneladas de GLYP, respectivamente (IBAMA, 2023).



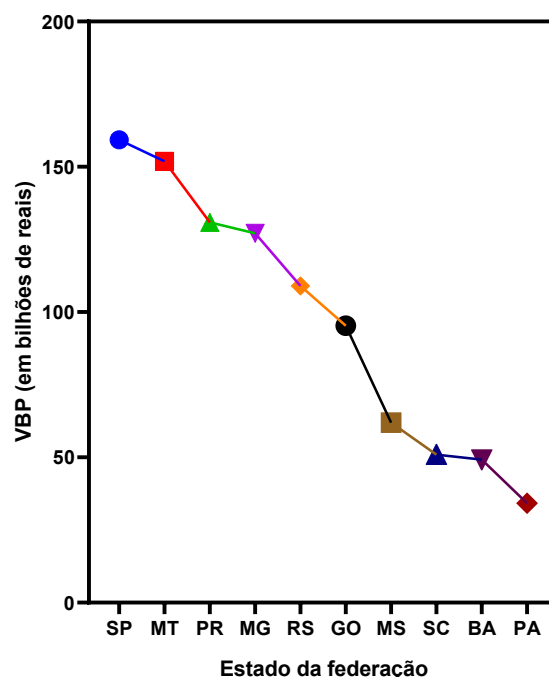
**Figura 2.2** - Produção nacional, importações, exportações e vendas totais de glifosato ao longo dos anos de 2009 a 2022. Fonte: IBAMA (2023).

Em 2022, GLYP teve maior volume de vendas no Mato Grosso (MT), com um total de 47.356,01 toneladas, seguido de Paraná (PR), Rio Grande do Sul (RS) e São Paulo (SP). GLYP apareceu como o IA de formulações de agrotóxicos mais vendido de 2022 e a classe dos herbicidas liderou as vendas, representando 61,49 % do total (Figura 2.3). Em todos os anos anteriores da série histórica de 2009 a 2022, a classe dos herbicidas liderou as vendas e o IA mais vendido também foi GLYP (IBAMA, 2023).



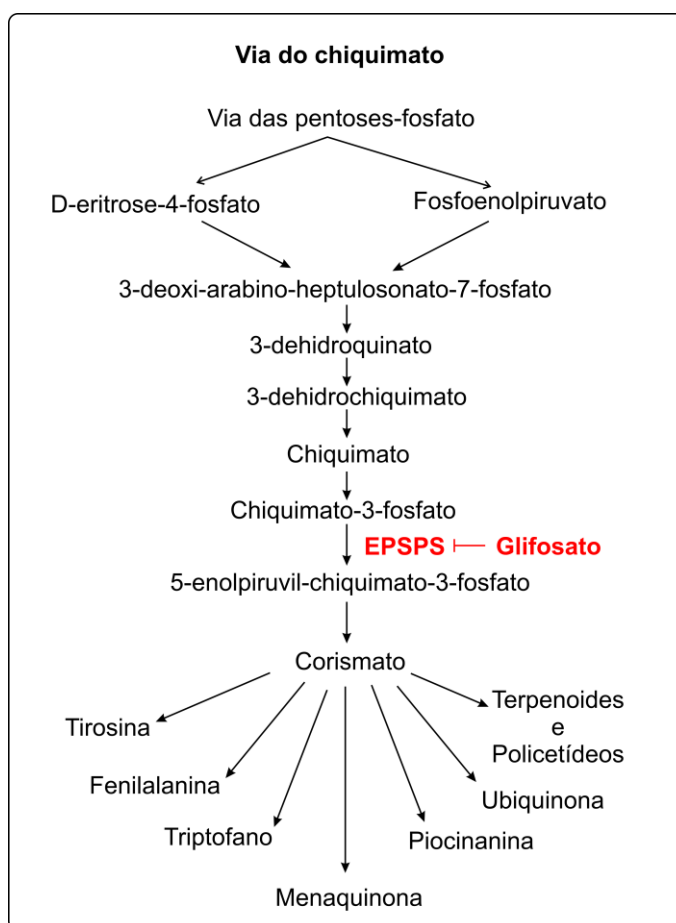
**Figura 2.3** - Dados do comércio brasileiro de agrotóxicos para o ano de 2022: a) vendas de glifosato por estado da federação, b) ingredientes ativos mais vendidos e c) vendas por classe de uso dos produtos formulados. 2,4-d: ácido 2,4-diclorofenoxiacético. Fonte: IBAMA (2023).

A liderança do comércio de GLYP por estados das regiões centro-oeste, sul e sudeste do Brasil (Figura 2.3a) está associada à forte indústria agropecuária dessas regiões, que representa 20 % das exportações brasileiras (Carrança, 2023). As três regiões representam 80 % do valor bruto da produção (VBP) do agronegócio, o que equivale a cerca de R\$ 1,2 trilhão (Estadão, 2023). A Figura 2.4 mostra os estados de maior VBP. As monoculturas de maior destaque nessas regiões são a soja (MT é o maior produtor), a cana-de-açúcar (SP), o milho (MT) e o café (MG). GLYP é largamente usado em todos esses cultivos, na forma de GBHs.



**Figura 2.4** - Estados brasileiros com os maiores valores brutos de produção (VBP) do agronegócio brasileiro. SP: São Paulo, MT: Mato Grosso, PR: Paraná, MG: Minas Gerais, RS: Rio Grande do Sul, GO: Goiás, MS: Mato Grosso do Sul, SC: Santa Catarina, BA: Bahia, PA: Pará.

O efeito herbicida de GLYP é baseado na sua ação sobre a via do chiquimato, que está presente apenas em plantas e bactérias (Figura 2.5). GLYP inibe a enzima 5-enolpyruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS) e suprime a biossíntese de aminoácidos aromáticos, terpenoides e outros nutrientes (Mesnage *et al.*, 2021; Schönbrunn *et al.*, 2001). Como essa via não está presente em mamíferos, o herbicida foi lançado no mercado com a afirmação de não oferecer toxicidade para humanos e animais. No entanto, diversos estudos têm mostrado relação entre a exposição ao GLYP e suas formulações comerciais (GBHs) com o desenvolvimento, principalmente, de neurotoxicidade, toxicidade reprodutiva, hepatotoxicidade e carcinogênese (Wang, X. *et al.*, 2022). Trabalhos compararam a toxicidade de GLYP e GBHs, como o Roundup (o mais conhecido), e mostraram que, geralmente, as formulações comerciais são mais tóxicas do que o IA. Isso ocorre principalmente pela presença de surfactantes tóxicos nas formulações do herbicida, como as alquilaminas polietoxiladas (*polyethoxylated alkylamines*, POEAs), surfactantes não iônicos com origem em gordura animal (sebo). Esses adjuvantes atuam na ruptura da membrana plasmática das células, facilitando a entrada de GLYP no citoplasma (Mesnage; Benbrook; Antoniou, 2019; Song *et al.*, 2012).

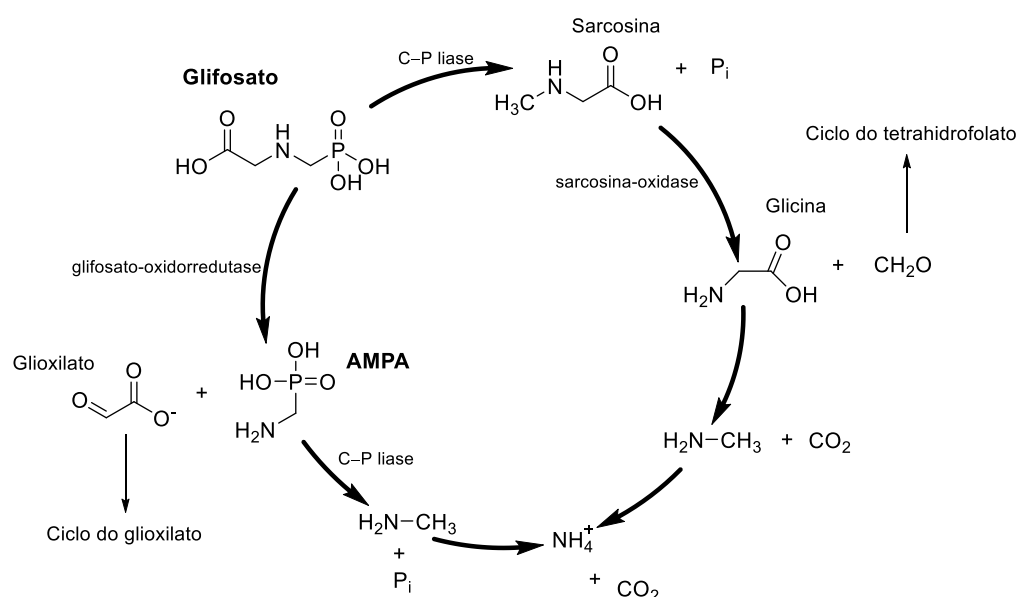


**Figura 2.5** - Via do chiquimato (essencial para a vida de plantas), com destaque para a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase (EPSPS), alvo do glifosato. Fonte: adaptado de Schönbrunn *et al.* (2001).

A degradação de GLYP é realizada principalmente por microrganismos presentes no solo, mas também através de plantas. A biodegradação do glifosato (GLYP) no solo é mediada por uma diversidade de microrganismos, tais como bactérias, fungos e micróbios. GLYP pode ser biodegradado por duas vias (Figura 2.6). Uma delas resulta na formação de sarcosina e fosfato inorgânico, através da quebra da ligação C–P de GLYP, pela ação da enzima C–P liase. A outra via produz ácido aminometilfosfônico (AMPA), o principal metabólito de GLYP, e glioxilato, através da enzima glifosato-oxidoreductase (GOX). Bactérias como *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* spp. e *Streptomyces* sp. contêm C–P liase, enquanto *Ochrobactrum anthropi*, *Penicillium citrinum*, *Alternaria* sp., *Trichoderma* spp., *Arthrobacter atrocyaneus* e, também, *Pseudomonas* sp. produzem GOX. Em geral, AMPA é biodegradado de forma bem mais lenta que GLYP, por C–P liases. No entanto, a meia-vida desses compostos depende de uma série de características, como pH do solo, concentração de fosfato e de elementos como Cu, Fe e carbono orgânico. Outros tipos de enzimas microbianas, como

glifosato *N*-acetiltransferase e glioxilato descarboxilase, degradam GLYP a produtos não herbicidas. Porém, não há dados que indicam que as vias de degradação usando essas enzimas atuam significativamente no meio ambiente. Em menor extensão, a degradação de GLYP e AMPA também pode ocorrer de maneira não enzimática como, por exemplo, através de metais em solução. Já foi relatado que o óxido de manganês quebra a ligação C–P, em meio aquoso. Plantas também metabolizam GLYP, principalmente por meio de vias que utilizam enzimas do tipo GOX (como aldo-ceto redutases, ARKs), mas também por C–P liases, em menor extensão. Ainda há pouco conhecimento sobre o metabolismo de GLYP e AMPA em plantas. Estudos são necessários no sentido de identificar se um mesmo tipo de ARK está presente em todas as plantas e se existem outros tipos de enzimas do tipo GOX (diferentes de ARKs). Além disso, é necessário melhor entendimento da contribuição de enzimas do tipo C–P liase nos processos de degradação, principalmente de AMPA (Bai; Ogbourne, 2016; Duke, 2011, 2020).

### Biodegradação do glifosato

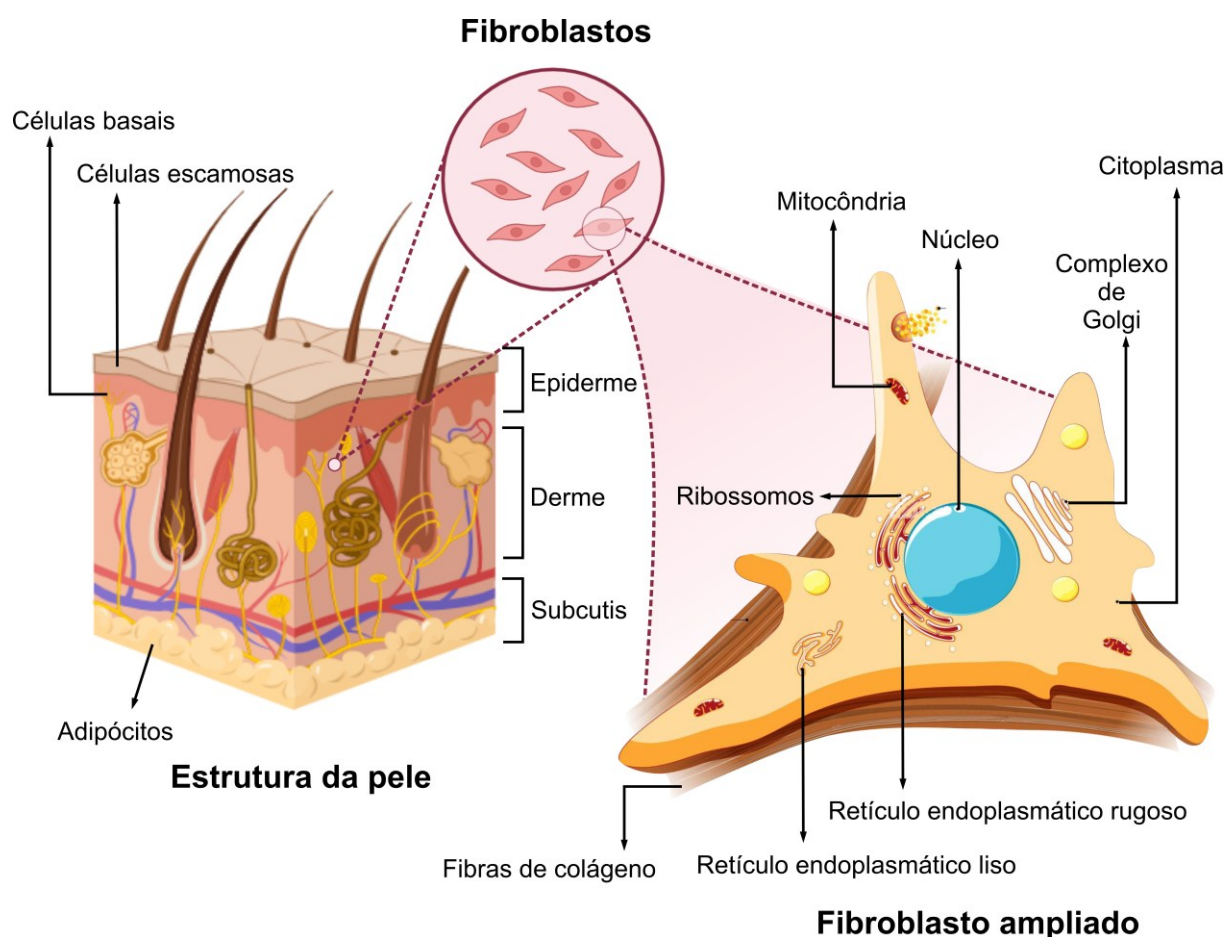


**Figura 2.6** - Vias de biodegradação do glifosato a AMPA e o subproduto glioxilato. Fonte: adaptado de Borggaard e Gimsing (2008).

#### 2.1.2 A pele humana

A pele é o maior órgão do corpo humano e exerce a função fundamental de proteção contra agentes exógenos (como contaminantes ambientais, microrganismos e calor). Além disso, sinaliza alterações endógenas, na forma de efeitos físicos, como manchas, feridas e

mudança de coloração. A pele também é importante na síntese de nutrientes, como vitamina D<sub>3</sub>, e de hormônios. O tecido cutâneo se estrutura em três principais camadas (Figura 2.7): a epiderme, a derme e a hipoderme (ou subcutânea). A hipoderme é a camada mais profunda, onde ficam as células de gordura (adipócitos) e funciona como reserva de energia, isolante térmico e protege os órgãos contra lesões mecânicas. Em seguida, vem a derme, camada mais espessa, onde se situam as células de fibroblastos, os vasos sanguíneos e linfáticos, os folículos capilares e as glândulas sudoríparas. A derme é rica em colágeno e elastina e confere resistência estrutural para a pele. Por fim, a epiderme é a camada mais externa da pele (rica em queratina, células basais e escamosas) e funciona como a primeira barreira de proteção contra os agentes externos (Rodrigues, S., 2023).



**Figura 2.7** - Estrutura da pele humana, com suas camadas e os fibroblastos em destaque.

Os fibroblastos estão presentes não só na pele, mas também em diversos outros órgãos e tecidos. Na pele, os fibroblastos têm a importante função de reparo, atuando na cicatrização de feridas, migrando para o local da lesão. Eles também são células responsáveis pela produção

e manutenção da matriz extracelular, que tem a função de estruturar os órgãos. Os fibroblastos sintetizam e estruturam as fibras de colágeno, muito importantes na elasticidade da pele e na resistência à tração. Eles também atuam na síntese de fatores de crescimento, citocinas e moléculas sinalizadoras importantes na regulação da proliferação, diferenciação e migração celular. Assim, os fibroblastos têm papel fundamental na homeostase (equilíbrio fisiológico), na resposta imune e em processos de sinalização celular (Xu, Y. *et al.*, 2023).

Os fibroblastos dérmicos são facilmente cultivados em laboratório, sem a necessidade de processos de transformação, podendo ser mantidos por até 20 trocas do meio de cultura (passagens), aproximadamente. A principal vantagem deles em estudos *in vitro* é o seu estado indiferenciado, livre de alterações relacionadas a hormônios, dieta e medicamentos. Os fibroblastos estão envolvidos em processos de sinalização e, por causa disso, são células muito úteis em estudos do metabolismo, principalmente de glicose, lipídeos e aminoácidos (Hayashi-Takagi; Vawter; Iwamoto, 2014).

A literatura reporta diversos estudos sobre a pele envolvendo linhagens de fibroblastos, como na avaliação dos efeitos do material particulado (MP) para a saúde da pele humana através da exposição de fibroblastos dérmicos humanos (HDFa) ao MP<sub>2,5</sub> (Rodrigues, S. *et al.*, 2024); os efeitos de raios UVB e do benzo[a]pireno atmosférico em fibroblastos do prepúcio humano (HFF-1) (Yang, X. *et al.*, 2021); a investigação da atividade enzimática e sua correlação com as funções da pele, em HDFa (Harris *et al.*, 1984; Ito *et al.*, 2007); em bioengenharia de pele artificial (Xu, Y. *et al.*, 2023); na atividade biológica de nanomateriais (Rodrigues, M. *et al.*, 2024); dentre outros exemplos. Alguns estudos também avaliaram os efeitos da exposição de fibroblastos da pele humana a agrotóxicos mundialmente usados e reportaram resultados preocupantes (Tabela 2.1).

**Tabela 2.1** - Estudos de exposição de fibroblastos humanos a agrotóxicos, sem o uso de metabolômica.

| Modelo celular                                                  | Agrotóxico                                                                                                                                          | Efeito avaliado                                                                                                                                                                                                                                                  | Resultado                                                                                                                                                                   | Referência                      |
|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Fibroblastos de pele humana (BJ)                                |                                                                                                                                                     | Efeito na síntese do receptor de vitamina D <sub>3</sub> (VDR)                                                                                                                                                                                                   | Alterações na viabilidade celular e na expressão do receptor VDR nuclear, em níveis de mRNA e de proteínas                                                                  | (Sawicki <i>et al.</i> , 2019)  |
|                                                                 | Clorpirifós (inseticida, formicida e acaricida organofosforado)                                                                                     | Efeito na expressão de enzimas envolvidas na síntese de vitamina D <sub>3</sub> , isoformas do citocromo P450 (CYP27A1, CYP27B1 e CYP24A1)                                                                                                                       | Alterações não conclusivas na expressão de todas as isoformas do citocromo P450, indicando a necessidade de estudos futuros para a elucidação dos mecanismos envolvidos     | (Sawicki <i>et al.</i> , 2021)  |
|                                                                 | Lindano (acaricida e preservante de madeiras organoclorado)                                                                                         | Biorremediação de solos com bactérias <i>Paracoccus</i> sp. NITDBR1, <i>Rhodococcus rhodochrous</i> NITDBS9, <i>Ochrobactrum</i> sp NITDBR3, NITDBR4 e NITDBR5                                                                                                   | Solos contaminados com lindano e tratados com as bactérias induziram menor citotoxicidade em BJ, em comparação ao controle (solo contaminado, sem tratamento com bactérias) | (Sahoo; Chaudhuri, 2022)        |
| Fibroblastos de pele humana (nome da linhagem não especificado) | Diazinon (inseticida organofosforado) e seus subprodutos de fotodegradação (diazoxon e 2-isopropil-6-metil-4-pirimidinol), individualmente testados | Inibição das enzimas AChE (desempenha papel fundamental na propagação de impulsos nervos) e Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase (essenciais para a viabilidade celular por controlar várias funções essenciais da célula) e avaliação de efeitos genotóxicos | Diazinon e os subprodutos inibiram as enzimas de maneira dose-dependente; os subprodutos induziram efeito genotóxico 4 vezes maior do que o de diazinon                     | (Čolović <i>et al.</i> , 2010)  |
|                                                                 | Lindano, atrazina, glifosato, permetrina, pentaclorofenol e tiabendazol (individualmente testados)                                                  | Efeitos sobre a proteína ATM (desempenha papel fundamental na resposta celular a danos ao DNA e a outros efeitos genotóxicos)                                                                                                                                    | Todos os agrotóxicos induziram citotoxicidade por inibição de mecanismos de reparo do DNA                                                                                   | (Sonzogni <i>et al.</i> , 2022) |



| Modelo celular                                                                   | Agrotóxico                                                                           | Efeito avaliado                                                                             | Resultado                                                                                             | Referência                      |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Fibroblastos de prepúcio de neonatos humanos (nome da linhagem não especificado) | Piretrina, bioaletrina, fenvalerato, fenotrina, fluvalinato, permetrina e resmetrina | Interação com sítios de ligação do andrógeno [ <sup>3</sup> H]-metiltrienolona (R1881)      | Todos os agrotóxicos inibiram a ligação de R1881 em fibroblastos, resultando em distúrbios endócrinos | (Eil; Nisula, 1990)             |
| HDFa                                                                             | Paraoxon (inseticida organofosforado)                                                | Proteção concedida pelo resveratrol (produto natural bioativo) às células contra o paraoxon | Diminuição da toxicidade induzida pelo paraoxon                                                       | (Zhao, Y. <i>et al.</i> , 2023) |

### 2.1.3 Biomarcadores

Um biomarcador é definido como uma entidade biológica mensurável (estrutural, funcional ou bioquímica) que reflete processos fisiológicos, patológicos ou farmacológicos, permitindo a quantificação objetiva de estados de saúde, progressão de doenças ou respostas terapêuticas. Em nível molecular, biomarcadores englobam: ácidos nucleicos, proteínas e peptídeos, enzimas, metabólitos (como lactato, em hipóxia, e colesterol-LDL, em doenças cardiovasculares), lipídios e RNAs não codificantes. Classificam-se em: biomarcadores diagnósticos, que identificam a presença de uma doença (ex.: troponina cardíaca, em infarto); biomarcadores prognósticos, que preveem evolução clínica (ex.: carga viral do HIV); biomarcadores preditivos que antecipam resposta terapêutica (ex.: mutação EGFR, em câncer de pulmão); e biomarcadores de segurança, que monitoram toxicidade (ex.: alanina aminotransferase (ALT)/aspartato aminotransferase (AST), em hepatotoxicidade). Sua aplicação em medicina personalizada e pesquisa translacional é regulamentada por diretrizes como as da agência de Administração de Alimentos e Drogas dos EUA (*Food and Drug Administration*, FDA), visando validação analítica (sensibilidade, especificidade) e utilidade clínica (He, Z., 2015).

As ciências ômicas, como a metabolômica, são poderosos meios de descoberta de biomarcadores de doenças, como o câncer, erros inatos do metabolismo e distúrbios psiquiátricos (Gomez-Casati; Grisolia; Busi, 2016). Os aminoácidos (AA) são conhecidos biomarcadores de diversos tipos de carcinomas, como de próstata (sarcosina), pulmão (prolina, glicina, metionina, isoleucina, alanina, leucina, tirosina, fenilalanina e lisina), pâncreas (histidina), mama (arginina), esôfago (serina), dentre outros (Cernei *et al.*, 2013; Hu *et al.*, 2016; Iwahashi *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2013; Maeda *et al.*, 2010; Sreekumar *et al.*, 2009; Suzuki *et*

*al.*, 2014; Uhlirova *et al.*, 2018). Também há evidências de que AA são potenciais biomarcadores de sepse<sup>5</sup> (alanina), doenças de Alzheimer (triptofano) e de Parkinson (alanina, arginina, treonina e fenilalanina), transtorno do espectro autista (arginina, cisteína, homocisteína, histidina, metionina, serina, tirosina e valina), tuberculose (fenilalanina), dentre outras doenças (Liu, T. *et al.*, 2024; Socha; Koba; Kośliński, 2019; Sun *et al.*, 2023; Zou, M. *et al.*, 2020).

A seleção de biomarcadores é comumente feita por meio de métodos estatísticos multivariados clássicos, como PCA e PLS-DA, aplicados em dados pré-processados (*features*<sup>6</sup> extraídos, alinhados e normalizados). Geralmente, os estudos começam com o uso do método PCA como análise exploratória dos dados. Em seguida, modelos PLS-DA são construídos para classificar as amostras e indicar potenciais biomarcadores. Recentemente, algoritmos de aprendizado de máquina (AM), como *support vector machines*<sup>7</sup> (SVMs), têm sido utilizados com sucesso em pesquisa de biomarcadores e mostrado melhor capacidade de predição do que os métodos clássicos (Gomez-Casati; Grisolia; Busi, 2016). No entanto, a aplicação de AM requer conjuntos de amostras extensos (em geral,  $n > 150$ ) para a correta aprendizagem do modelo e seu aprimoramento (Galal; Talal; Moustafa, 2022), através de conjuntos de dados de treinamento e de teste (validação externa). Para conjuntos de dados menores, os métodos tradicionais (como o PLS-DA) são mais apropriados.

Um dos passos mais críticos na descoberta de biomarcadores é a validação interna. Essa etapa é fundamental para confirmar que um potencial biomarcador não resulte de um resultado falso-positivo ou falso-negativo. A validação avalia a capacidade do modelo em classificar ou prever corretamente as amostras-teste, além de garantir que os resultados sejam reprodutíveis em conjuntos de amostra mais amplos (He, Z., 2015). As ferramentas mais utilizadas para validar o desempenho de modelos de classificação são a validação interna cruzada, os testes de permutação e o método *receiver operating characteristic* (ROC).

---

<sup>5</sup> Resposta imunológica extrema desencadeada como consequência de uma infecção generalizada, que pode ocasionar falência dos órgãos e, até mesmo, a morte.

<sup>6</sup> Entidades instrumentais (como tempo de retenção cromatográfico, intensidade, volume ou área de pico,  $m/z$ , comprimento de onda etc.) associados a um composto químico.

<sup>7</sup> Algoritmo de aprendizado de máquina supervisionado que não exige distribuição normal dos dados. O algoritmo se baseia em encontrar um hiperplano que melhor divide o conjunto de dados de treinamento em duas classes.

A validação interna cruzada consiste em uma série de testes computacionais (denominados experimentos de subvalidação), cada um dos quais envolvendo um subconjunto removido do conjunto original de dados utilizado na calibração do modelo (conjunto-teste). Os dados restantes são utilizados na construção de um novo modelo, que é aplicado no conjunto que foi removido. Dessa forma, cada experimento de subvalidação testa um conjunto de objetos (amostras) não utilizados na construção do modelo de classificação. Em geral, experimentos de subvalidação testam mais de um subconjunto de objetos. Existem vários métodos de validação cruzada, sendo os seguintes os mais conhecidos: *leave-one-out*, *venetian blinds*, *contiguous blocks* e *random subsets*. Suas principais características estão resumidas na Tabela 2.2. A aplicação do método de validação cruzada mais adequado ao tipo de dados é uma das formas de evitar o sobreajuste (*overfitting*) do modelo (Wise *et al.*, 2006).

**Tabela 2.2** - Principais características dos diferentes métodos de validação cruzada. Adaptado de Wise *et al.* (2006).

|                                              | <i>Venetian Blinds</i>                                                                                                                                                                                     | <i>Contiguous Blocks</i> | <i>Random Subsets</i>                                                                                                                                                                                                                                       | <i>Leave-One Out</i>                                                                                                                      |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Parâmetros                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Número de divisões (<math>s</math>) do conjunto-teste</li> <li>• Número máximo de PCs/LVs</li> <li>• Número total de objetos/amostras (<math>n</math>)</li> </ul> |                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Número de divisões (<math>s</math>) do conjunto-teste</li> <li>• Número de interações (<math>r</math>)</li> <li>• Número máximo de PCs/LVs</li> <li>• Número total de objetos/amostras (<math>n</math>)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Número máximo de PCs/LVs</li> <li>• Número total de objetos/amostras (<math>n</math>)</li> </ul> |
| Propriedades gerais                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fácil</li> <li>• Relativamente rápido</li> </ul>                                                                                                                  |                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fácil</li> <li>• Pode ser lento, se <math>n</math> ou <math>r</math> forem grandes</li> </ul>                                                                                                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fácil (apenas 1 parâmetro)</li> <li>• Evitar usar se <math>n &gt; 20</math></li> </ul>           |
| Número de experimentos de subvalidação       |                                                                                                                                                                                                            | $s$                      | $s \times r$                                                                                                                                                                                                                                                | $s$                                                                                                                                       |
| Número de amostras testadas por subvalidação |                                                                                                                                                                                                            |                          | $n/s$                                                                                                                                                                                                                                                       | 1                                                                                                                                         |
| Pequenos conjuntos de dados (< 20 objetos)   | ×                                                                                                                                                                                                          | ×                        | Aplicável, se muitas interações forem feitas                                                                                                                                                                                                                | ✓                                                                                                                                         |
| Distribuição randomizada dos objetos         | ✓                                                                                                                                                                                                          | ✓                        | Aplicável, mas pode ser lento com $n$ e $r$ grandes                                                                                                                                                                                                         | Aplicável, mas pode ser lento com $n$ grande                                                                                              |

|                   | <i>Venetian Blinds</i>                                       | <i>Contiguous Blocks</i>                                 | <i>Random Subsets</i> | <i>Leave-One Out</i> |
|-------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------|
| Dados em batelada | Útil para avaliar a previsão dentro de lotes/partes de lotes | Útil para avaliar a previsão entre lotes/partes de lotes | ×                     | ×                    |

LV: *latent variable* (variável latente)

PC: *principal component* (componente principal)

Os testes de permutação são outra maneira de avaliar a ocorrência de sobreajuste de modelos de classificação ou regressão. Por meio dessa ferramenta, o bloco Y (classes) é aleatoriamente reordenado, de maneira que cada amostra é incorretamente classificada. Esse processo é repetido por diversas vezes, de acordo com o número de iterações (permutações) escolhido. Cada conjunto de dados permutados é comparado com o conjunto de dados não permutados, utilizando testes estatísticos (como de Wilcoxon e testes-*t*). Se o conjunto aleatoriamente ordenado mostrar um poder de previsão melhor do que o esperado, haverá diferença estatística significativa entre os dois conjuntos, indicando possível sobreajuste do modelo de classificação. Assim, considerando um nível de confiança de 95 %, se  $p < 0,05$ , os conjuntos são estatisticamente diferentes, o que indica que não há sobreajuste do modelo;  $p > 0,05$  indica sobreajuste (Wise *et al.*, 2006).

A área sob a curva ROC (*area under the ROC curve*, AUROC ou AUC), construída com base nas figuras de especificidade<sup>8</sup> (*Sp*) e sensibilidade<sup>9</sup> (*Sens*), é o parâmetro comumente utilizado no diagnóstico do desempenho dos modelos de classificação (como PLS-DA). Valores de AUROC próximos de 1 indicam perfeita discriminação entre as classes, enquanto valores abaixo de 0,5 indicam que não houve discriminação (Pollo *et al.*, 2021; Szymańska *et al.*, 2012).

Os biomarcadores podem servir como ferramentas de diagnóstico rápido, não invasivo, com alta sensibilidade e, por vezes, de baixo custo, auxiliando na melhor qualidade de vida dos pacientes e até mesmo aumentando as chances de cura, visto que, através de um diagnóstico a nível molecular, as doenças podem ser identificadas precocemente (Nishiumi *et al.*, 2010; Pasikanti; Esuvaranathan; *et al.*, 2010). Os indivíduos que trabalham na aplicação de GLYP-R

<sup>8</sup> Também chamada de seletividade, mede a capacidade preditiva do modelo na classificação de amostras “controle”;  $Sp = \frac{TN}{TN+FP}$ , em que TN é a taxa de verdadeiros negativos e FP é a taxa de falsos positivos.

<sup>9</sup> Mede a capacidade preditiva do modelo na classificação de amostras “tratamento ou caso”;  $Sens = \frac{TP}{TP+FN}$ , em que TP é a taxa de verdadeiros positivos e FN é a taxa de falsos negativos.

em lavouras ou que vivem nas proximidades dessas regiões estão expostos ao herbicida por diferentes formas. A exposição pode ocorrer pela pele, através do consumo de alimentos contaminados, pelo ar ou pela água (Helander *et al.*, 2018; Li, M. H. *et al.*, 2016; Ramirez Haberkon; Aparicio; Mendez, 2021). Nesse sentido, a descoberta de biomarcadores da exposição ao herbicida pode funcionar como ferramenta de diagnóstico precoce e eficiente, contribuindo para evitar a descoberta tardia de doenças de difícil tratamento.

#### **2.1.4 A contribuição da metabolômica ambiental**

A literatura reporta muitos trabalhos de metabolômica da exposição a agrotóxicos, como na avaliação do impacto de endosulfan, aldrin, DDT, lindano e suas misturas em células de fígado (HepG2) (Zuluaga *et al.*, 2016); no estudo dos efeitos de profenós, cipermetrina, endosulfan, imidacloprid, triazofos e dinitroanilina na saúde de trabalhadores ocupacionais, por meio de análise de urina e saliva (Ch *et al.*, 2019) e na pesquisa de biomarcadores da exposição a DDT, permetrina (PMT) e suas misturas, usando cultura de células de hepatócitos (Jellali *et al.*, 2018). Há diversos estudos envolvendo metabolômica e GLYP, principalmente em solos, animais e plantas (Aristilde *et al.*, 2017; Hsiao *et al.*, 2024; Krause, J. *et al.*, 2020; Mesnage; Antoniou, 2022; Petersen *et al.*, 2011; Wang, B.; Habermehl; Jiang, 2022). Porém, há poucos trabalhos usando metabolômica na avaliação da toxicidade de GLYP e GBHs para humanos e animais (Tabela 2.3). Ainda não foi feito nenhum estudo de metabolômica da exposição de células de pele humana a GLYP e GBHs, o que abre espaço para investigações nesse sentido.

**Tabela 2.3** - Principais trabalhos de metabolômica da exposição de células, humanos e animais ao glifosato.

| Forma de glifosato                                    | Amostra                                                | Tempo de exposição | Técnica de análise dos metabólitos         | Concentrações testadas                               | Efeito                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Referência                        |
|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Roundup® LB plus                                      | Microbiota intestinal de porcos                        | 3 dias             | HPLC/QTOF-MS/MS                            | 228 mg dia <sup>-1</sup>                             | Pequenas alterações nos níveis de vitamina B6 e do ácido cólico (ácido biliar), sem indicação de efeitos toxicológicos. Não houve mudanças na síntese de aminoácidos aromáticos, nem nas enzimas da via do chiquimato, A metabolização de GLYP não foi observada na comunidade microbiana estudada.                                                                                              | (Krause, J. <i>et al.</i> , 2020) |
| GLYP e Roundup MON 52276                              | Microbiota intestinal e soro de ratos Sprague-Dawley   | 90 dias            | RP/UPLC-ESI-MS/MS e (HILIC)/UPLC-ESI-MS/MS | 0,5, 50 e 175 mg kg <sup>-1</sup> *dia <sup>-1</sup> | Inibição da enzima EPSPS (via do chiquimato) e alterações de cisteinilglicina, γ-glutamilglutamina e valilglicina no metaboloma intestinal por GLYP e Roundup. GLYP provocou alterações de nicotinamida, taurina e de aminoácidos no metaboloma sérico (do soro), indicando resposta a estresse oxidativo. Roundup mostrou efeito similar, porém mais pronunciado que GLYP no metaboloma sérico. | (Mesnage <i>et al.</i> , 2021)    |
| GLYP livre e complexado com nanoplasticos (NP) de PET | Células Caco-2 (epitélio intestinal humano)            | 48 h               | RMN                                        | 1,7 mg L <sup>-1</sup>                               | Alterações nas razões de concentração de lactato/glicose, lactato/alanina e de acetato em relação ao controle, como resposta ao estresse produzido pela exposição aos contaminantes (GLYP livre e GLYP-NP). Não houve diferença estatística entre as razões de metabólitos, quando comparados os dois tratamentos.                                                                               | (Magrì <i>et al.</i> , 2021)      |
| GLYP                                                  | Soro de trabalhadores ocupacionais de fábricas de GLYP | 2 anos             | GC/MS                                      | –                                                    | 27 metabólitos alterados, relacionados com o metabolismo de AA, energético (glicólise e ciclo do ácido cítrico) e de glutatona, indicando estresse oxidativo nos trabalhadores expostos.                                                                                                                                                                                                         | (Zhang, Q. <i>et al.</i> , 2022)  |

| Forma de glifosato | Amostra                                                   | Tempo de exposição | Técnica de análise dos metabólitos | Concentrações testadas                           | Efeito                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Referência                   |
|--------------------|-----------------------------------------------------------|--------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| GLYP               | Soro e fezes de ratos C57BL/6J                            | 6 meses            | LC/ESI-MS                          | 1,75 e 175 mg kg <sup>-1</sup> dia <sup>-1</sup> | As principais alterações metabólicas foram observadas no metaboloma fecal: 68 metabólitos alterados considerando a dose alta de GLYP e 29 para a dose baixa. Na dose alta de exposição, houve diminuição de aminoácidos aromáticos apenas nas fezes, indicando desregulação da via do chiquimato, atuante na flora bacteriana intestinal dos ratos. Poucas alterações no metaboloma sérico. | (Hsiao <i>et al.</i> , 2024) |
| GBHs               | Urina de indivíduos que trabalham com a aplicação de GBHs | –                  | RMN                                | –                                                | Foram detectados GLYP e AMPA no material coletado, além de sarcosina, formaldeído, ácido glioxílico e metilamina. Os resultados indicaram que ocorre metabolização de GLYP em humanos.                                                                                                                                                                                                      | (Tajai <i>et al.</i> , 2024) |

\* de massa corporal

### 2.1.5 Aminoácidos

Os aminoácidos são os constituintes básicos das proteínas e precursores de muitos hormônios e neurotransmissores. Estão envolvidos em diagnósticos clínicos, de erros inatos do metabolismo, na pesquisa biomédica, em ciências dos alimentos e em outras áreas (Johnson *et al.*, 2014; Kaspar *et al.*, 2009; Tian *et al.*, 2018). Os aminoácidos livres<sup>10</sup> são importantes para o crescimento, manutenção e reparação celular e aparecem com alta frequência em trabalhos de metabolômica *targeted*. Alguns estudos determinaram AA livres em vários tipos de amostras, como plasma humano (De Luca *et al.*, 2020; Do Nascimento, E. *et al.*, 2019; Erarpat *et al.*, 2020; Goulart *et al.*, 2019; Van Harskamp *et al.*, 2020), urina (Hanff *et al.*, 2019), tabaco (Wang, J. *et al.*, 2020), extratos de plantas (Mykhailenko *et al.*, 2020), saliva (Santos, P. *et al.*, 2020), fezes de pacientes (Trošt *et al.*, 2020), soro e fluido cérebro-espinhal humano (Pautova *et al.*, 2020) etc.

Apesar de não serem voláteis, é possível que AA sejam determinados por GC/MS, desde que submetidos previamente a reações de derivatização, responsáveis pela substituição de grupos funcionais polares por grupos mais apolares (voláteis e termicamente estáveis). Os dois procedimentos de derivatização de aminoácidos mais usados para as análises por GC/MS são a sililação e a alquilação.

Na sililação, um átomo de hidrogênio lábil é substituído por um grupo alquilsilil. Os principais reagentes sililantes são o *N,O*-bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) e o *N*-metiltrimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA). Esse procedimento, apesar de ser muito empregado, apresenta problemas de estabilidade para alguns derivados de AA, como é o caso de arginina. Outra desvantagem é a necessidade de meios anidros para que a reação seja eficaz, visto que os reagentes sililantes são instáveis em meio aquoso (Kaspar *et al.*, 2009).

Outra classe de reagentes derivatizantes que tem sido utilizada na derivatização de aminoácidos é a de alquil cloroformatos. Nesse tipo de derivatização, uma alquilação converte o grupo carboxílico do aminoácido em um éster e o grupo amino em um carbamato, na presença do álcool correspondente e piridina (Hušek, 1998; Kaspar *et al.*, 2009). Esse procedimento pode

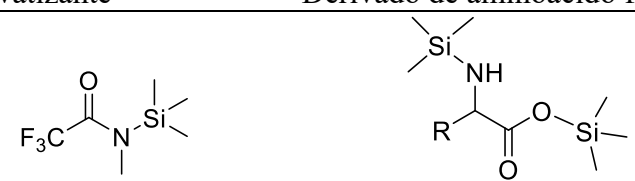
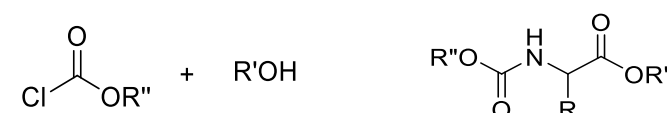
---

<sup>10</sup> Aminoácidos que não fazem parte das estruturas das proteínas, ou seja, que estão livres nos meios intra e extracelulares.



ser empregado em amostras aquosas sem a necessidade de prévia precipitação de proteínas. Além disso, a reação é rápida e os derivados são coletados em um solvente orgânico que pode ser diretamente injetado no sistema cromatográfico (Husek; Simek, 2006). A Tabela 2.4 mostra as estruturas químicas dos derivados formados pelos dois processos de derivatização.

**Tabela 2.4** - Estruturas químicas dos produtos de reações de derivatização de aminoácidos com MSTFA e alquilcloroformatos. Adaptado de Kaspar *et al.* (2009).

| Reagente derivatizante | Derivado de aminoácido formado                                                     |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| MSTFA                  |  |
| Alquil cloroformato    |  |

A pesquisa de biomarcadores de exposição da pele humana a GLYP e GBHs ainda não foi realizada. Pela sua versatilidade em aplicações clínicas, AA podem funcionar como biomarcadores de doenças, inclusive aquelas causadas pela exposição ao glifosato e suas formulações comerciais, como descrito nesta tese.

## 2.2 Objetivos

### 2.2.1 Objetivo geral

Procurar potenciais biomarcadores da exposição de fibroblastos humanos ao glifosato comercial, em uma abordagem de metabolômica *targeted* e *untargeted*.

## 2.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a citotoxicidade do glifosato em fibroblastos de pele humana utilizando ensaios de metabolismo mitocondrial, de morte celular e de estresse oxidativo;
- Otimizar as etapas de *quenching* e extração de metabólitos para a construção do protocolo de metabolômica;
- Escolher o melhor procedimento de derivatização dos metabólitos: por metil ou propil cloroformato;
- Desenvolver um método GC×GC/Q-TOFMS para análise de aminoácidos e metabólitos *untargeted*;
- Utilizar a metabolômica na pesquisa de potenciais biomarcadores de efeito do glifosato (formulação comercial).

## 2.3 Parte experimental

### 2.3.1 Suprimentos e equipamentos

Agitador de tubos tipo vórtex, Biomixer QL 901 (São Paulo, Brasil); agitador magnético com aquecimento, Fisatom modelo 752A (São Paulo, Brasil); balança analítica ( $d = 0,00001$  g), Shimadzu AUW220D (Kyoto, Japão); balança analítica ( $d^{11} = 0,0001$  g), Shimadzu AUY220 (Kyoto, Japão); balança ( $d = 0,001$  g), Shimadzu BL320H (Kyoto, Japão); banho ultrassônico, Soni-Tec do Brasil SONITOP 404 A (São Bernardo do Campo, Brasil); banho-maria, DELTA 105Di (Belo Horizonte, Brasil); bloco de alumínio ( $10\text{ cm}^3$ ) com furo central, Metal Aço BH LTDA (Belo Horizonte, Brasil); cabine de fluxo laminar, Thermo Scientific 1387, (Massachusetts, EUA); centrífuga de microtubos, Eppendorf Centrifuge 5415 (Hamburgo, Alemanha); centrífuga para tubos tipo Falcon, Thermo Scientific Heraeus Megafuge (Massachusetts, EUA); contador automático de células, Life Technologies Countess® II FL (Califórnia, EUA); cromatógrafo a gás Agilent 7890B (Wilmington, EUA) acoplado a espectrômetro de massas com analisador quadrupolo-tempo de voo Agilent 7250 (Wilmington, EUA), equipado com modulador de *loop* térmico Zoex ZX2 (Houston, EUA); espectrofluorímetro, BioTek Instruments Synergy 2 (Vermont, EUA); espectrofotômetro, Thermo Scientific Multiskan GO (Massachusetts, EUA); estufa de CO<sub>2</sub>, Thermo Scientific Forma Series II (Massachusetts, EUA); frascos de vidro transparente com tampa (2,0 mL),

---

<sup>11</sup> Intervalo de escala.

Nova Analítica (São Paulo, Brasil); garrafa de cultura celular T75 estéril, Sarstedt REF 83.3911 (Nümbrecht, Alemanha); espectrofotômetro, BioTek Elx800 (Vermont, EUA); liofilizador, Christ Alpha 1-2 (Osterode am Har, Alemanha); micropipetas de 1,00 a 10,0 µL; 10,0 a 100,0 µL e 100,0 a 1000,0 µL, Gilson Pipetman (Middleton, EUA); microscópio digital de fluorescência, Life Technologies EVOS™ (Califórnia, EUA); microscópio óptico, Olympus IX70 (Tóquio, Japão); microscópio invertido, Motic AE2000 (Wetzlar, Alemanha); microtubos de polipropileno (2 mL), Sarstedt REF 72.694.006 (Nümbrecht, Alemanha); pHmetro, Mettler Toledo SevenCompact™ S220 (Columbus, EUA); pipetador automático, BIOHT Midi Plus (Helsínquia, Finlândia); pipeta sorológica (10,0 mL), Sarstedt REF 86.1254.001 (Nümbrecht, Alemanha); placas estéreis para cultura celular (6, 24 e 96 poços), Sarstedt (Nümbrecht, Alemanha); *scraper* celular de 25 cm, Sarstedt REF 83.1830 (Nümbrecht, Alemanha); tubos de ensaio (5 mL), Prolab (São Paulo, Brasil); tubo de polipropileno de 120 × 17 mm (15 mL), Sarstedt 62.554.502 (Nümbrecht, Alemanha); tubo de polipropileno de 114 × 28 mm (50 mL), Sarstedt 62.547.254 (Nümbrecht, Alemanha); ultrafreezer (–80 °C), Thermo Scientific 88300D63 (Massachusetts, EUA).

### 2.3.2 Gases, reagentes e soluções

1-propanol, grau HPLC, Merck (Darmstadt, Alemanha); 3-metilpiridina, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); acetonitrila, grau HPLC, J. T. Baker (Pensilvânia, EUA); ácido clorídrico, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); água ultrapura, Elga (Lane End, Reino Unido); álcool etílico (70 %), CRQ (São Paulo, Brasil); aminoácidos (materiais de referência), pureza ≥ 98 %, Merck (Darmstadt, Alemanha); anfotericina, grau PA, Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); cloreto de cálcio anidro, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); cloreto de magnésio hexa-hidratado, grau PA, Dinâmica (São Paulo, Brasil); cloreto de potássio, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); cloreto de sódio, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); clorofórmio, grau HPLC, J. T. Baker (Pensilvânia, EUA); corante Hoechst 33342, grau PA, Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); EDTA, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); estreptomicina, grau PA, Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); fenol, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); gás hélio comprimido, pureza de 99,999 %, Air Products (Belo Horizonte, Brasil); gás nitrogênio industrial comprimido, Air Products (Belo Horizonte, Brasil); glifosato, pureza = 98,7 %, Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha); hidróxido de sódio, grau PA, Panreac (Barcelona, Espanha); Image-

iT™ LIVE Green Reactive Oxygen Species Detection Kit (I36007), Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); iodeto de propídeo, grau PA, Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); iso-octano, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); meio de cultura (DMEM, *Dulbecco's modified eagle medium*), Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); metanol, grau HPLC, J.T. Baker (Pensilvânia, EUA); Nonidet P-40, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); penicilina, grau PA, Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); propil cloroformato, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); reagente derivatizante 1 (1-propanol 77 %; 3-metilpiridina 23 %), armazenado a -4 °C; reagente derivatizante 2 (propil cloroformato 17,4 %; iso-octano 11,0 %; clorofórmio 71,6 %), armazenado a -4 °C; Resazurina, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); Roundup Original DI, Monsanto/Bayer (Missouri, EUA); solução de detergente neutro (5 %), Cromoline (São Paulo, Brasil); solução estabilizante (1,0 mL de 1-propanol; 1,0 mL de solução fenólica em água; 328,0 µL de tiodietilenoglicol; água ultrapura até completar o volume de 10,0 mL), armazenada a -20 °C; solução tampão fosfato (PBS, *phosphate buffer solution*), Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); soro fetal bovino, Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA); tiodietilenoglicol, grau PA, Merck (Darmstadt, Alemanha); tris-base, grau PA, Biosolve (Valkenswaard, Países Baixos); Triton 100×, grau PA, Thermo Fischer Scientific (Massachusetts, EUA).

### 2.3.3 Ensaios biológicos

#### 2.3.3.1 Ensaio de proliferação celular usando MTT

Inicialmente, foi necessário determinar a concentração ideal de células de fibroblastos de pele humana (HDFa) para os experimentos de citotoxicidade. As células foram cultivadas em garrafa T75, contendo meio de cultura DMEM, até atingirem a confluência<sup>12</sup> mínima de 90 %. Em seguida, foi feita a contagem das células ( $8,0 \times 10^5$  células mL<sup>-1</sup>). A partir dessa solução-estoque de células, foram feitas diluições para diferentes níveis de concentração ( $0,5 \times 10^5$ ;  $1,0 \times 10^5$ ;  $2,0 \times 10^5$  e  $4,0 \times 10^5$  células mL<sup>-1</sup>). Em seguida, as células foram transferidas para placa de 96 poços (100 µL/poço), com cinco repetições ( $n = 5$  poços) para cada nível de concentração (incluindo o nível da solução-estoque:  $8,0 \times 10^5$  células mL<sup>-1</sup>). O

---

<sup>12</sup> Porcentagem da área da garrafa de cultura coberta por células. É uma medida usada para avaliar o crescimento celular.

controle positivo (100 % de células mortas) consistiu em três poços contendo Triton 0,2 % em DMEM. A placa foi incubada em estufa de CO<sub>2</sub> (5 % de CO<sub>2</sub>, a 37 °C) por 24 h. Em seguida, o meio de cultura de cada poço foi substituído por 100,0 µL de uma solução de MTT em DMEM (1:9), preparada a partir de solução-estoque de MTT em água (5,0 mg mL<sup>-1</sup>). A placa foi coberta com folha de alumínio e incubada por 3 h em estufa de CO<sub>2</sub>. Em seguida, a solução de MTT foi removida e a cada poço foram adicionados 100,0 µL de solução de SDS (10 %) em HCl (1,0 mol L<sup>-1</sup>). A placa foi novamente coberta e incubada em estufa de CO<sub>2</sub>, por 24 h. Em seguida, o conteúdo de cada poço foi homogeneizado, utilizando-se micropipeta. As bolhas foram removidas e foi medida a absorbância dos cristais de formazan, no comprimento de onda de 570 nm. A absorbância do branco (poços com MTT + SDS/HCl) foi subtraída das demais medidas. Os resultados foram apresentados em um gráfico de absorbância em função da concentração de células. Este e todos os ensaios biológicos foram feitos em 3 replicatas biológicas, ou seja, em três dias diferentes, espaçados por uma semana.

#### 2.3.3.2 Ensaio de metabolização de resazurina

Foram avaliados os efeitos citotóxicos do glifosato, tanto na forma de composto puro (GLYP) como de formulação comercial (GLYP-R), do AMPA (composto puro) e da mistura (GLYP + AMPA) em células HDFa. Para avaliar a citotoxicidade, adotou-se o ensaio de metabolização da resazurina, conforme adaptado do protocolo de Riss *et al.* (2004), por ser mais prático do que o tradicional MTT, e foi aplicado aos três tratamentos citados. Para a determinação do tempo de exposição, as células foram cultivadas em placas de 96 poços (2,0 × 10<sup>4</sup> células poço<sup>-1</sup>) por 24 h, em estufa de CO<sub>2</sub> (uma placa para cada tratamento). Em seguida, as células foram expostas, separadamente, a 100,0 µL de GLYP, GLYP-R, AMPA e GLYP + AMPA diluídos em DMEM em diferentes concentrações (10,0; 50,0; 80,0; 100,0; 120,0; 150,0; 200,0 e 400,0 mg L<sup>-1</sup>), cada uma com cinco repetições. As diluições de GLYP-R foram feitas a partir de Roundup comercial (com glifosato 370 g L<sup>-1</sup>); as diluições de GLYP e AMPA foram feitas a partir de soluções-padrão desses compostos em água (1000,0 mg L<sup>-1</sup>). As placas foram, então, incubadas em estufa de CO<sub>2</sub> por diferentes períodos (24, 48 e 72 h). Escolhido o melhor tempo de exposição, as células foram novamente incubadas nas mesmas condições. Foram feitos controles positivos (Triton 0,2 % em DMEM) e negativos (células não expostas). Em seguida, o meio foi removido e as células foram incubadas com 100,0 µL de solução de resazurina (0,01 mg mL<sup>-1</sup>) preparada em DMEM. As placas foram incubadas por

3 h e posteriormente foi feita a medida da absorbância (em 570 nm) do cristal de resorufin formado, usando o espectrofotômetro Thermo Scientific Multiskan GO (Waltham, USA). A absorbância dos poços em branco (poços vazios) foi subtraída das demais medidas. A partir da curva de dose-dependência (% de metabolização de resazurina *versus* concentração de composto), foi calculado o valor de IC<sub>50</sub> para cada tratamento.

#### 2.3.3.3 Ensaio de morte celular utilizando iodeto de propídeo

Para avaliar se GLYP-R e GLYP podem induzir morte celular em HDFa, foi feito um ensaio de marcação com iodeto de propídeo (PI), com base em informações do fabricante. As células foram cultivadas em placa de 24 poços, por 24 h, na concentração de  $2,0 \times 10^5$  células poço<sup>-1</sup>, em triplicata, e nas mesmas condições de incubação descritas no subtópico 2.3.3.2. Em seguida, as células foram expostas a 100,0 µL de GLYP-R diluído em DMEM, nas concentrações de 50,0, 100,2 e 400,0 mg L<sup>-1</sup> e a placa foi incubada por mais 24 h. Células não expostas foram utilizadas como controle. Após a incubação, foram adicionados 10,00 µL de PI (10,0 µg mL<sup>-1</sup>) a todos os poços, a placa foi coberta com folha de alumínio e incubada por 10 min. Em seguida, foram adicionados 10,00 µL de Hoechst 33342 na concentração de 10,0 µg mL<sup>-1</sup> e as células foram incubadas por mais 10 min. Terminado o tempo de incubação, o meio de cultura foi trocado e as imagens das células marcadas foram adquiridas em microscópio digital de fluorescência EVOS™, Life Technologies (California, USA), usando a objetiva de 10×. O processamento das imagens (10 campos<sup>13</sup> por concentração de GLY-R) e a contagem de núcleos ocorreram no software ImageJ (Schneider; Rasband; Eliceiri, 2012).

#### 2.3.3.4 Ensaio de estresse oxidativo

A detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS) produzidas pelas células expostas ao GLYP-R foi avaliada por meio do *kit* Image-iT™ LIVE Green Reactive Oxygen Species Detection (I36007), seguindo as instruções do fabricante e com base no trabalho de Rodrigues, M. *et al.* (2024). As células foram cultivadas em placa de 96 poços, por 24 h, na mesma concentração e nas mesmas condições de incubação descritas no subtópico 2.3.3.2. Em seguida,

---

<sup>13</sup> Regiões capturadas.

as células foram tratadas com 100,0 µL de GLYP-R em DMEM (10,0; 50,0; 100,2 e 400,0 mg L<sup>-1</sup>) e incubadas por 24 h, juntamente com o controle negativo (células não expostas ao GLYP-R). Células tratadas apenas com peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 500,0 µmol L<sup>-1</sup> foram utilizadas como controle positivo da produção de ROS. Essas células foram incubadas com 100,0 µL de solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por 90 min. Após a incubação, as células foram lavadas com 100,0 µL de solução tampão PBS/Ca/Mg e marcadas com 100,0 µL de carboxi-H<sub>2</sub>DCFDA 25,0 µmol L<sup>-1</sup>. A placa foi coberta com folha de alumínio e incubada por 30 min. Em seguida, foi feita a medida da fluorescência de carboxi-H<sub>2</sub>DCFDA (excitação: 485/20 nm, emissão: 530/25 nm) usando o leitor de microplacas Synergy 2 (BioTek Instruments, Vermont, EUA). A fluorescência dos poços em branco foi subtraída de todas as demais medidas.

### 2.3.4 *Quenching*, coleta das células e preparo do extrato de metabólitos

O protocolo de *quenching*, coleta das células (*harvesting*) e extração de metabólitos foi adaptado do trabalho de Rodrigues, S. *et al.* (2024), que determinou AA em células HDFa utilizando GC×GC/Q-TOFMS. Algumas etapas do protocolo original foram modificadas após testes de otimização univariada, as quais foram: a lise celular (comparando PBS e NETN<sup>14</sup>), o solvente de extração (comparando metanol/acetonitrila, MeOH/ACN, 1:1 e metanol/clorofórmio/água, MeOH/CHCl<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O, 7:2:1) e a pré-concentração da amostra (liofilização e não liofilização).

### 2.3.5 Sistema cromatográfico (GC×GC/Q-TOFMS)

A aquisição dos dados *untargeted* e *targeted* foi feita usando um sistema GC×GC/Q-TOFMS, composto por um cromatógrafo Agilent 7890B acoplado a um espectrômetro de massas híbrido do tipo quadrupolo-tempo de voo (Agilent 7250), fabricados em Wilmington (USA). O modulador utilizado foi do tipo *loop* térmico (Zoex, modelo ZX2), fabricado em Houston (USA). O sistema estava equipado com o software Agilent MassHunter v. 10.2 (2023) para a aquisição dos cromatogramas brutos, com o software GC Image v. 2.9r3 (2020), para aquisição e tratamento dos cromatogramas bidimensionais e com a biblioteca NIST 17 v. 2.3 (2017).

<sup>14</sup> Tampão de lise celular composto por cloreto de sódio (150,0 mmol L<sup>-1</sup>), EDTA (1,0 mmol L<sup>-1</sup>), Tris-base (20,0 mmol L<sup>-1</sup>) e Nonidet P-40 (0,5 %).

No método otimizado, o sistema operou com a coluna <sup>1</sup>D HP-5MS (30 m × 250 μm × 0,25 μm) e a coluna <sup>2</sup>D Rxi-17Sil MS (2 m × 0,15 mm × 0,15 μm). O injetor foi usado na temperatura de 250 °C, no modo *splitless* (0,5 min) e o gás de arraste utilizado foi He (1,2 mL min<sup>-1</sup>). O forno foi aquecido inicialmente a 80 °C (1 min). Em seguida, a temperatura aumentou até 150 °C (permanecendo nesta temperatura por 2 min), com a taxa de 5 °C min<sup>-1</sup> e, finalmente, aumentou até 270 °C (3 min), com a taxa de 3 °C min<sup>-1</sup>. O período de modulação ( $P_M$ ) foi de 6 s e o tempo de jato quente foi de 1 s, com *offset* de +30 °C em relação ao forno. Foi usado gás nitrogênio a -80 °C como jato frio (20,0 L min<sup>-1</sup>). A linha de transferência operou a 280 °C, a fonte de íons, a 250 °C e o quadrupolo, a 150 °C. Foi empregada a ionização por elétrons (EI), a 70 eV, no modo positivo. Os espectros foram adquiridos a 50 Hz no modo *full MS*, na faixa de  $m/z$  50 a 650. Por fim, o detector operou a 800 V (*micro channel plate*, MCP) e 551 V (*photo-multiplier tube*, PMT).

### 2.3.6 Derivatização

Dois tipos de derivatização por alquilação de metabólitos (incluindo AA) foram testados em extratos de células não expostas (controle): metil cloroformato/metanol (Villas-Bôas *et al.*, 2003) e propil cloroformato/propanol (Batista *et al.*, 2020). O melhor protocolo de derivatização foi escolhido com base na melhor separação 2D e no maior número de picos detectados, utilizando os seguintes filtros de detecção: SNR > 100, área mínima do contorno = 5 pixels, volume e altura mínimos de pico = 100, *smoothing* (<sup>1</sup>D) = 0,1 e *smoothing* (<sup>2</sup>D) = 5,0.

### 2.3.7 Desenvolvimento do método GC×GC

Com base nos trabalhos de Miyazaki *et al.* (2017), Pasikanti *et al.* (2010), Purcaro *et al.* (2018) e Rodrigues, S. *et al.* (2024), foi desenvolvido um mesmo método GC×GC para as duas abordagens metabolômicas (*targeted* e *untargeted*). Os parâmetros testados foram o programa do forno,  $P_M$ , o tempo de jato quente, a temperatura do modulador (*offset* do jato quente) e do injetor, o modo de injeção (*split* e *splitless*) e a temperatura da fonte de ionização. Amostras derivatizadas de extratos celulares (controle) foram utilizadas nos testes de otimização. A escolha dos melhores parâmetros foi feita com base na melhor separação 2D e no maior número de picos detectados, utilizando os mesmos filtros mencionados no tópico 2.3.6.



### 2.3.8 Processamento de dados

Os cromatogramas bidimensionais foram processados no software GC Image. Inicialmente, foi feita a correção de linha de base de cada cromatograma, utilizando os seguintes parâmetros: *deadband data points: 5, distribution: 7,00, filter type: median-mean, filter window size: 7* e *strides per modulation cycle: 1*. Foi feita a remoção de ruído espectral devido a sangramentos na coluna e, em seguida, a detecção dos picos, com  $S/N > 100$ . Por fim, os cromatogramas foram alinhados por meio de *autotemplate* de *features* construído de acordo com o algoritmo *Consistent Cliques Method* (CCD), descrito por Reichenbach *et al.* (2013).

Os dados alinhados foram normalizados pelo *feature* correspondente à L-norvalina (padrão interno) e pela massa de proteína de cada extrato. A dosagem de proteínas seguiu o protocolo descrito por Bradford (1976). A plataforma *online* MetaboAnalyst 6.0 (Pang *et al.*, 2024) foi utilizada para as análises multivariadas dos dados — por meio da construção de modelos quimiométricos (PCA e PLS-DA) e de modelos de potenciais biomarcadores — e na interpretação biológica.

### 2.3.9 Identificação dos metabólitos

Os espectros de massas dos metabólitos da análise *untargeted* foram comparados com os espectros da biblioteca NIST 17 e do banco de dados de metabolômica *The Human Metabolome Database* (HMDB) (Wishart *et al.*, 2022). Foi utilizado um fator de *match*  $> 750$ . A tentativa de identificação foi feita com os índices de retenção ( $I$ ) dos compostos, calculados pela Eq. (1), elaborada por van Den Dool e Kratz (1963).

$$I = 100i \frac{t_{(X)} - t_{(n)}}{t_{(n+i)} - t_{(n)}} + 100n \quad \text{Eq. (1)}$$

Em que  $I$  é o índice de retenção do composto;  $t_{(X)}$ , o tempo de retenção;  $t_{(n)}$  e  $t_{(n+i)}$ , os tempos de retenção dos alcanos que eluem imediatamente antes e depois do composto, respectivamente;  $n$ , o número de carbonos do alcano que elui imediatamente antes do composto e  $i = 1$  é a diferença do número de carbonos entre dois alcanos consecutivos da série homóloga.

O erro percentual de  $I$  para cada composto foi determinado através da Eq. (2).

$$\text{erro (\%)} = \frac{I_{\text{calculado}} - I_{\text{literatura}}}{I_{\text{literatura}}} \times 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

Os metabólitos *targeted* (AA) foram identificados pela comparação dos espectros de massas adquiridos com os espectros dos padrões analíticos derivatizados e dos de tempos de retenção.

### 2.3.10 Validação *targeted*

Na validação do método *targeted*, foram avaliados os parâmetros linearidade, precisão intermediária, repetibilidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e recuperação. A linearidade, a repetibilidade, a precisão intermediária e a recuperação foram avaliadas de acordo com o guia da Eurachem (Magnusson; Örnemark, 2014). Os parâmetros LOD e LOQ foram estimadas de acordo com o guia da Agência Europeia de Medicamentos (EMA) (ICH, 2024). Inicialmente, foi feita uma curva de calibração exploratória com 6 níveis de concentração de AA, igualmente espaçados, na faixa de interesse (0,1 a 1,0 mg L<sup>-1</sup>), a partir de uma solução estoque 10,0 mg L<sup>-1</sup>. A curva de calibração mostrou linearidade na faixa escolhida. No entanto, quando as respostas de extratos celulares foram interpoladas nessa curva, os valores de concentração ficaram muito acima de 1,00 mg L<sup>-1</sup>. Isso indicou que as amostras deveriam ser diluídas ou a faixa de trabalho aumentada. Para preservar o sistema GC×GC, no sentido de evitar *overload* das colunas e saturação do detector, optou-se pela diluição das amostras e a faixa de calibração final foi limitada a 1,5 mg L<sup>-1</sup>. As curvas de calibração finais foram construídas em seis níveis de concentração, cada um com cinco repetições, cobrindo a faixa linear de 0,100 a 1,500 mg L<sup>-1</sup>. As amostras de extratos foram diluídas em água, em diferentes fatores de diluição, para que a resposta de cada AA (volume de pico do analito normalizado pelo volume de pico de Norv) se situasse dentro da respectiva faixa linear.

A repetibilidade foi avaliada em dois níveis de concentração (0,250 e 0,400 mg L<sup>-1</sup>), com seis repetições cada, em um mesmo dia. O resultado foi relatado pelo desvio-padrão relativo (%RSD) das respostas. A precisão intermediária foi avaliada nos mesmos níveis de concentração da repetibilidade, em dois dias (6 repetições de cada nível por dia), pelo mesmo analista. O resultado foi relatado como %RSD das 12 repetições de cada nível.

Os parâmetros LOD e LOQ de cada AA foram estimadas com base em Eq. (3) e Eq. (4):

$$\text{LOD} = \frac{3,3\sigma}{S} \quad \text{Eq. (3)}$$

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S} \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde  $\sigma$  e  $S$  são, respectivamente, o desvio-padrão do intercepto e a inclinação da reta de regressão das curvas de calibração.

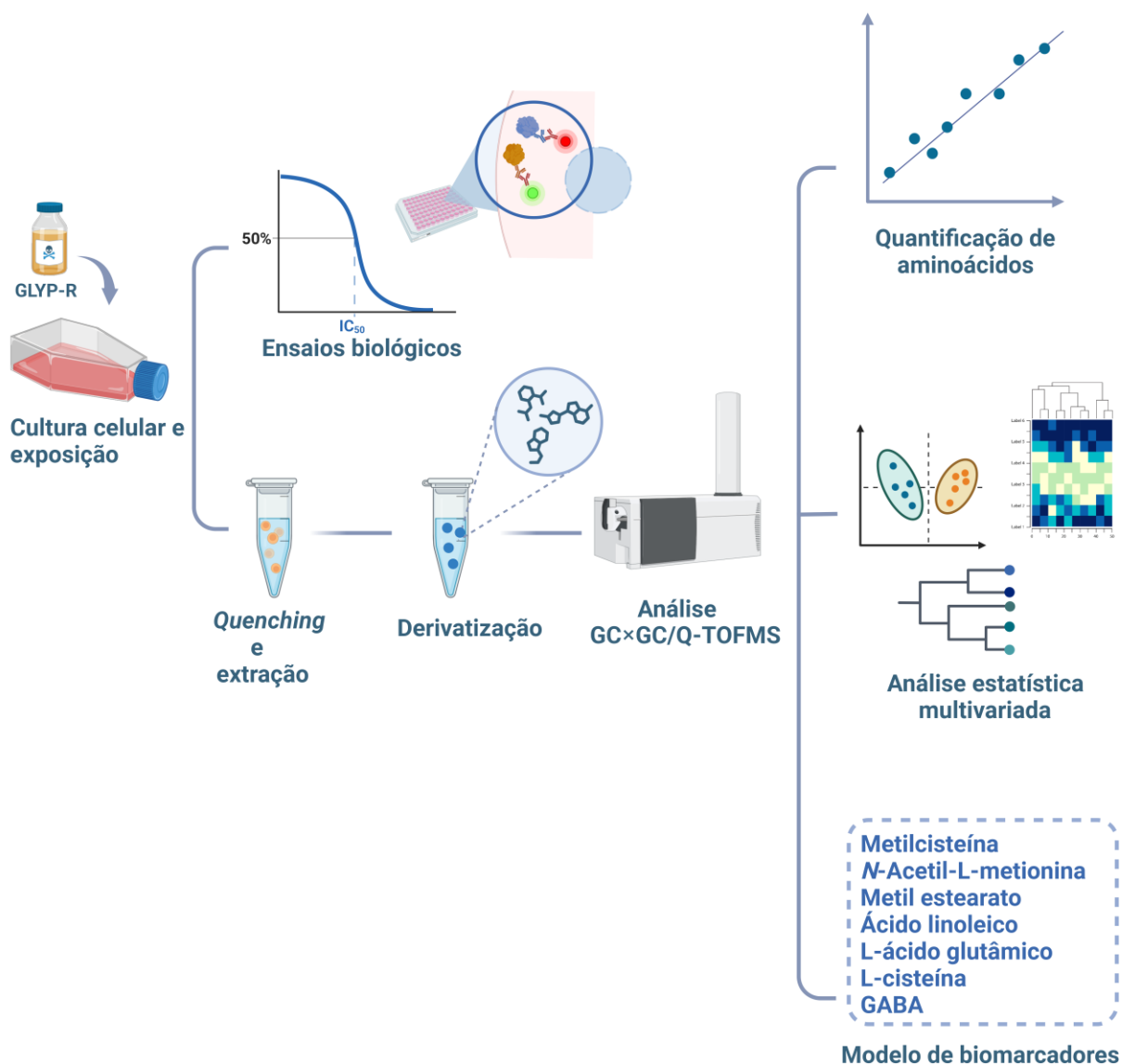
A obtenção de uma matriz branca de amostras de cultura de células é impraticável, pois, até mesmo o meio de cultura contém AA. Por esse motivo, a recuperação foi estimada usando amostras enriquecidas (adicionadas de analitos). Dez replicatas de uma amostra de extrato de células enriquecida com AA, em concentrações de 0,250 mg L<sup>-1</sup> (para Ala, Asn, Asp, GABA, Glu, Ile, Phe, Pro, Sar, Ser, Trp, Val) e 0,400 mg L<sup>-1</sup> (para Cys, Gln, Gly, His, Leu, Lys, Met, Thr, Tyr), foram derivatizadas e analisadas. A recuperação relativa foi calculada de acordo com a Eq. (5):

$$R'(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{ad}} \times 100 \quad \text{Eq. (5)}$$

Em que  $\bar{x}'$  é o valor médio da concentração de analito na amostra enriquecida,  $\bar{x}$  é o valor médio da concentração de analito na amostra sem adição de analito e  $x_{ad}$ , o valor da concentração de analito adicionada à amostra.

## 2.4 Resultados e discussão

Para investigar de forma abrangente os efeitos de GLYP-R nas células de fibroblastos, foram utilizados, em conjunto, ensaios biológicos, metabolômica *untargeted/targeted* e quimiometria (Figura 2.8).



**Figura 2.8** - Fluxograma das ferramentas utilizadas no estudo da exposição de fibroblastos humanos ao GLYP-R.

### 2.4.1 Ensaio de proliferação celular

A absorbância do cristal de formazan é relacionada com a quantidade de MTT metabolizado pela mitocôndria da célula (Riss *et al.*, 2004). Dessa maneira, a curva de proliferação das células é construída pela absorbância do cristal de formazan *versus* concentração de células. A curva de proliferação obtida para as células HDFa está representada na Figura 2.9. Para experimentos de citotoxicidade, a concentração ideal de células é aquela situada na metade da curva exponencial de proliferação (Batista *et al.*, 2023). Assim, para os

ensaios biológicos subsequentes, foi escolhida a concentração de  $2,0 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ , o que equivale a  $2,0 \times 10^4$  células poço<sup>-1</sup> (considerando uma placa de 96 poços).

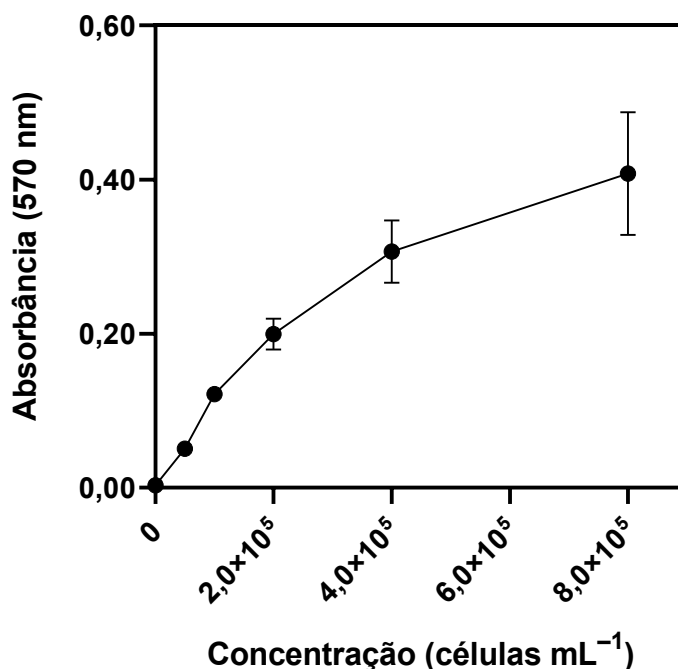


Figura 2.9 - Curva de proliferação de células HDFa ( $n = 3$ ).

#### 2.4.2 Efeito citotóxico de GLYP-R e GLYP em células HDFa

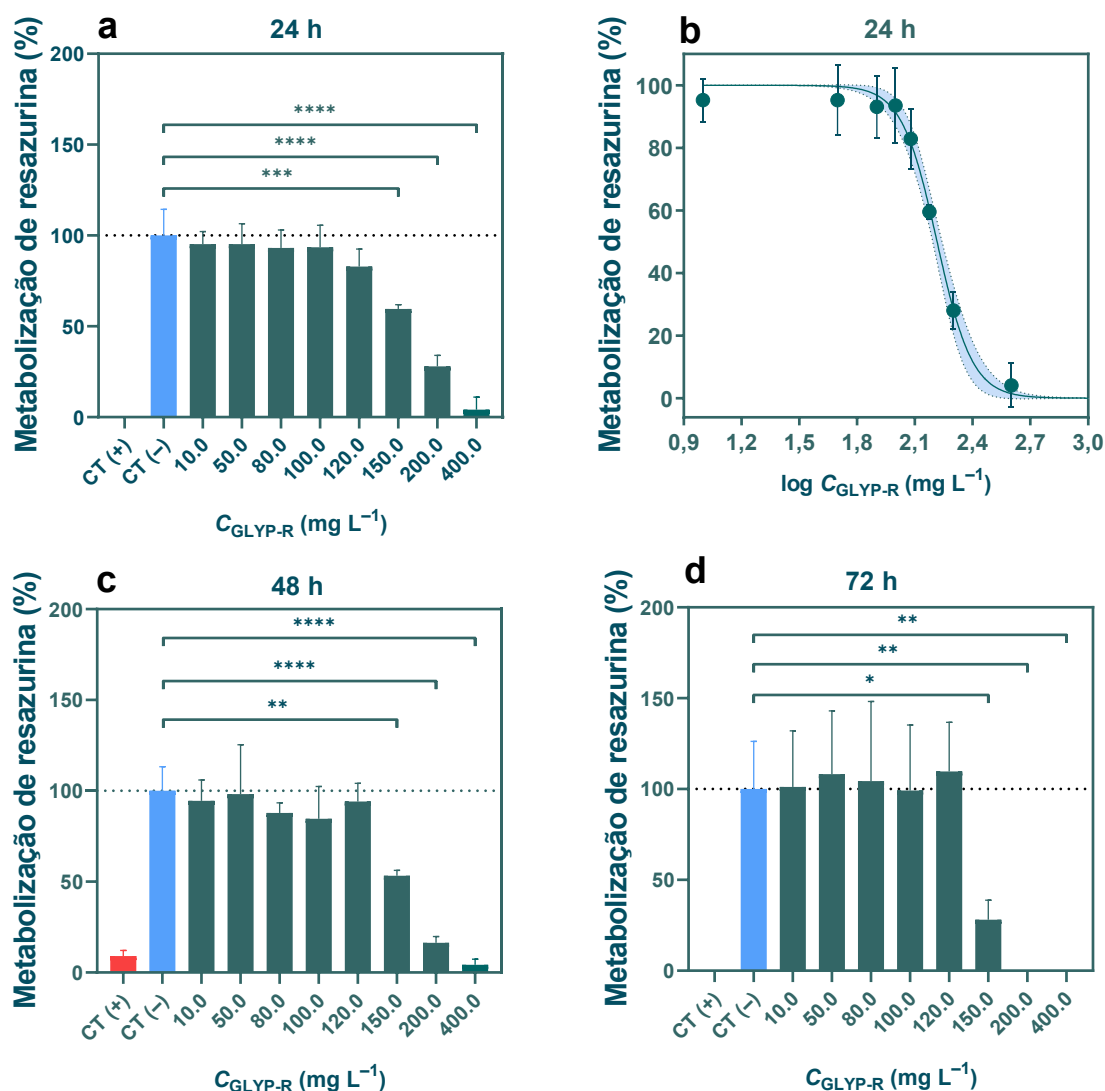
A formulação comercial Roundup (GLYP-R) contém glifosato na concentração de  $370 \text{ g L}^{-1}$ , de acordo com o rótulo do produto. Para uso agrícola, o herbicida é aplicado na diluição final de 0,5 a 3,0 %, o que corresponde à concentração de GLYP de 1,8 a  $11,1 \text{ g L}^{-1}$ . De acordo com o fabricante, esses valores de concentração são considerados seguros para a saúde humana (Monsanto, 2023). Escolheu-se, então, trabalhar com uma faixa de concentração de GLYP de 10,0 a  $400,0 \text{ mg L}^{-1}$  (bem abaixo dos valores mencionados), para investigar o poder citotóxico do glifosato em concentrações muito abaixo daquelas consideradas seguras para humanos. O maior nível de concentração de GLYP nos testes de exposição das células se situou cerca de cinco vezes abaixo da menor concentração de uso agrícola ( $1,8 \text{ g L}^{-1}$ ).

Em relação ao controle negativo (CT-), concentrações de GLYP-R ( $C_{\text{GLYP-R}}$ ) abaixo de  $120,0 \text{ mg L}^{-1}$  não induziram toxicidade nas células, em nenhum dos tempos de exposição estudados (Figura 2.10a). A concentração de  $400 \text{ mg L}^{-1}$  mostrou o maior efeito citotóxico

(maior metabolização de resazurina), indicando alta diminuição da viabilidade celular. Não houve grande alteração no perfil de metabolização em 48 e 72 h (Figura 2.10c, d), indicando que o efeito citotóxico de GLYP-R não aumentou significativamente com os tempos de exposição estudados. Assim, o tempo de 24 h foi escolhido para a estimativa do IC<sub>50</sub><sup>15</sup> (Figura 2.10b) e fixado nos experimentos subsequentes. O controle positivo (CT+) se mostrou eficiente, pois, estatisticamente ( $p < 0,0001$ ), não apresentou indicativo de viabilidade celular quando comparado ao CT-. Após a remoção de *outliers*, o modelo de regressão não linear da curva de dose-dependência não apresentou falta de ajuste ( $p = 0,8566$ ,  $R^2 = 0,9648$ ) e a distribuição dos resíduos foi homogênea. O valor encontrado para IC<sub>50</sub> (GLYP-R) foi de  $164,2 \pm 8,7 \text{ mg L}^{-1}$ , considerando o intervalo de confiança de 95 %.

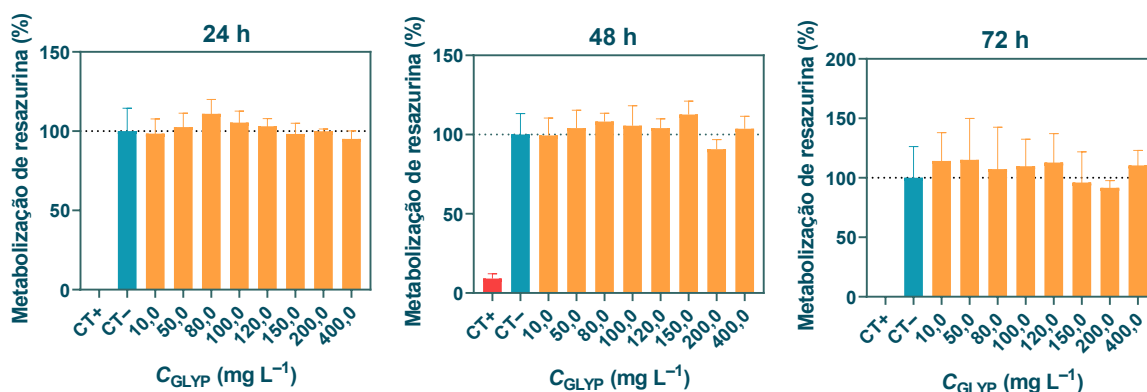
---

<sup>15</sup> O valor de  $C_{\text{GLYP-R}}$  que, quando interpolado na curva de regressão, correspondeu a 50 % de metabolização de resazurina.



**Figura 2.10** - a, c e d) Metabolização de resazurina pelas células HDFa exposta a diferentes concentrações de GLYP-R (10,0 a 400,0 mg L<sup>-1</sup>), em diferentes tempos (24, 48 e 72 h). b) Curva de dose-dependência do efeito citotóxico de GLYP-R considerando o período de exposição de 24 h ( $n = 5$ ). CT(+): células com Triton 0,2 %; CT(-): apenas células. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Para os tratamentos envolvendo GLYP, o mesmo perfil de metabolização foi observado em todos os tempos de exposição estudados (Figura 2.11). Para confirmar esse resultado, foi aplicado o ensaio de MTT na mesma faixa de concentrações de GLYP e nos mesmos tempos de exposição. O mesmo perfil de metabolização do MTT foi obtido, ou seja, não houve diferença estatística entre os tratamentos, indicando que GLYP não induziu citotoxicidade nos fibroblastos, nas concentrações estudadas.



**Figura 2.11** - Metabolização de resazurina pelas células HDFa exposta a diferentes concentrações de GLYP (10,0 a 400,0 mg L<sup>-1</sup>), em diferentes tempos (24, 48 e 72 h),  $n = 5$ . CT(+): células com Triton 0,2 %; CT(-): apenas células.

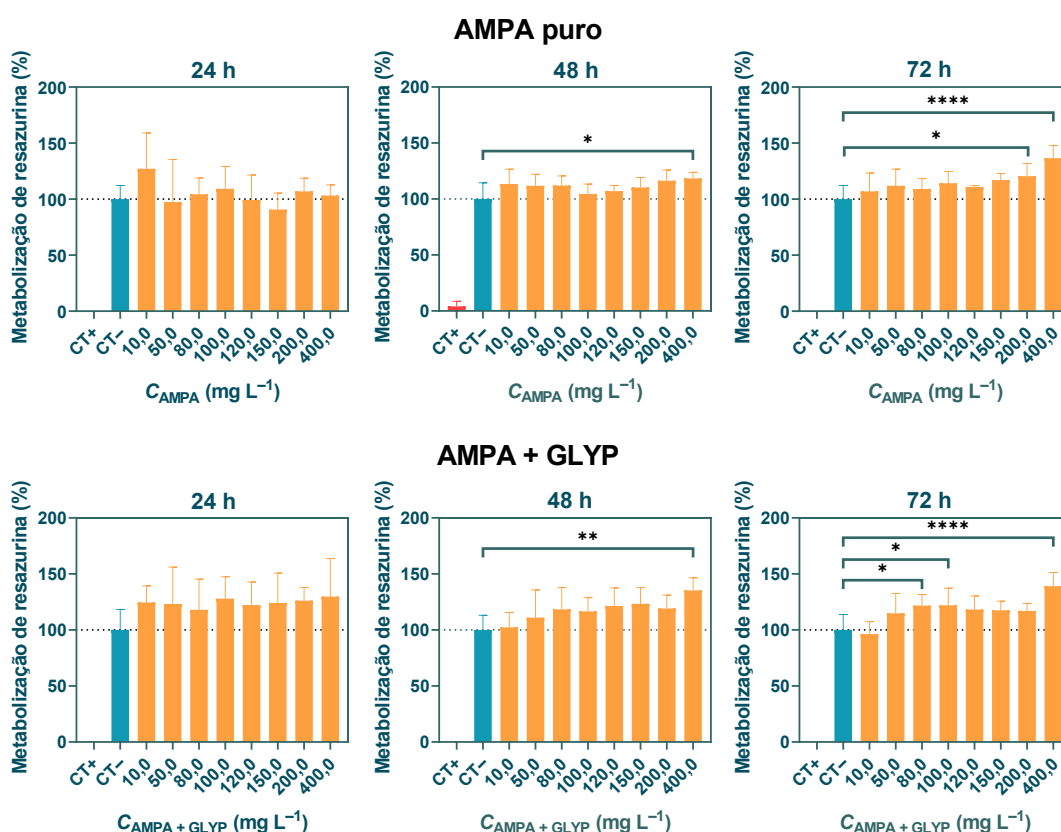
Esse resultado é semelhante ao de vários trabalhos que demonstraram que as formulações comerciais do glifosato são mais tóxicas do que o composto puro (Gasnier *et al.*, 2009; Martins-Gomes *et al.*, 2022; Richard *et al.*, 2005). Um exemplo é o trabalho de Nagy *et al.* (2019), que testou o efeito de glifosato e GBHs (0,17 a 169,07 mg L<sup>-1</sup>) em glóbulos brancos periféricos humanos. Os autores verificaram que o glifosato puro não induzia efeitos cito e genotóxico significativos nas células, enquanto Roundup e outros GBHs induziram.

A maior citotoxicidade de GBHs tem sido associada aos adjuvantes presentes nessas formulações, como POEAs. Nas formulações de glifosato, POEAs são agentes emulsificantes, dispersantes e umectantes (Tush; Loftin; Meyer, 2013). Mesnage, Bernay e Séralini (2013) analisaram a composição de 9 tipos de herbicidas comerciais (incluindo diferentes formulações de Roundup), na faixa de 0,1 a 10000 mg L<sup>-1</sup>, usando MALDI-TOF-MS/MS, e confirmaram a presença de POEAs em 6 GBHs, com destaque para POE-15. Através de ensaios *in vitro*, os autores também mostraram que os herbicidas contendo POE-15 causaram danos na membrana celular (necrose/apoptose) e nas mitocôndrias de células embrionárias do fígado (HepG2), da placenta (JEG3) e do rim (HEK293) de humanos. Através do ensaio de concentração micelar crítica (CMC), o estudo demonstrou que POE-15 foi capaz de romper a membrana plasmática das células. Isso comprovou que os adjuvantes têm importância determinante no efeito citotóxico dos GBHs. Provavelmente, em concentrações de GLYP acima das estudadas no presente trabalho, o composto puro seria citotóxico para HDFa, mas isso implicaria em testar concentrações acima de 400,0 mg L<sup>-1</sup>.



### 2.4.3 Efeito citotóxico de AMPA e sua mistura com GLYP em células HDFa

O ensaio de citotoxicidade não mostrou diminuição da metabolização de resazurina pelas células HDFa com o aumento das concentrações de AMPA puro e da mistura AMPA + GLYP, nos três tempos de exposição (Figura 2.12). Nos tempos de 48 e 72 h, houve um aumento (anômalo) estatisticamente significativo na porcentagem de metabolização, principalmente para as concentrações mais altas de compostos (200,0 e 400,0 mg L<sup>-1</sup>), em relação ao CT-. Esse resultado pode ser explicado por erros técnicos, como a pipetagem desigual das células. Assim, se os poços referentes às maiores concentrações de compostos tiveram maior concentração de células, isso promoveu maior metabolização de resazurina.



**Figura 2.12** - Metabolização de resazurina pelas células HDFa expostas a AMPA e GLYP, nas concentrações de 10,0 a 400,0 mg L<sup>-1</sup>, em dois tratamentos (AMPA puro e mistura AMPA + GLYP), em diferentes tempos (24, 48 e 72 h),  $n = 5$ . CT(+): células com Triton 0,2 %; CT(-): apenas células. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

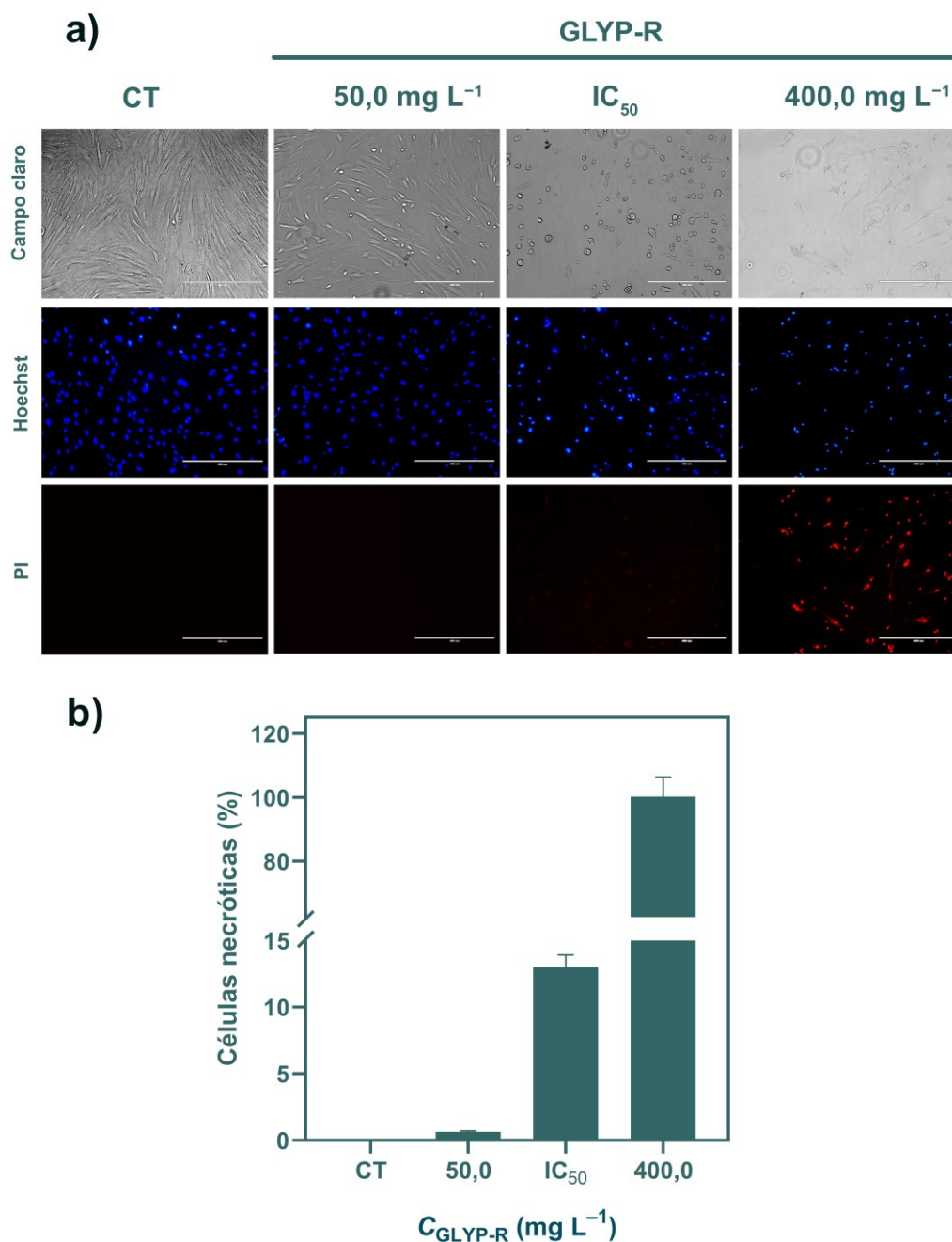
De acordo com a Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*, WHO), AMPA e GLYP têm toxicidade similar, considerando experimentos feitos em animais e células humanas (WHO, 2005). Além disso, a revisão feita por Martins-Gomes *et al.* (2022) sobre a

toxicidade de GLYP e GBHs mostrou que não há evidências de biotransformação de GLYP em AMPA em humanos. No entanto, outros estudos mostraram o contrário. É o caso do trabalho conduzido por Benachour e Séralini (2009). Os autores avaliaram a exposição de células primárias do cordão umbilical neonatal (HUVEC), de rim embrionário (HEK 293) e da placenta (JEG3) ao AMPA, GBHs e GLYP. Os resultados mostraram que AMPA puro induziu citotoxicidade em concentrações acima de 0,5 % (5000,0 mg L<sup>-1</sup>) e que a mistura AMPA + GLYP provocou danos à membrana plasmática em concentrações acima de 0,05 % (500,0 mg L<sup>-1</sup>), valores elevados de concentração. Baseando-se nos resultados de Benachour e Séralini (2009), esta tese indicou que HDFa é resistente aos efeitos citotóxicos de AMPA + GLYP, em concentrações abaixo de 400,0 mg L<sup>-1</sup>. Caso valores mais altos de concentração fossem testados, o efeito citotóxico poderia ser observado. Porém, esse seria um cenário fora do objetivo desta tese (avaliar o efeito citotóxico em baixa dose de contaminante).

#### 2.4.4 Ensaio de morte celular em HDFa

O ensaio de resazurina indicou a diminuição da viabilidade de células HDFa expostas ao GLYP-R como resultado de um efeito citotóxico. Para avaliar se as células sofreram morte celular, foi realizado o ensaio de marcação com PI (uma sonda fluorescente). A sonda fluorescente PI penetra células com a membrana celular comprometida e não penetra células viáveis, liga-se ao DNA (o que causa aumento da fluorescência de 20 a 30 vezes, desenvolvendo uma coloração vermelha) e pode ser usada para indicar morte celular por necrose (Arndt-Jovin; Jovin, 1989). O corante Hoechst marca de azul todos os núcleos das células (viáveis ou não). Células expostas ao GLYP-R e tratadas com PI foram marcadas em vermelho enquanto células não expostas ao GLYP-R e tratadas com PI não foram marcadas (Figura 2.13a). Isso indicou que GLYP-R causou necrose em HDFa, na extensão de 0 % para o controle (CT);  $0,64 \pm 0,07$  % para GLYP-R 50,0 mg L<sup>-1</sup>;  $13,00 \pm 0,93$  % para IC<sub>50</sub> e  $100,2 \pm 6,2$  % para GLYP-R 400 mg L<sup>-1</sup> (Figura 2.13b). Esse resultado foi confirmado pela análise da morfologia celular (imagens em campo claro), que mostrou deformação da superfície celular em concentrações de GLYP-R superiores a 50,0 mg L<sup>-1</sup>. Assim, GLYP-R 0,1 % (400,0 mg L<sup>-1</sup> de GLYP) é suficiente para causar a morte completa das células de fibroblastos humanos. Conforme já foi demonstrado na literatura (Heu *et al.*, 2012; Martini; Gabrielli; Vila, 2012), os resultados encontrados neste trabalho confirmam que GLYP-R pode ser altamente tóxico para a pele humana, considerando

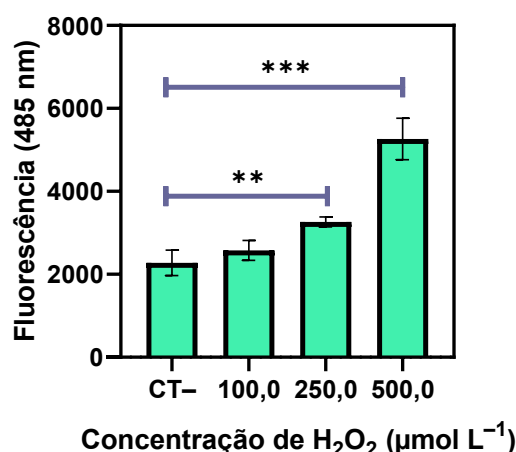
que é aplicado em concentrações cerca de 10 vezes acima do maior valor de concentração avaliado no presente estudo.



**Figura 2.13** - a) Imagens representativas das células sem marcação (campo claro), marcadas com Hoechst (azul) e PI (vermelho) em diferentes condições de exposição ao GLYP-R e do CT (células não expostas), barra de escala de 400  $\mu$ m. b) Porcentagem de células mortas por necrose (média com desvio-padrão,  $n = 10$ ) induzida pela exposição ao GLYP-R, construído pela razão do número de células marcadas com PI pelo número de células marcadas com Hoechst.

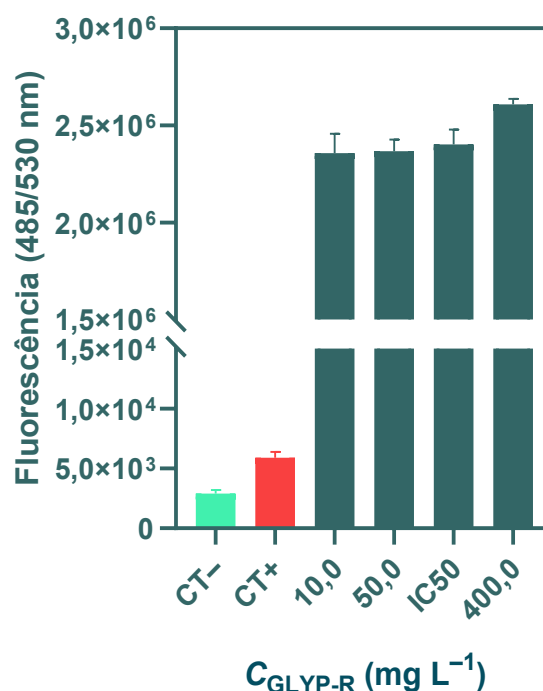
### 2.4.5 Estresse oxidativo de GLYP-R em células HDFa

O melhor controle positivo para estresse oxidativo utiliza  $H_2O_2$  para induzir uma produção significativa de ROS, ou seja, maior fluorescência de carboxi- $H_2DCFDA$  em células tratadas do que no controle negativo (células não expostas a  $H_2O_2$ ). Para a escolha do controle positivo, os fibroblastos foram incubados com diferentes concentrações de  $H_2O_2$  por 90 min, seguindo o procedimento descrito no subtópico 2.3.3.4. A concentração de  $H_2O_2$  que mais diferiu estatisticamente do controle negativo foi de  $500,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  ( $p < 0,001$ ) (Figura 2.14). Esta concentração foi escolhida como controle positivo.



**Figura 2.14** - Efeito da concentração de  $H_2O_2$  na indução de estresse oxidativo. Controle negativo (CT-): células não tratadas com  $H_2O_2$ . Os experimentos foram realizados com  $n = 5$ ;  $**p < 0,01$ ,  $***p < 0,001$ .

Estudos *in vitro* (com células renais e hepatócitos humanos) e *in vivo* (com ratos e camundongos) já mostraram que GLYP é uma agente causador de estresse oxidativo (Wang, X. *et al.*, 2022). No presente trabalho, foi observado que células de fibroblastos humanos marcadas com carboxi- $H_2DCFDA$  e expostas ao GLYP-R emitiram maior fluorescência (cerca de 800 vezes mais) do que células marcadas e não expostas (Figura 2.15). O grande aumento de fluorescência observado nos tratamentos com GLYP-R implica em um grande aumento na produção de ROS em células expostas ao herbicida. Isso confirma o que já mostra a literatura para outros modelos biológicos e acrescenta a novidade de que GLYP-R também induz estresse oxidativo em células de fibroblastos de pele humana.

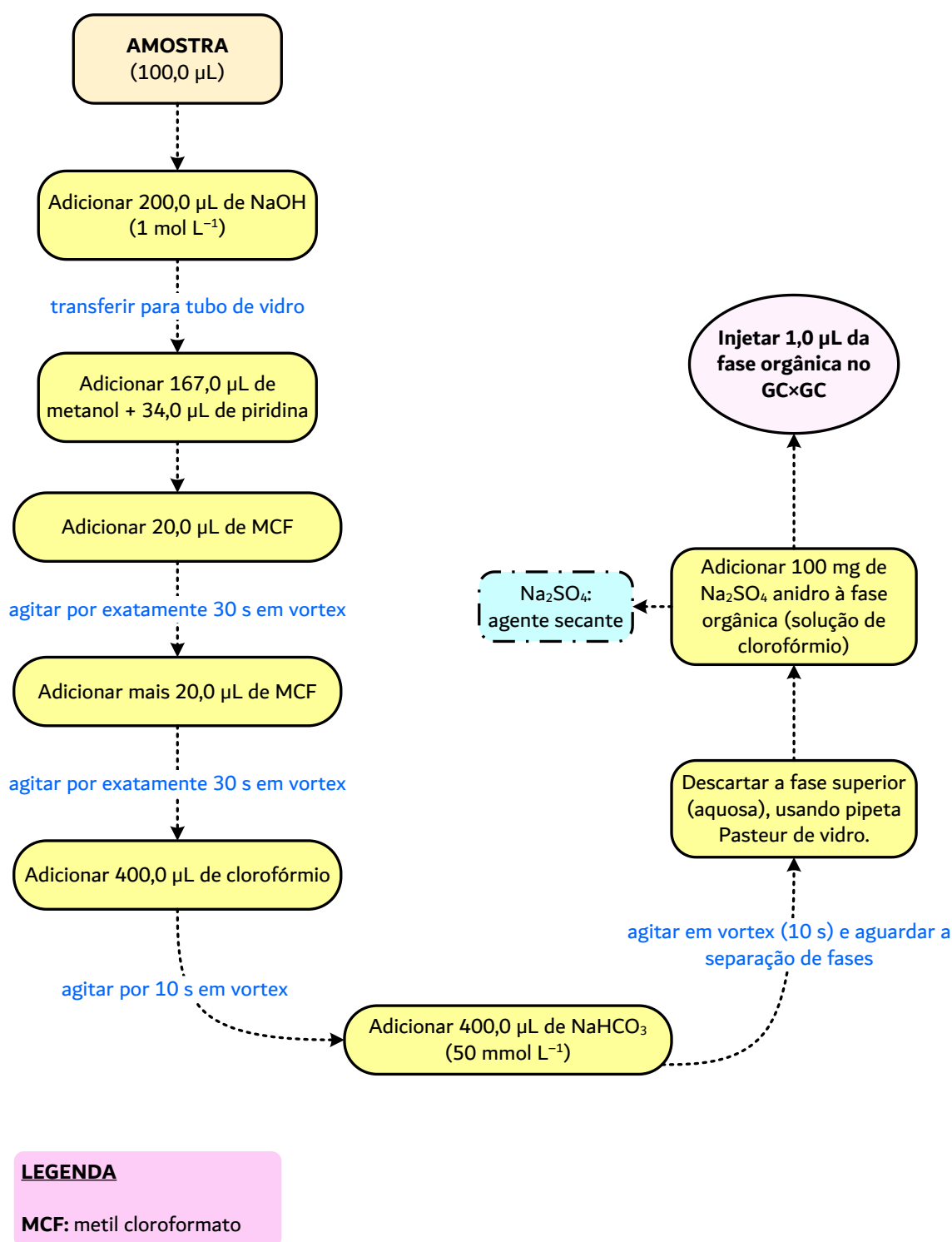


**Figura 2.15** - Fluorescência emitida por células marcadas com carboxi- $\text{H}_2\text{DCFA}$  não expostas (CT-), expostas a  $\text{H}_2\text{O}_2$   $500 \mu\text{mol L}^{-1}$  (CT+) e a diferentes concentrações de GLYP-R;  $n = 5$ .

## 2.4.6 Escolha do melhor protocolo de derivatização

### 2.4.6.1 Derivatização por metil cloroformato (MCF) em metanol (MeOH)

Inicialmente foi testada a derivatização por MCF/MeOH, cujo fluxograma está representado na Figura 2.16.



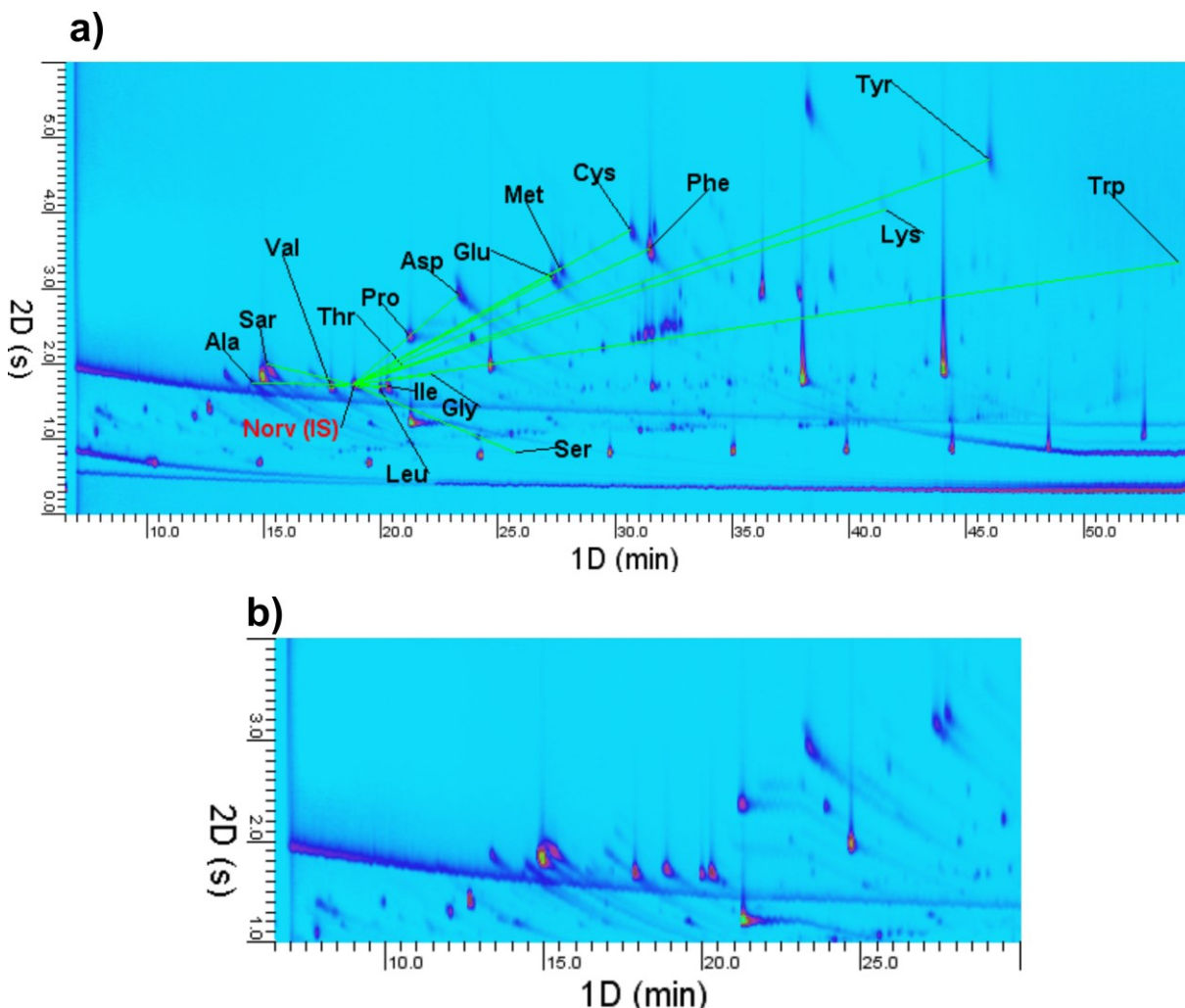
**Figura 2.16** - Esquema do procedimento de derivatização por MCF baseado no trabalho de Villas-Bôas *et al.* (2003).

Para avaliar o desempenho da separação 2D dos metabólitos derivatizados, foi utilizado um método cromatográfico adaptado de Villas-Bôas, Silas Granato *et al.* (2003) e Pasikanti; Norasmara; *et al.* (2010). O sistema GC×GC operou com a coluna <sup>1</sup>D HP-5MS (30 m × 250 μm × 0,25 μm) e a coluna <sup>2</sup>D Rxi-17Sil MS (2 m × 0,15 mm × 0,15 μm). O injetor foi usado na temperatura de 250 °C, no modo *splitless* (0,5 min) e o gás de arraste utilizado foi He (1,2 mL min<sup>-1</sup>). O forno foi aquecido inicialmente a 50 °C (1 min). Em seguida, a temperatura aumentou até 150 °C (2 min) com a taxa de 5 °C min<sup>-1</sup> e finalmente aumentou até 230 °C (5 min), com a taxa de 3 °C min<sup>-1</sup>. Foi escolhido  $P_M = 6$  s e tempo de jato quente de 350 ms, com *offset* ( $T_M$ , temperatura do modulador) de +30 °C em relação ao forno. Foi usado gás nitrogênio a -80 °C como jato frio (20,0 L min<sup>-1</sup>). A linha de transferência operou a 240 °C, a fonte de íons, a 250 °C e o quadrupolo, a 150 °C. Foi empregada a ionização por elétrons (EI), a 70 eV, no modo positivo. Os espectros foram adquiridos a 50 Hz, no modo *full MS*, na faixa de  $m/z$  50 a 400. O detector operou em 800 V (MCP) e 551 V (PMT).

O diagrama de cores da Figura 2.17a mostra o perfil de separação dos derivados de metabólitos na amostra de extrato celular. Foi possível detectar apenas 17 AA usando esse tipo de derivatização, com uma capacidade de pico<sup>16</sup> ( $n_c$ ) de 377. A separação foi satisfatória, porém, os picos apresentaram caudas proeminentes tanto em <sup>1</sup>D (principalmente) quanto em <sup>2</sup>D, como destacado na ampliação de uma região do diagrama (Figura 2.17b). O perfil de machas arrastadas ao longo de <sup>1</sup>D também indicou degradação dos compostos na coluna <sup>1</sup>D e/ou no injetor (Ramos *et al.*, 2009). Diversos testes foram feitos na tentativa de melhorar a resolução de pico, como a avaliação de diferentes  $P_M$  (3, 4, 5, 6, 8 e 10 s),  $T_M$  (+10 e +30 °C), tempos de jato quente (0,3; 0,6; 0,8 e 1,0 s), além de alterações no programa de aquecimento do forno e na temperatura do injetor. No entanto, nenhuma das modificações foi capaz de melhorar a resolução 2D. O alargamento de manchas em <sup>1</sup>D indicou forte interação dos compostos com a fase estacionária dessa coluna, que é mais apolar. Logo, substituir as colunas por outras de polaridades opostas poderia aumentar a resolução tanto em <sup>1</sup>D como em <sup>2</sup>D. Alternativamente,

<sup>16</sup> A capacidade de pico é definida como o número de componentes que podem ser localizados como picos resolvidos em um cromatograma. Ela por ser estimada por  $n_c = \frac{t_R(\text{final}) - t_R(\text{inicial})}{w_b}$ , em que  $t_R(\text{final})$  é o tempo de retenção do último pico do cromatograma,  $t_R(\text{inicial})$  é o tempo de retenção do primeiro pico e  $w_b$ , a largura de pico na base de um pico escolhido. Neste trabalho,  $w_b$  foi calculada para um pico bem resolvido, situado aproximadamente no meio do cromatograma. Em GC×GC, a capacidade de pico  $n_c$  é o produto das capacidades de pico  $n_c$  e  $n_c$  nas colunas <sup>1</sup>D e <sup>2</sup>D, respectivamente (Ramos *et al.*, 2009).

foi testado o procedimento de derivatização por PCF/PrOH, que funcionou muito bem em trabalhos anteriores envolvendo 1D-GC.

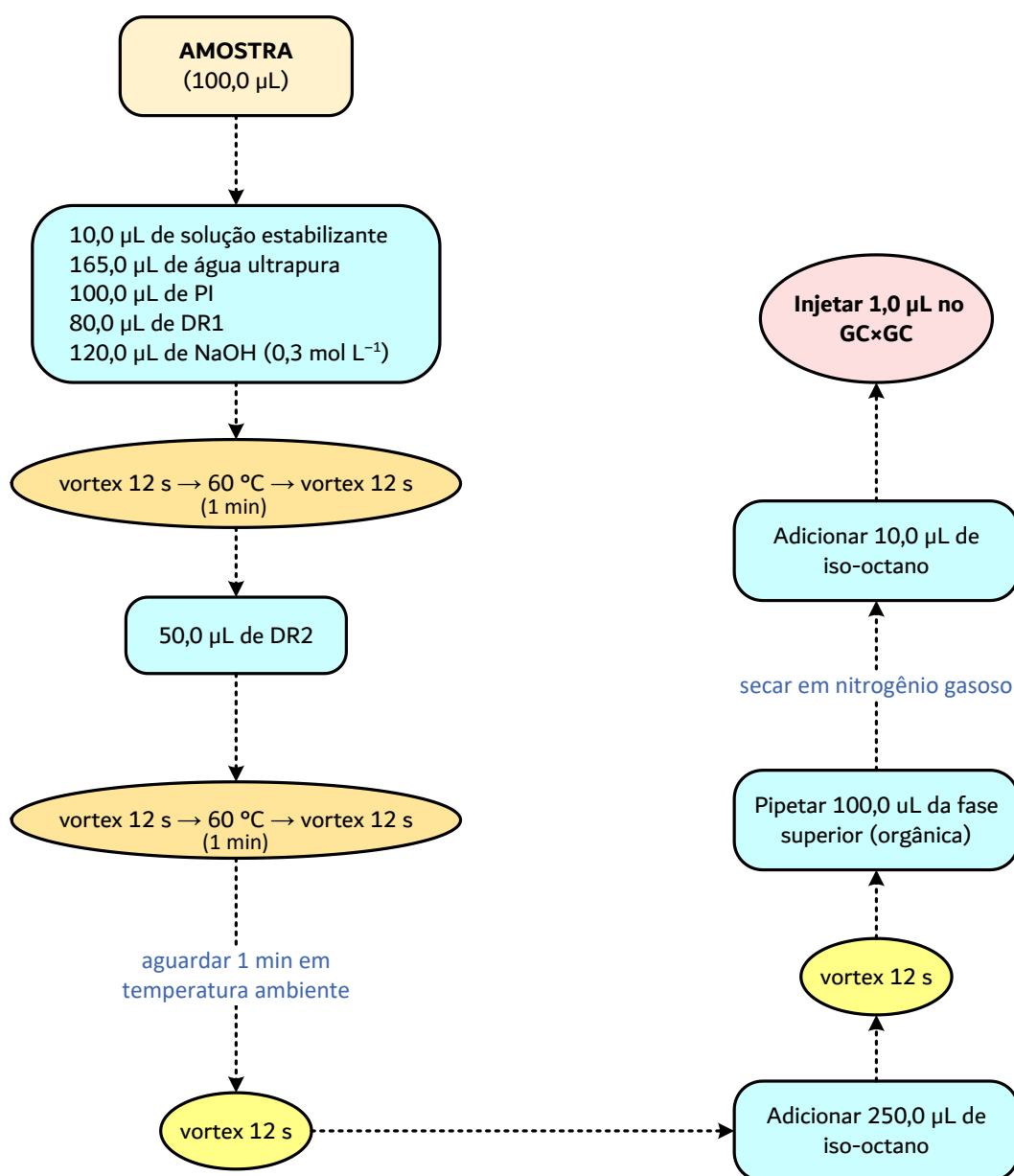


**Figura 2.17** - a) Diagrama de cores para amostra de extrato celular (controle) derivatizado com MCF/MeOH. b) Região ampliada do mesmo diagrama nas regiões de  $6,5 \text{ min} < {}^1t_R < 30 \text{ min}$  e  $1 \text{ min} < {}^2t_R < 4 \text{ min}$ . Sarcosina (Sar), L-Alanina (Ala), Glicina (Gly), L-Valina (Val), L-Norvalina (Norv), L-Leucina (Leu), L-Isoleucina (Ile), L-Treonina (Thr), L-Serina (Ser), L-Prolina (Pro), L-Metionina (Met), L-Ácido aspártico (Asp), L-Fenilalanina (Phe), L-Ácido glutâmico (Glu), L-Cisteína (Cys), L-Lisina (Lys), L-Tirosina (Tyr), L-Triptofano (Trp). IS: padrão interno.

#### 2.4.6.2 Derivatização por propil cloroformato (PCF) em propanol (PrOH)

A derivatização dos extratos de células por PCF/PrOH foi feita conforme o protocolo da Figura 2.18.





**Padrão interno (PI):**

L-norvalina (200,0 µmol L<sup>-1</sup>)

**Solução estabilizante:**

1-propanol (1,0 mL)

Solução de fenol 6,2 mg L<sup>-1</sup> (1,0 mL)

Tiodietilenoglicol (328,0 µL)

**DR1 (reagente derivatizante 1):**

1-propanol/3-metilpiridina (1:3 v/v)

**Figura 2.18** - Esquema do procedimento de derivatização por PCF/PrOH otimizado em trabalho anterior (Batista *et al.*, 2020).

Para a otimização do método GC×GC de análise de metabólitos, com derivatização por PCF/PrOH, os seguintes parâmetros foram variados: temperatura do injetor (200, 240 e 250 °C), modo de injeção (*split* 1:50 e *splitless* 0,5 e 1,0 min),  $P_M$  (4, 5 e 6 s), tempo de jato quente (0,3; 0,8; 1,0 e 1,2 s),  $T_M$  (+10, +30 e +40 °C) e temperatura da fonte de ionização (200 e 250 °C). O programa de aquecimento do forno, a temperatura da linha de transferência (280 °C), a faixa de aquisição de íons ( $m/z$  50 a 650) e os demais parâmetros (os mesmos do subtópico 2.4.6.1) foram mantidos fixos. O forno foi aquecido inicialmente a 80 °C (1 min). Em seguida, a temperatura aumentou até 150 °C (2 min), com a taxa de 5 °C min<sup>-1</sup>, e finalmente aumentou até 270 °C (3 min), com a taxa de 3 °C min<sup>-1</sup>. Os outros parâmetros do sistema GC×GC foram os mesmos do subtópico anterior.

Os diferentes períodos de modulação foram testados considerando o tempo de jato quente de 0,8 s. O resultado menos satisfatório foi obtido para  $P_M = 4$  s, com  $n_c = 2746$  e baixa resolução (Figura A1 do APÊNDICE 1 –), porém, melhor que aquele obtido pela derivatização por MCF/MeOH ( $n_c = 377$  e resolução pior). Os demais  $P_M$  mostraram perfil melhor e similar de resolução dos compostos (manchas mais concêntricas) e maior capacidade de pico:  $n_c = 2933$  para  $P_M = 5$  s e  $n_c = 3084$  para  $P_M = 6$  s. O perfil de caudas em <sup>2</sup>D para os três diagramas foi similar ao obtido pela derivatização usando MCF/MeOH. No entanto, as caudas em <sup>1</sup>D diminuíram significativamente, especialmente para  $P_M = 6$  s. Observou-se também forte ocorrência de *wrap-around* em <sup>1</sup> $t_R = 22$  e 34 min (picos de reagentes da derivatização), que diminuiu, em <sup>1</sup> $t_R = 34$  min, para  $P_M = 6$  s. Embora os diagramas para os dois  $P_M$  mais altos apresentaram perfil similar de resolução,  $P_M = 6$  s forneceu os menores valores de largura de pico na base para picos em <sup>2</sup>D (<sup>2</sup> $w_b$ ), maior resolução em <sup>1</sup>D (<sup>1</sup> $R_s$ ) e maior capacidade de pico. Por essas evidências,  $P_M = 6$  s foi escolhido como o mais adequado, embora  $P_M = 5$  s também pudesse ser selecionado, sem grande perda de qualidade da separação 2D.

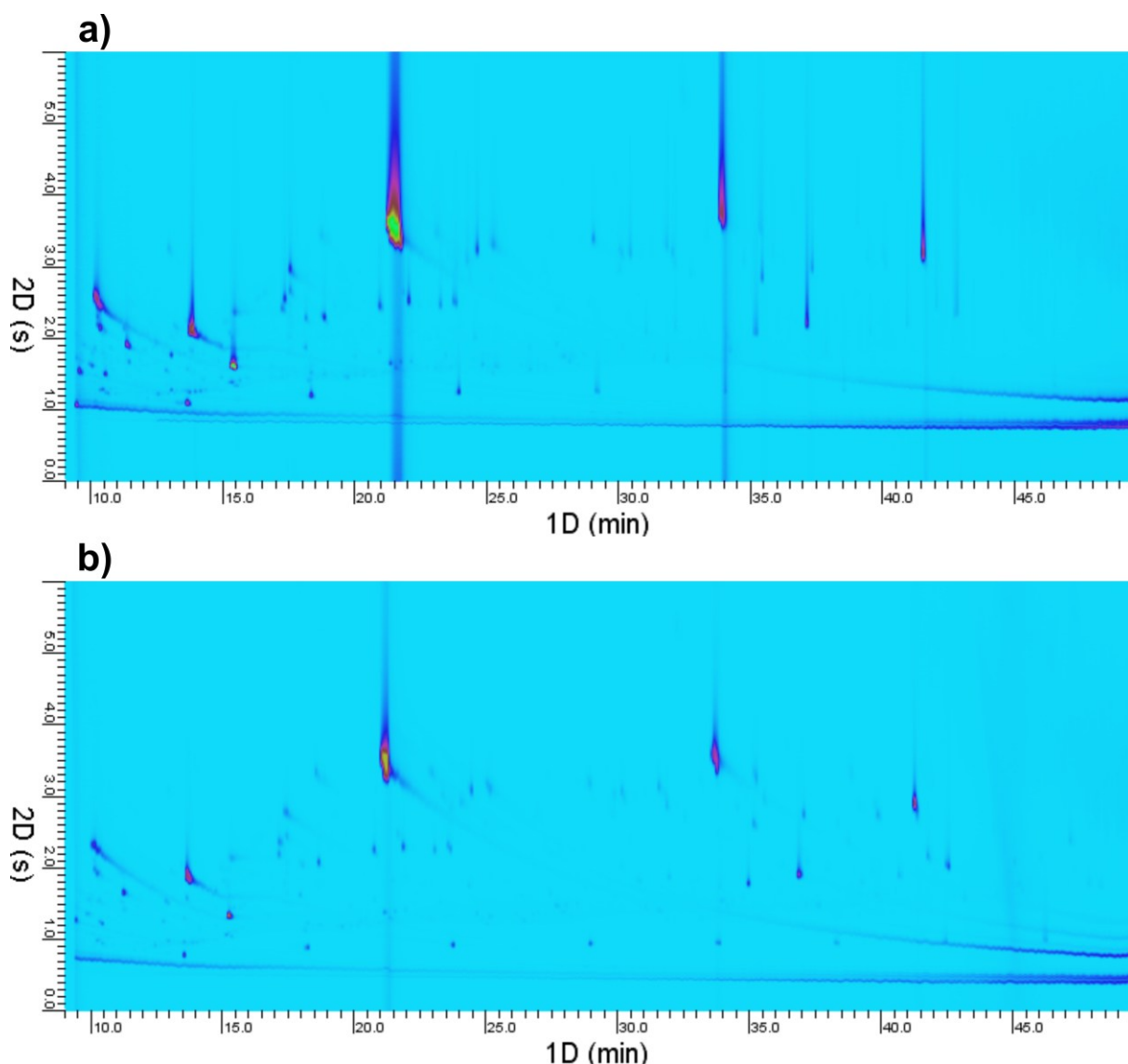
Em seguida, foi avaliado o tempo de jato quente, cujos resultados estão mostrados na Figura A2. Considerando o diagrama para o tempo de 0,3 s, em <sup>1</sup> $t_R = 22$  min houve *overload* (sobrecarga) das colunas, como mostrou a mancha deformada, com alta intensidade e cauda proeminente em <sup>1</sup>D e <sup>2</sup>D (principalmente). A sobrecarga das colunas pode ocorrer pela liberação parcial da banda do analito focalizada no modulador, fazendo com que o composto se acumule na fase estacionária e seja eluído nas próximas corridas, fornecendo picos não gaussianos com cauda frontal proeminente em <sup>1</sup>D. O *overload* também pode ocorrer por injeção de compostos

em elevada concentração. Esse fenômeno causa perdas na resolução cromatográfica, facilitando a ocorrência de coeluições de picos de compostos em nível traço com o pico do composto que causou *overload* (Ramos *et al.*, 2009). Além disso, o diagrama da Figura A2-a apresentou a menor capacidade de pico ( $n_c = 507$ ), quando comparados os quatro diagramas. Assim, o tempo de jato quente de 0,3 s não foi adequado para a dessorção total dos analitos no modulador. Os demais tempos de jato quente forneceram perfil muito similar de separação dos compostos. A alteração mais significativa foi observada na capacidade de pico:  $n_c = 3768$  para 0,8 s de jato quente;  $n_c = 3830$  para 1,0 s e  $n_c = 1736$  para 1,2 s. A diminuição na capacidade de pico observada quando o tempo de jato quente aumentou de 1,0 para 1,2 s indicou perda de compostos por *breakthrough*<sup>17</sup> no modulador, pelo longo tempo de contato do jato quente com o segmento da coluna <sup>2</sup>D. Diante disso, foi escolhido o tempo de jato quente de 1,0 s como o mais adequado para a separação dos metabólitos.

A influência da temperatura da fonte de ionização na separação dos compostos também foi avaliada pela inspeção visual dos diagramas de cores e pela comparação da excentricidade<sup>18</sup> de pico ( $e$ ). O diagrama obtido com a fonte a 200 °C mostrou forte ocorrência de *wrap-around*, resolução ruim em <sup>2</sup>D (Figura 2.19a) e  $e = 2,9 \times 10^6$ . Além disso, ocorreu *overload* em <sup>2</sup>D, na região de  $t_R = 22$  min. O diagrama para a ionização a 250 °C apresentou melhor resolução, diminuição da ocorrência de *wrap-around*, de *overload* e da excentricidade de pico ( $e = 5,4 \times 10^5$ ). Esses resultados indicaram que a ionização a 250 °C foi mais satisfatória (Figura 2.19b). Assim, optou-se por realizar a ionização dos metabólitos utilizando a fonte de íons a 250 °C.

<sup>17</sup> Quando o analito não é adequadamente retido no modulador.

<sup>18</sup> Medida do grau de alongamento elíptico de uma mancha no cromatograma 2D. Quanto menor o valor de  $e$ , maior a similaridade da forma da mancha com a forma de um círculo. Quanto maior o valor de  $e$ , mais deformada está a mancha.

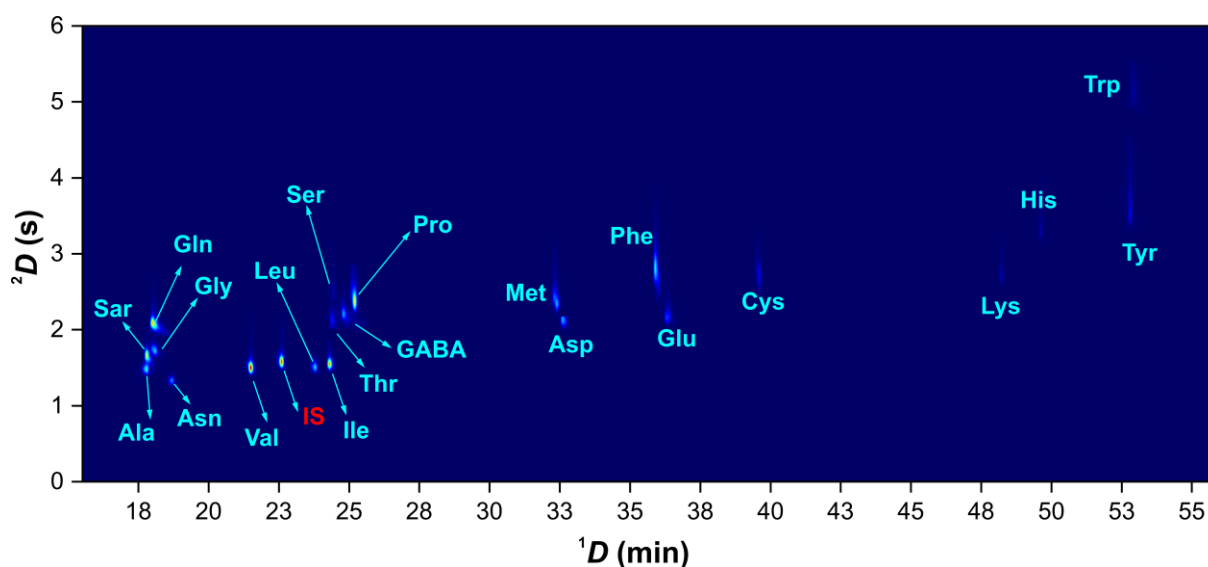


**Figura 2.19** - Diagramas de cores dos extratos celulares derivatizados com PCF/PrOH usando as temperaturas de ionização de a) 200 °C e b) 250 °C.

Os demais parâmetros ( $T_M$ , temperatura do injetor e modo de injeção) foram otimizados usando a mesma abordagem de inspeção dos diagramas de cores. Os valores ótimos dos parâmetros estudados foram: temperatura do injetor (250 °C), modo de injeção (*splitless* 0,5 min),  $P_M$  (6 s), tempo de jato quente (1,0 s),  $T_M$  (+30 °C) e temperatura da fonte de ionização (250 °C).

O método GC×GC com derivatização por PCF/PrOH permitiu a identificação de 21 AA, enquanto a análise por GC×GC dos derivados de MCF/MeOH possibilitou a identificação de apenas 17 AA. Nos trabalhos anteriores (Batista *et al.*, 2020, 2023), foi possível identificar

17 AA utilizando 1D-GC e o mesmo protocolo de derivatização por PCF/PrOH do presente trabalho. Assim, o emprego de GC×GC possibilitou um aumento significativo na identificação de AA derivatizados com PCF/PrOH. Isso foi devido ao aumento da resolução de pico, que é característica da separação bidimensional. Nos trabalhos anteriores, os pares Thr/Ser e Asp/Met apresentaram forte coeluição, enquanto Glu e Phe tiveram baixa resolução. Como mostra o cromatograma da Figura 2.20, todos esses AA foram adequadamente resolvidos na coluna <sup>2</sup>D. Além disso, houve aumento de cerca de 100 vezes nas intensidades de pico da análise por GC×GC em relação a 1D-GC. Dessa forma, esse tipo de derivatização foi escolhido para a análise de amostras reais, após a validação do método GC×GC otimizado.



**Figura 2.20** - Cromatograma de íon extraído (EIC) dos 21 derivados de AA de uma solução 1,0 mg L<sup>-1</sup> com o padrão interno (IS) L-norvalina adicionado. Sarcosina (Sar), L-Alanina (Ala), L-Glutamina (Gln), Glicina (Gly), L-Asparagina (Asn), L-Valina (Val), L-Norvalina (Norv), L-Leucina (Leu), L-Isoleucina (Ile), L-Treonina (Thr), L-Serina (Ser), γ-Ácido aminobutírico (GABA), L-Prolina (Pro), L-Metionina (Met), L-Ácido aspártico (Asp), L-Fenilalanina (Phe), L-Ácido glutâmico (Glu), L-Cisteína (Cys), L-Lisina (Lys), L-Histidina (His), L-Tirosina (Tyr), L-Triptofano (Trp).

#### 2.4.7 Validação do método de análise de metabólitos por GC×GC/Q-TOFMS

A validação do método GC×GC foi feita utilizando uma mistura de 21 AA, na concentração de 1,0 mg L<sup>-1</sup>, com derivatização por PCF/PrOH. Os espectros de massas e os tempos de retenção dos derivados na mistura de referência (Tabela 2.5) foram utilizados como parâmetros de identificação dos analitos nas amostras de extratos celulares.

**Tabela 2.5** - Tempos de retenção e razões massa/carga ( $m/z$ ) dos derivados de aminoácidos utilizados na validação do método.

| #  | Aminoácido                           | $^1t_R$<br>(min) | $^2t_R$ (s) | $m/z$ (padrão de fragmentação) |
|----|--------------------------------------|------------------|-------------|--------------------------------|
| 1  | Sarcosina (Sar)                      | 17,80            | 2,15        | 131, 89, 117                   |
| 2  | L-Alanina (Ala)                      | 17,80            | 1,97        | 131, 89, 71                    |
| 3  | L-Glutamina (Gln)                    | 18,00            | 2,57        | 144, 58, 85                    |
| 4  | Glicina (Gly)                        | 18,10            | 2,20        | 117, 75, 103                   |
| 5  | L-Asparagina (Asn)                   | 18,70            | 1,81        | 115, 174, 88                   |
| 6  | L-Valina (Val)                       | 21,50            | 1,99        | 117, 159, 99                   |
| IS | L-Norvalina (Norv)                   | 22,60            | 2,07        | 159, 73, 117                   |
| 7  | L-Leucina (Leu)                      | 23,80            | 1,99        | 173, 87, 117                   |
| 8  | L-Isoleucina (Ile)                   | 24,30            | 2,05        | 131, 173, 75                   |
| 9  | L-Treonina (Thr)                     | 24,40            | 2,61        | 102, 75, 144                   |
| 10 | L-Serina (Ser)                       | 24,40            | 2,95        | 254, 102, 61                   |
| 11 | $\gamma$ -Ácido aminobutírico (GABA) | 24,80            | 2,69        | 131, 87, 85                    |
| 12 | L-Prolina (Pro)                      | 25,20            | 2,87        | 157, 71, 115                   |
| 13 | L-Metionina (Met)                    | 32,40            | 2,83        | 102, 62, 204                   |
| 14 | L-Ácido aspártico (Asp)              | 32,60            | 2,63        | 217, 131, 89                   |
| 15 | L-Fenilalanina (Phe)                 | 35,90            | 3,30        | 149, 92, 75                    |
| 16 | L-Ácido glutâmico (Glu)              | 36,30            | 2,65        | 85, 143, 171                   |
| 17 | L-Cisteína (Cys)                     | 39,60            | 3,20        | 75, 103, 163                   |
| 18 | L-Lisina (Lys)                       | 48,30            | 3,43        | 171, 129, 85                   |
| 19 | L-Histidina (His)                    | 49,60            | 3,78        | 82, 137, 181                   |
| 20 | L-Tirosina (Tyr)                     | 52,80            | 3,98        | 108, 165, 207                  |
| 21 | L-Triptofano (Trp)                   | 52,90            | 5,64        | 131, 132, 208                  |

$^1t_R$  é o tempo de retenção de um pico na primeira dimensão de um sistema bidimensional abrangente e  $^2t_R$  é o tempo de retenção de um pico na segunda dimensão. O padrão de fragmentação  $m/z$  foi descrito em ordem decrescente de intensidades de pico dos espectros de massas.

A Tabela 2.6 mostra os resultados da validação do método de análise de AA. A distribuição dos resíduos da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados ordinários foi homogênea e as curvas de calibração apresentaram linearidade na faixa de 0,015 a 1,500 mg L<sup>-1</sup>, com coeficientes de determinação acima de 0,9700. O método GC×GC apresentou boa precisão (1,07 a 18,08 %), baixos limites de quantificação (0,015 a 0,184 mg L<sup>-1</sup>) e elevada taxa de recuperação (82,62 a 104,57 %). Esses resultados mostraram que o método validado apresentou alto desempenho na quantificação dos AA derivatizados.

**Tabela 2.6** - Parâmetros de validação do método GC×GC.

| Aminoácido | Faixa linear<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | Equação da reta          | R <sup>2</sup> | Repetibilidade<br>(% RSD) |            | Precisão intermediária<br>(% RSD) |            | LOD<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | LOQ<br>(mg L <sup>-1</sup> ) | Recuperação<br>(%) |
|------------|---------------------------------------|--------------------------|----------------|---------------------------|------------|-----------------------------------|------------|------------------------------|------------------------------|--------------------|
|            |                                       |                          |                | Nível baixo               | Nível alto | Nível baixo                       | Nível alto |                              |                              |                    |
| Ala        | 0,041 a 0,500                         | $y = 0,1081x + 0,0033$   | 0,9988         | 3,72                      | 1,07       | 13,62                             | 12,39      | 0,014                        | 0,041                        | 92,56              |
| Asn        | 0,046 a 0,500                         | $y = 0,1117x + 0,0038$   | 0,9962         | 12,46                     | 3,11       | 13,37                             | 10,07      | 0,015                        | 0,046                        | 86,06              |
| Asp        | 0,040 a 0,500                         | $y = 0,1221x + 0,0038$   | 0,9973         | 4,78                      | 4,35       | 3,88                              | 4,39       | 0,013                        | 0,040                        | 82,70              |
| Cys        | 0,159 a 1,500                         | $y = 0,0074x + 0,0005$   | 0,9956         | 14,77                     | 13,19      | 18,08                             | 5,38       | 0,052                        | 0,159                        | 98,91              |
| GABA       | 0,052 a 0,500                         | $y = 0,1077x + 0,0420$   | 0,9988         | 7,13                      | 5,86       | 14,48                             | 14,19      | 0,017                        | 0,052                        | 83,09              |
| Gln        | 0,160 a 1,500                         | $y = 0,4037x + 0,1863$   | 0,9749         | 10,13                     | 6,37       | 17,40                             | 6,23       | 0,115                        | 0,160                        | 98,34              |
| Glu        | 0,072 a 0,500                         | $y = 0,1150x + 0,0083$   | 0,9956         | 10,76                     | 7,78       | 12,83                             | 8,72       | 0,024                        | 0,072                        | 82,62              |
| Gly        | 0,116 a 1,250                         | $y = 0,0804x + 0,0089$   | 0,9934         | 13,54                     | 6,77       | 12,26                             | 8,76       | 0,038                        | 0,116                        | 93,07              |
| His        | 0,087 a 0,750                         | $y = 0,0146x + 0,0002$   | 0,9947         | 12,14                     | 6,90       | 15,70                             | 8,78       | 0,029                        | 0,087                        | 100,69             |
| Ile        | 0,050 a 0,500                         | $y = 0,1644x + 0,0095$   | 0,9948         | 6,87                      | 5,01       | 9,81                              | 6,91       | 0,016                        | 0,050                        | 87,10              |
| Leu        | 0,044 a 1,250                         | $y = 0,1111x + 0,0039$   | 0,9987         | 4,56                      | 3,04       | 14,50                             | 9,67       | 0,014                        | 0,044                        | 85,79              |
| Lys        | 0,084 a 1,500                         | $y = 0,0034x + 0,0007$   | 0,9757         | 11,33                     | 11,25      | 15,98                             | 10,13      | 0,028                        | 0,084                        | 104,57             |
| Met        | 0,184 a 1,500                         | $y = 0,0675x + 0,0062$   | 0,9927         | 10,96                     | 7,73       | 6,42                              | 10,02      | 0,061                        | 0,184                        | 83,78              |
| Phe        | 0,061 a 0,500                         | $y = 0,2608x + 0,0047$   | 0,9911         | 4,99                      | 2,02       | 16,31                             | 10,31      | 0,020                        | 0,061                        | 98,99              |
| Pro        | 0,030 a 0,500                         | $y = 0,2926x + 0,0061$   | 0,9981         | 3,47                      | 4,44       | 13,66                             | 6,58       | 0,010                        | 0,030                        | 87,93              |
| Sar        | 0,041 a 0,500                         | $y = 0,1566x + 0,0008$   | 0,9970         | 12,01                     | 10,72      | 12,79                             | 7,98       | 0,014                        | 0,041                        | 94,23              |
| Ser        | 0,015 a 0,500                         | $y = 0,1646x + 0,0019$   | 0,9996         | 9,30                      | 3,04       | 11,14                             | 9,88       | 0,005                        | 0,015                        | 90,27              |
| Thr        | 0,057 a 1,250                         | $y = 0,05860x + 0,00008$ | 0,9997         | 10,33                     | 9,35       | 10,51                             | 9,86       | 0,019                        | 0,057                        | 88,91              |
| Trp        | 0,026 a 0,500                         | $y = 0,0706x + 0,0010$   | 0,9995         | 9,86                      | 4,65       | 14,39                             | 2,05       | 0,009                        | 0,026                        | 94,61              |
| Tyr        | 0,080 a 1,250                         | $y = 0,0131x + 0,0006$   | 0,9983         | 6,24                      | 4,46       | 15,46                             | 5,40       | 0,026                        | 0,080                        | 96,84              |
| Val        | 0,047 a 0,500                         | $y = 0,2589x + 0,0037$   | 0,9978         | 11,63                     | 10,25      | 12,21                             | 8,96       | 0,015                        | 0,047                        | 97,64              |

## 2.4.8 Análise *untargeted* de metabólitos por GC×GC/Q-TOFMS

### 2.4.8.1 Otimização da extração de metabólitos

O protocolo de *quenching*/extração de metabólitos reportado por Rodrigues *et al.* (2024) foi adaptado de Wilkins *et al.* (2019) e é eficaz no preparo de amostras para metabolômica, porém, apresenta a desvantagem de ser muito longo, principalmente por envolver dois passos de pré-concentração. A técnica escolhida no presente trabalho para a análise dos extratos de

metabólitos (GC×GC/Q-TOFMS) é conhecida por sua elevada sensibilidade. Portanto, etapas com alto fator de pré-concentração (como a liofilização) são desnecessárias, principalmente no caso de amostras que contêm metabólitos na faixa de concentração de  $\text{mg L}^{-1}$ . Além disso, no final do protocolo de derivatização por PCF/PrOH (que pode ocorrer em meio aquoso), é feita a pré-concentração dos metabólitos usando atmosfera de nitrogênio. Dessa forma, a etapa de liofilização após a coleta das células foi removida do protocolo de Rodrigues *et al.* (2024) e apenas a etapa final de liofilização reportada pelos autores foi avaliada.

As amostras (liofilizadas e não liofilizadas) de extratos de células não expostas ao GLYP-R passaram por derivatização por PCF/PrOH e foi feita a análise de 21 AA por GC×GC (subtópico 2.3.5). Os volumes de pico desses AA foram usados como critério de comparação dos procedimentos. Como esperado, os volumes de pico dos AA nas amostras liofilizadas foram muito superiores àqueles das amostras não liofilizadas (Figura 2.21a). Também na avaliação *untargeted*, os diagramas dos extratos liofilizados apresentaram volumes de pico bem mais intensos (APÊNDICE 1 –). A elevada intensidade de sinal relacionada à liofilização alcançou o limiar de saturação do detector do sistema GC×GC. Análises nessas condições afetariam o desempenho do sistema, causando *overload* das colunas cromatográficas e supressão da ionização. Como o procedimento sem liofilização mostrou volumes de pico adequados para a análise quantitativa ( $> 1,0 \times 10^5$ ), a liofilização foi retirada do protocolo final de extração dos metabólitos.

O solvente de extração dos metabólitos precisa apresentar polaridade adequada à extração representativa em análises *untargeted*, pois a amostra contém compostos de diversas classes químicas. Utilizando os volumes de pico dos mesmos 21 AA derivatizados, foi feita a comparação entre a extração usando a mistura MeOH/ACN (1:1), de polaridade intermediária, e a mistura MeOH/CHCl<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O (7:2:1), mais polar. Para a maioria dos AA, MeOH/ACN foi a melhor combinação de solventes (Figura 2.21b) e não houve diferença nos diagramas das análises *untargeted*.

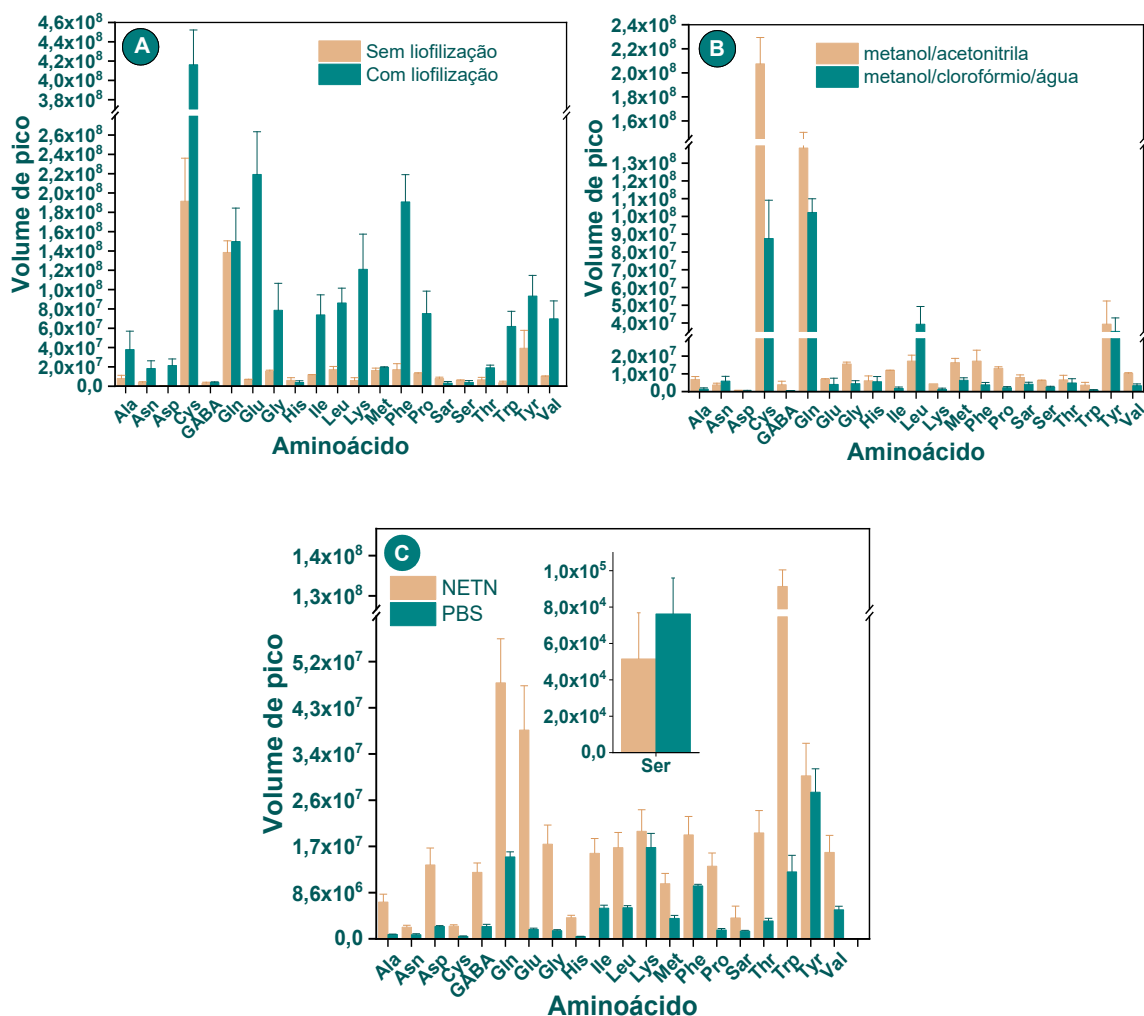
O tipo de solução tampão de lise é uma escolha determinante para que a ruptura da membrana plasmática das células seja eficiente. A lise parcial não permite que todos os metabólitos sejam liberados, o que prejudica principalmente a análise *untargeted*. A solução tampão PBS é isotônica (pH 7,4) e é usada para manter a viabilidade celular (ThermoFisher, 2024), logo, não tem capacidade de danificar a membrana plasmática. Assim, o processo de lise



realizado por Rodrigues, S. *et al.* (2024) pode ser considerado mecânico (ocorreu por sonicação). Para elevar a eficiência da ruptura da membrana celular, neste trabalho foi feita a comparação das soluções tampão PBS e NETN<sup>19</sup> (pH 8,00), empregadas em conjunto com sonicação. Os mesmos 21 AA foram analisados nos extratos celulares obtidos nessas condições (e sem liofilização). Todos os AA apresentaram maior volume de pico quando a lise com NETN foi utilizada, com a exceção de dois (Lys e Tyr), que não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos, demonstrando que NETN forneceu melhores resultados (Figura 2.21c).

---

<sup>19</sup> Composição no APÊNDICE 1 –.



**Figura 2.21** - Volumes de pico de 21 AA utilizados na otimização univariada do preparo de extratos de metabólitos, em que foram avaliadas as etapas de liofilização (a), solvente de extração (b) e solução tampão de lise (c), com  $n = 3$ .

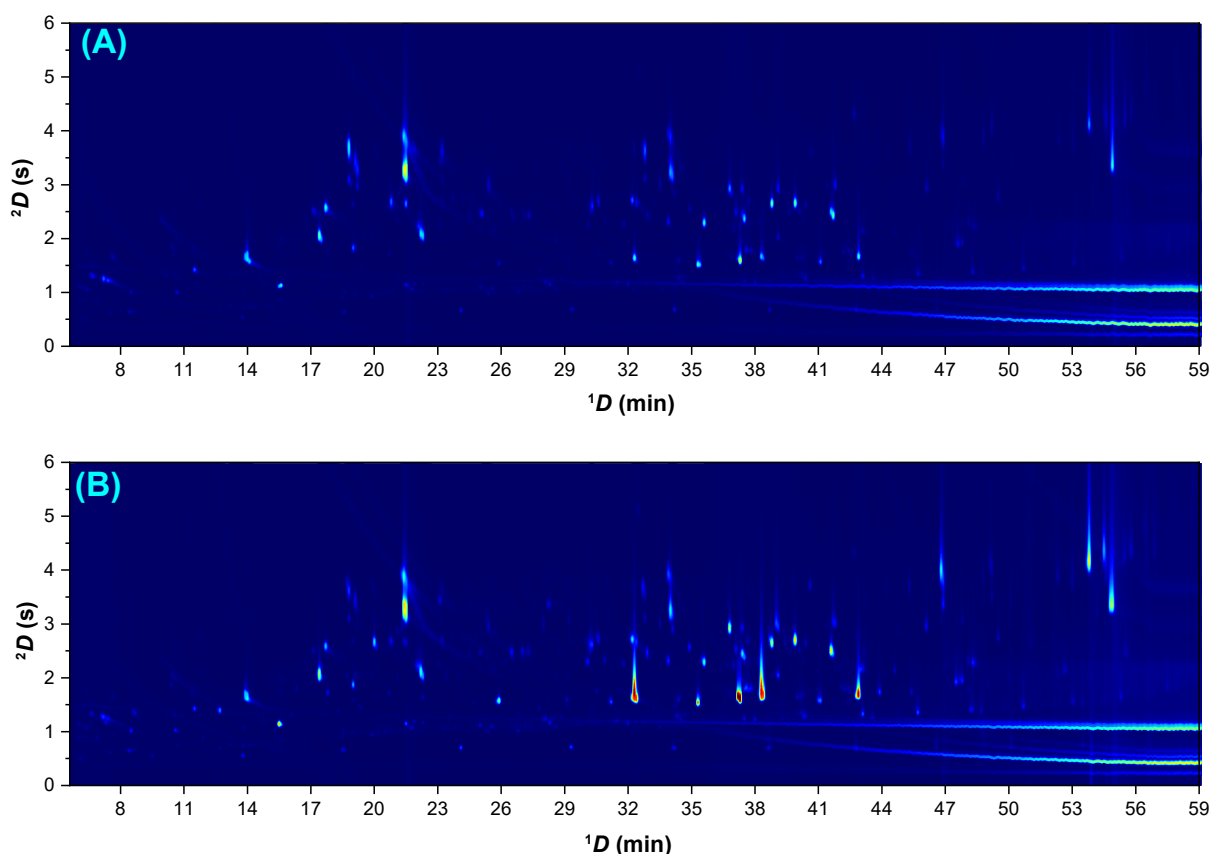
Considerando esses resultados, foi elaborado o protocolo de *quenching*, *cell harvesting* e extração dos metabólitos (*targeted* e *untargeted*) detalhado na Figura 2.22, que foi aplicado a todas as amostras.



Figura 2.22 - Protocolo otimizado de *quenching*, *cell harvesting* e extração dos metabólitos.

#### 2.4.8.2 Análise de amostras reais

O método GC×GC permitiu a detecção de 514 *features* nas amostras analisadas. Após a remoção de artefatos (como picos associados ao sangramento das colunas), foi possível identificar um total de 400 metabólitos. No APÊNDICE 1 – se encontram os nomes dos compostos identificados, os parâmetros de retenção e os fragmentos *m/z* utilizados na identificação por meio dos bancos de dados NIST 17 e HMDB. Não houve grande diferença na resolução dos compostos quando comparados os cromatogramas de controle e tratamento. No entanto, a intensidade de pico foi maior para as amostras de extratos de células expostas ao GLYP-R (Figura 2.23).



**Figura 2.23** - Diagramas de cores da análise *untargeted* de metabólitos: A) extrato de células não expostas, B) extrato de células expostas ao GLYP-R.

#### 2.4.9 Análise *untargeted* uni e multivariada

Os cromatogramas bidimensionais fornecem uma quantidade enorme de dados, o que é desejável em metabolômica *untargeted*. No entanto, para que esses dados indiquem a resposta

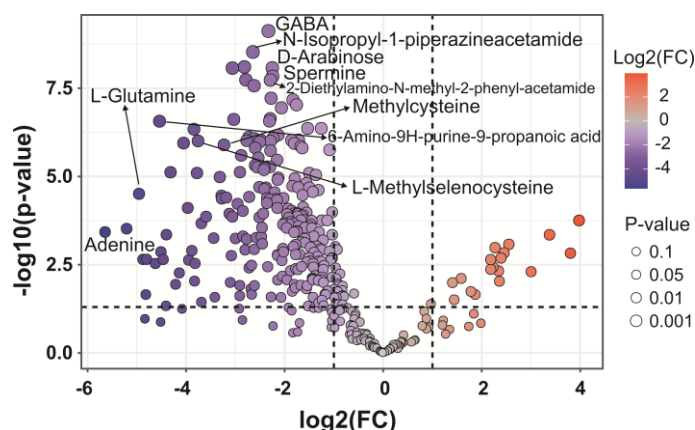
a uma questão biológica, são necessárias comparações entre os padrões de aumento ou diminuição estatisticamente significativos do maior número possível de metabólitos detectados. É nesse contexto que entram as ferramentas quimiométricas, muito aplicadas na redução da dimensionalidade dos dados adquiridos por GC×GC e na extração de informação útil. Assim, os dados de intensidade de pico dos 400 metabólitos obtidos foram pré-processados e analisados na plataforma aberta MetaboAnalyst 6.0, através do módulo Statistical Analysis [one factor]. Foram utilizadas as seguintes ferramentas desse módulo: Volcano plot (Univariate Analysis), Chemometrics Analysis (Principal Component Analysis, PCA and Partial Least Squares - Discriminant Analysis, PLS-DA), Cluster Analysis (Dendrogram and Heatmaps) e Classification and Feature Selection (Random Forest).

Após a normalização das intensidades pelo pico de Norv e pela massa de proteínas dos extratos, foi feito o *upload* da matriz de dados (25 amostras × 400 *features*) no MetaboAnalyst, no formato .csv, com as amostras (não pareadas) nas linhas. As 25 amostras foram divididas em dois grupos: controle (metabólitos das células não expostas ao GLYP-R), nomeadas de C01 a C12 e GLYP-R (metabólitos de células expostas ao GLYP-R), nomeadas de R01 a R13. Não foram detectados *missing values* (valores faltantes). Foi aplicado o filtro de dados IQR (*interquantile range*), *threshold* de 10 %, com o objetivo de eliminar variáveis estatisticamente insignificantes na modelagem dos dados. O método de escalamento que forneceu a melhor distribuição normal foi o *pareto scaling*. Utilizando a ferramenta Random Forest, a amostra C01 foi identificada como potencial *outlier* e, então, removida do conjunto de dados. Em seguida, estes foram novamente escalados (*pareto scaling*), fornecendo uma melhor distribuição gaussiana, conforme orientam os fundadores da plataforma MetaboAnalyst (Chong; Wishart; Xia, 2019). No APÊNDICE 1 – se encontram as figuras referentes a esses pré-processamentos.

De acordo com o *heatmap* dos metabólitos *untargeted* (Figura A4), os maiores valores de intensidade de pico foram associados à exposição das células ao GLYP-R, indicando aumento da biossíntese desses metabólitos em relação ao controle. Compostos de diversas classes químicas foram identificados nas amostras, com destaque para aminoácidos, ácidos graxos, álcoois, hidrocarbonetos, cetonas, aldeídos, aminas e amidas.

Para identificar os metabólitos com maior influência na diferenciação das amostras, foi feita uma análise univariada por meio de Volcano plot (Figura 2.24). A exposição a GLYP-R

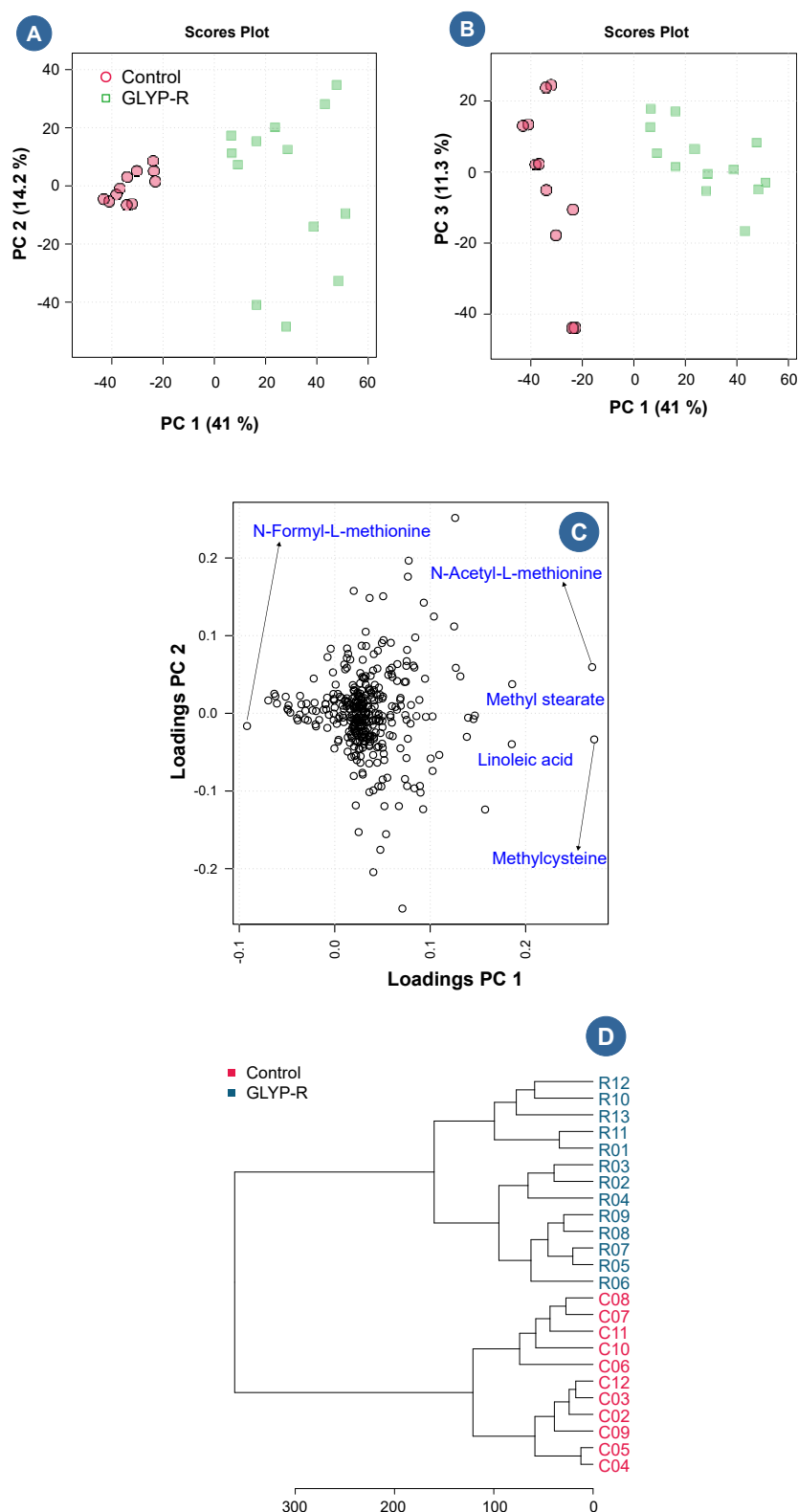
induziu aumento significativo da intensidade de pico de 227 metabólitos (bolas azuis) e diminuição da intensidade de 18 metabólitos (bolas vermelhas). Alguns dos metabólitos que apresentaram larga magnitude de mudança com alta diferença estatística (maiores valores de  $-\log p$  e  $\log FC$ ) estão destacados no gráfico. Dentre eles, alguns aminoácidos, indicando que esse grupo de biomoléculas influenciou significativamente a diferença estatística observada entre amostras de células expostas e não expostas.



**Figura 2.24** - Volcano plot dos 400 metabólitos identificados nas amostras de células expostas e não expostas ao GLYP-R. Fold change (FC) threshold: 2.0,  $p$ -value threshold: 0.05. O eixo  $y$ ,  $\log_{10}(p\text{-value})$ , mede a diferença estatística entre os dois grupos de amostras, enquanto o eixo  $x$ ,  $\log_2(FC)$ , mede a magnitude da mudança dos valores entre os dois grupos.

Para confirmar e ampliar os resultados encontrados por meio da análise univariada dos dados, foi escolhido o método PCA para uma análise exploratória multivariada. A partir da terceira PC, não houve grande diferença na porcentagem de variância explicada pelo modelo (APÊNDICE 1 –). Assim, o modelo PCA final foi construído utilizando 3 PCs, que forneceram 66,5 % de variância explicada. O modelo mostrou agrupamento dos *scores* ao longo de PC 1 (Figura 2.25a,b), mostrando clara separação entre os grupos de células expostas e não expostas ao GLYP-R. Por meio dos *loadings*, foi possível identificar quais variáveis (metabólitos) estiveram relacionados aos agrupamentos observados. Os *loadings* da parte positiva de PC 1 foram associados às amostras de células expostas, enquanto os do eixo negativo de PC 1 foram associados às amostras controle (Figura 2.25c). Os metabólitos que discriminaram as amostras de células expostas foram metilcisteína, *N*-acetil-L-metionina, metil estearato e ácido linoleico. Já o metabólito com *loading* mais negativo, *N*-formil-L-metionina, foi responsável pela discriminação das amostras controle. O modelo HCA mostrou agrupamento de todas as amostras controle em um *cluster* e das amostras de GLYP-R no outro *cluster* (Figura 2.25d).

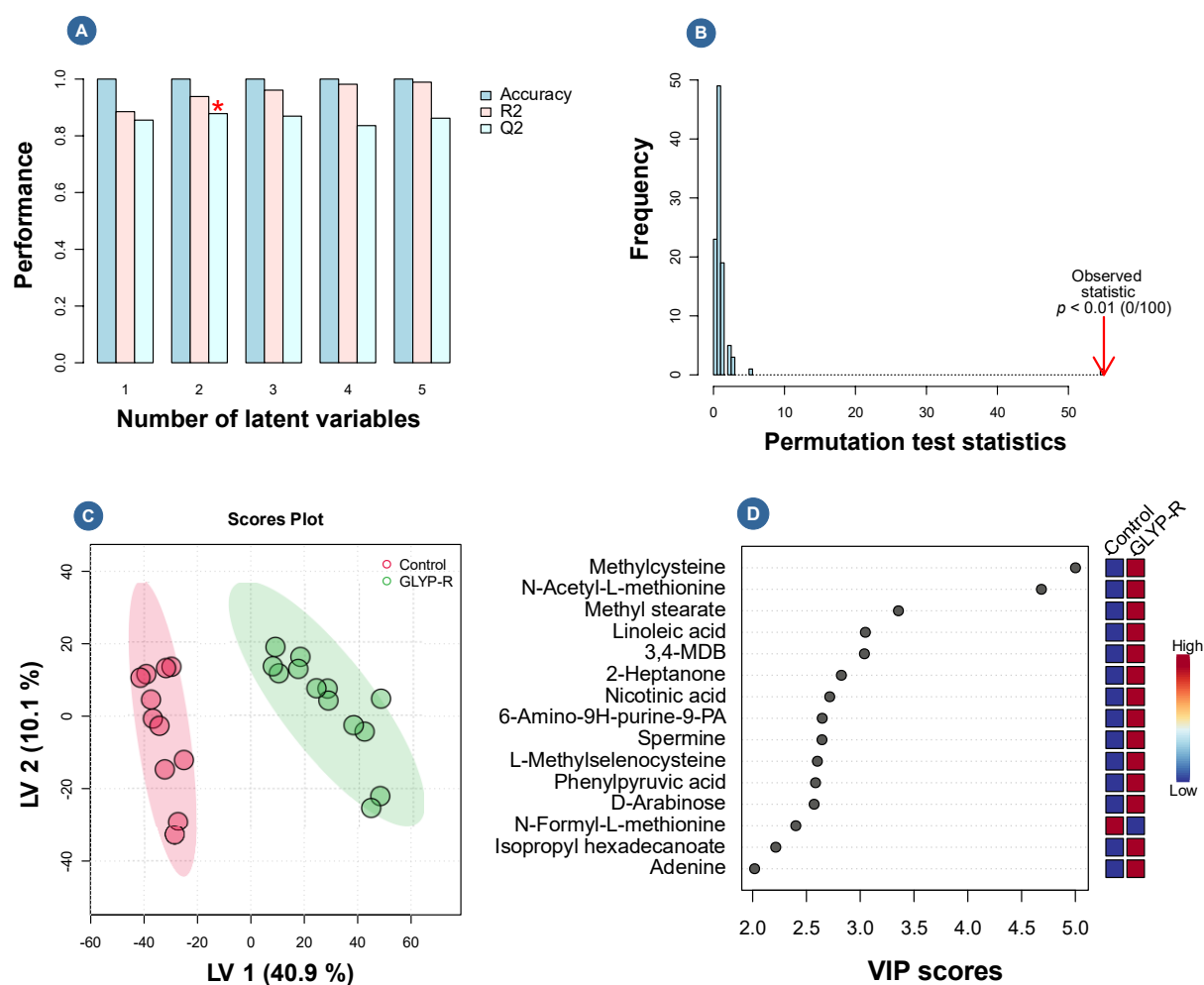
Isso indicou similaridade química entre as amostras de cada grupo e diferença estatística nas quantidades relativas de metabólitos entre os grupos.



**Figura 2.25** - Scores de PC 1  $\times$  PC 2 e PC 1  $\times$  PC 3 (a, b) e *loadings* de PC 1  $\times$  PC 2 (c) do modelo PCA dos dados normalizados da análise *untargeted*. Dendrograma do modelo HCA (d), aplicando distância euclidiana e o algoritmo *ward clustering*. GLYP-R: células expostas, controle: células não expostas.



Considerando que eram conhecidas as amostras de cada grupo (controle e GLYP-R), foi possível aplicar um método supervisionado de classificação (PLS-DA) ao conjunto de dados. Para a escolha do número de variáveis latentes (LVs) do modelo, foi feita a validação cruzada *leave-one-out* (LOOCV). O melhor modelo apresentou 2 LVs e foi escolhido com base nos maiores valores de  $Q^2$  (0,87838) e  $R^2$  (0,93851), parâmetros associados à capacidade preditiva do modelo (Figura 2.26a) (Szymańska *et al.*, 2012). Além disso, o modelo apresentou máxima acurácia (1,0), indicando 100 % de predição (nenhuma amostra foi incorretamente classificada). Para avaliar a ocorrência de *overfitting*, foi feito o teste de permutações, com base na distância de separação (B/W), considerando 100 permutações. O resultado (Figura 2.26b) mostrou que a distribuição B/W calculada a partir dos dados permutados foi estatisticamente diferente de B/W baseada nos dados originais ( $p < 0,01$ ). Isso indicou que o modelo não apresentou *overfitting*. O modelo construído com 2 LVs foi capaz de discriminar as amostras em dois grupos ao longo de LV 1 (Figura 2.26c). Os VIP *scores* de LV 1 indicaram que as variáveis que influenciaram a discriminação das amostras foram 5 metabólitos: metilcisteína, *N*-acetil-L-metionina, metil estearato, ácido linoleico e 3,4-MDB (Figura 2.26d). Esse resultado confirmou o PCA, sugerindo que esses metabólitos são candidatos a biomarcadores *untargeted* da exposição ao GLYP-R.



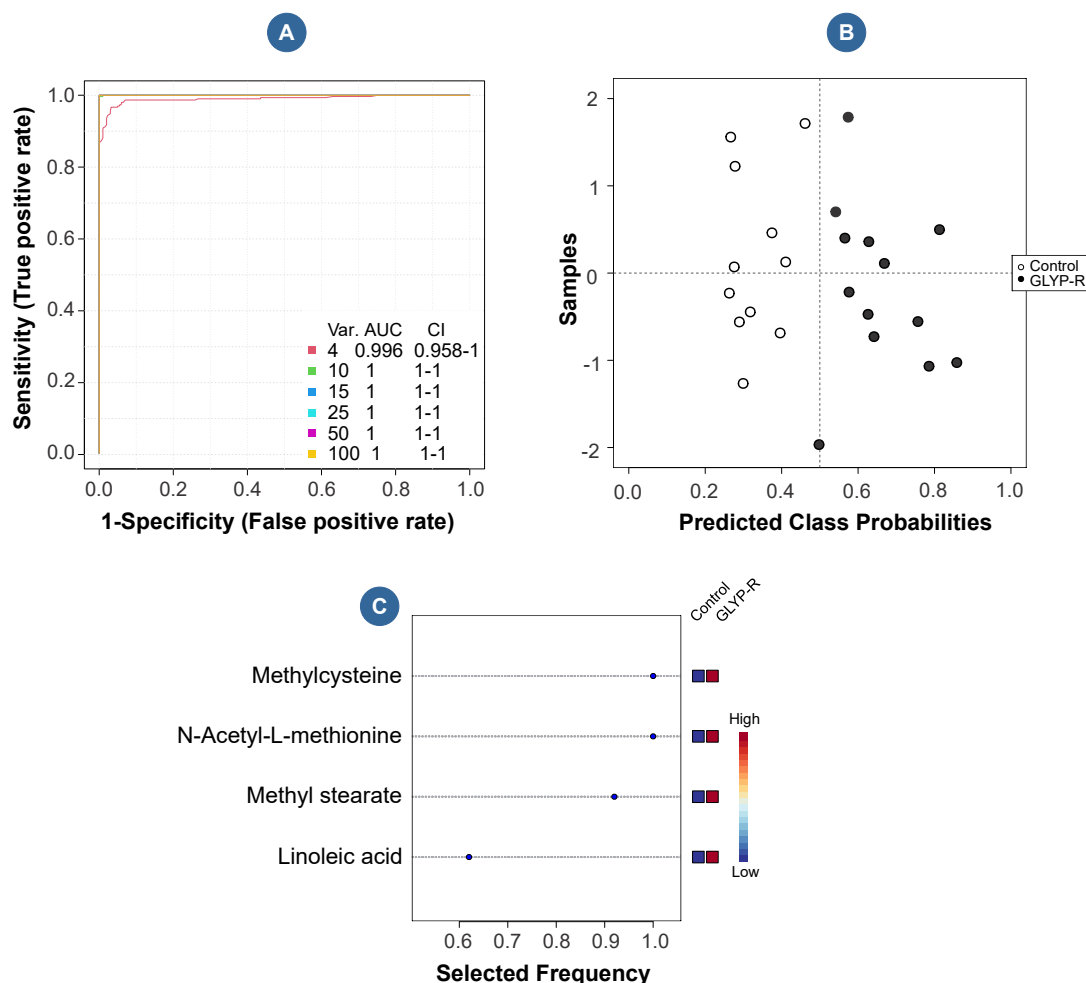
**Figura 2.26** - Resultados do modelo PLS-DA: a) validação cruzada *leave-one-out* indicando o número ótimo de variáveis latentes (asterisco), b) teste de permutação, c) *scores* de LV 1  $\times$  LV 2 e d) os 15 maiores VIP *scores* de LV 1. 3,4-MDB: 3,4-metilenedioxibenzaldeído, 6-amino-9H-purina-9-PA: ácido 6-amino-9H-purina-9-propanoico.

#### 2.4.10 Modelo *untargeted* de potenciais biomarcadores

Utilizando o módulo Biomarker Analysis do MetaboAnalyst, foi feita a avaliação de um modelo de potenciais biomarcadores com os metabólitos (de maiores VIP *scores*) de células HDFa expostas e não expostas a GLYP-R. Foi feita uma análise por curvas ROC multivariadas. Essa ferramenta constrói conjuntos de candidatos a biomarcadores (modelos), selecionados com base nos parâmetros de desempenho de diagnóstico (AUROC) e classificação (sensibilidade e especificidade). As curvas ROC foram geradas por meio de validação cruzada do tipo Monte-Carlo (MCCV), para evitar a possibilidade de *overfitting*. Em cada MCCV, 2/3 das amostras foram usadas na seleção dos *features* mais importantes utilizando um método de

classificação (PLS-DA, com 2 LVs) e 1/3 foi utilizado na validação do modelo. Esse processo foi repetido várias vezes para o cálculo de parâmetros de desempenho. A Figura 2.27a mostra as curvas ROC baseadas no desempenho da validação cruzada para modelos com diferentes quantidades de metabólitos. O melhor modelo escolhido pela MCCV foi o de 10 *features*, no entanto, percebe-se que o modelo com apenas 4 *features* também apresentou alto desempenho de diagnóstico (AUROC = 0,996). Utilizando a AUROC, foram calculadas as probabilidades preditas de classificação para cada amostra (Figura 2.27b), usando o modelo de 4 potenciais biomarcadores. Com base na matriz de confundimento (da validação cruzada), a sensibilidade foi igual a 0,923 e a seletividade, 1,000, indicando que o modelo apresentou alto desempenho na classificação das amostras.

Os quatro metabólitos selecionados pela análise ROC para compor o modelo de potenciais biomarcadores de exposição ao GLYP-R estão ilustrados na Figura 2.27c. Destacaram-se os aminoácidos metilcisteína e a *N*-acetil-L-metionina, que foram escolhidos em 100 % das validações cruzadas, evidenciando sua importância na discriminação das amostras. A aplicação das curvas ROC aos dados confirmou que esses quatro metabólitos, indicados pelo modelo PLS-DA, são potenciais biomarcadores. Considerando que o estudo foi realizado *in vitro*, com uma linhagem específica de células de pele, esses metabólitos podem ser considerados candidatos promissores a biomarcadores de exposição ao GLYP-R. Entretanto, para sua aplicação em testes clínicos, serão necessárias etapas adicionais de validação, envolvendo outras linhagens celulares, modelos animais e, por fim, seres humanos.

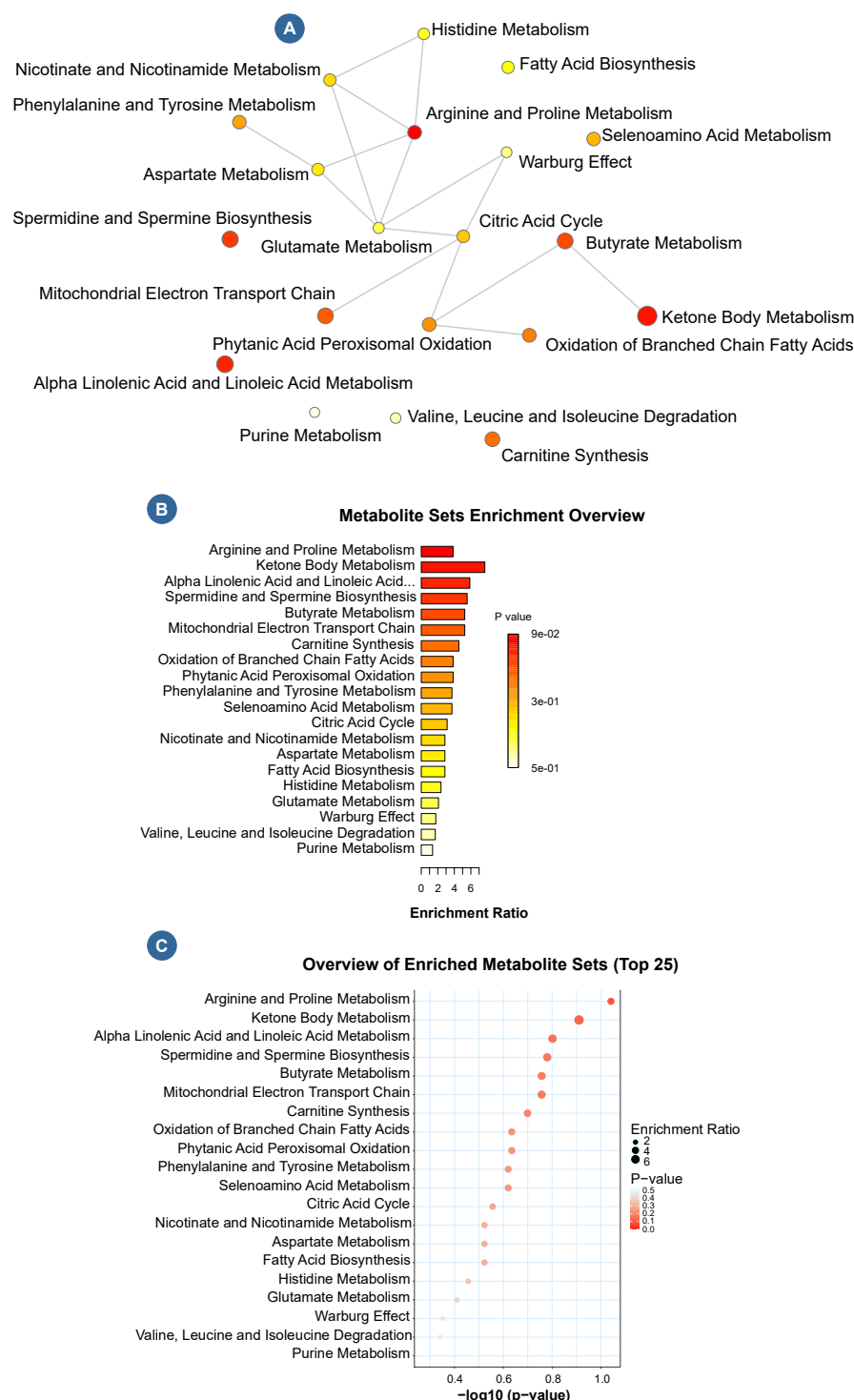


**Figura 2.27** - Modelo de potenciais biomarcadores *untargeted* de células HDFa expostas ao GLYP-R: a) curvas ROC para modelos com diferentes quantidades de metabólitos, b) gráfico de previsão de classificação mostrando que apenas uma amostra foi incorretamente classificada e c) os 4 metabólitos do modelo de potenciais biomarcadores.  $n(\text{GLYP-R}) = 13$ ,  $n(\text{controle}) = 11$ .

#### 2.4.11 Interpretação biológica da análise *untargeted*

Para identificar as vias metabólicas mais importantes, foi feita uma análise utilizando os módulos Enrichment Analysis e Pathway Analysis do site MetaboAnalyst. Para Enrichment Analysis, foi utilizada a biblioteca *The Small Molecule Pathway Database* (SMPDB), composta por 99 conjuntos de metabólitos baseados em vias metabólicas humanas. Esse tipo de análise é baseado na ferramenta *globaltest*, que testa associações entre conjuntos de metabólitos para estabelecer as vias metabólicas representativas (Goeman *et al.*, 2004). Foi feito o *upload* dos

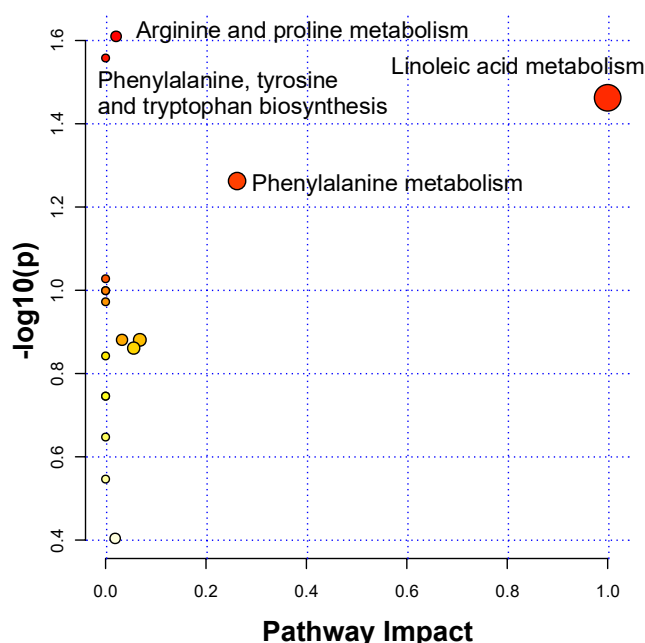
25 metabólitos de maiores VIP *scores* do modelo PLS-DA no MetaboAnalyst, incluindo os 10 biomarcadores *untargeted*, que forneceram os resultados apresentados na Figura 2.28.



**Figura 2.28** - a) Redes de vias metabólicas associadas aos 25 metabólitos de maiores VIP *scores* e (b, c) avias mais importantes na diferenciação das amostras. O tamanho do círculo corresponde à contribuição da via e a cor indica o *p*-valor.

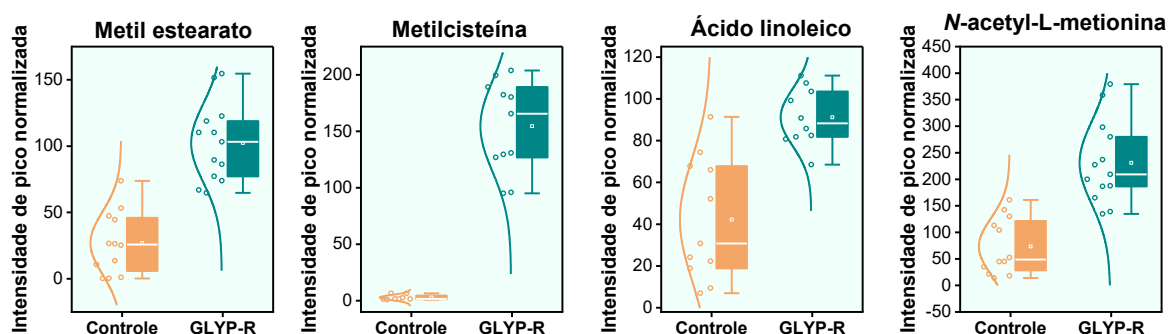
Diversas vias foram identificadas (Figura 2.28a), com maiores detalhes descritos no APÊNDICE 1 –. Os resultados mostraram que o metabolismo de glutamato apresentou forte interação com o metabolismo de aspartato, arginina e prolina, nicotinato e nicotinamida e ciclo do ácido cítrico. O metabolismo de arginina e prolina mostrou a maior contribuição com a maior significância (menor *p*-valor), seguido do metabolismo de corpos cetônicos, de ácido alfa-linolênico/ácido linoleico e da biossíntese de espermidina/espermina (Figura 2.28b,c). Essas duas primeiras vias citadas foram as mais importantes na diferenciação das amostras de células expostas e não expostas ao GLYP-R e, conseqüentemente, na explicação do modelo de potenciais biomarcadores.

No módulo Pathway Analysis, foi utilizada a biblioteca *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG), para *Homo sapiens*. A análise confirmou os resultados do módulo Enrichment analysis, com o metabolismo de arginina/prolina como o mais importante para a explicação biológica do conjunto de metabólitos significantes (Figura 2.29). A biossíntese de fenilalanina, tirosina e triptofano, assim como os metabolismos de ácido linoleico e de fenilalanina, também contribuíram para a explicação do efeito biológico causado pela exposição de células HDFa ao GLYP-R.



**Figura 2.29** - Resultado gráfico da análise feita no módulo Pathway impact analysis, com os 25 metabólitos de maiores VIP scores. Método de visualização: scatter plot (*testing significant features*); método de *enrichment*: teste hipergeométrico; medida de topologia: *relative-betweenness centrality*; metaboloma de referência: compostos da biblioteca de vias selecionada.

Metilcisteína é um aminoácido conhecido por atuar como agente protetor contra o estresse oxidativo, que causa danos ao DNA (Rubino *et al.*, 2011). O metabolismo de cisteína está associado à via de arginina e prolina através do intermediário espermina, que foi identificado neste trabalho. O metabolismo de cisteína e metionina produz *S*-adenosilmetioninamina, a partir de *S*-adenosil-L-metionina, pela enzima *S*-adenosilmetionina descarboxilase. *S*-adenosilmetioninamina é então convertida a espermina, por intermédio da enzima espermina sintase (KEGG, 2024c). No presente estudo, foi identificado um aumento de metilcisteína (*upregulation*) nas células expostas ao GLYP-R (Figura 2.30). A formação de metilcisteína já foi relacionada com o reparo da lesão de *O*<sup>6</sup>-metilguanina do DNA em células de fibroblastos humanos causada por compostos nitrogenados (Harris *et al.*, 1984). Esse tipo de lesão do DNA também sugere a indução de mecanismos de carcinogênese pelo glifosato (Hao *et al.*, 2019; Mink *et al.*, 2012; Roma *et al.*, 2023).



**Figura 2.30** - Quantidades relativas de potenciais biomarcadores *untargeted* nas amostras;  $n(\text{GLYP-R}) = 13$ ,  $n(\text{controle}) = 12$ .

O segundo metabólito mais significativo, *N*-acetil-L-metionina, também é um derivado de AA conhecido por atuar na inibição da produção de ROS (Kouno *et al.*, 2014) e apresentou *upregulation* em células expostas ao GLYP-R. O metabólito pode ser biossintetizado tanto por degradação de proteínas *N*-acetiladas, via hidrolases específicas, como por síntese direta a partir do AA metionina, por meio de *N*-acetiltransferases específicas (HMBDB, 2024). Da mesma forma que para cisteína, o metabolismo de metionina está conectado à via de arginina e prolina pelo intermediário espermina. Wang, Y. *et al.* (2023) identificaram *N*-acetil-L-metionina como potencial biomarcador para o diagnóstico da doença de Alzheimer e de comprometimento cognitivo leve. Alguns estudos já associaram a exposição ao GLYP ao desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (Ignácio *et al.*, 2024; Ren, J. *et al.*, 2024; Winstone *et al.*, 2022).

O aumento da biossíntese de *N*-acetil-L-metionina observado no presente estudo confirma que esse metabólito também pode ser estudado como biomarcador de doenças neurodegenerativas causadas pela exposição ao GLYP.

O metil estearato é um éster metílico de ácido graxo obtido a partir do ácido esteárico que, por sua vez, é produzido pela via de biossíntese de ácidos graxos, relacionada com o metabolismo de lipídeos. Essa via é responsável pela bioenergética celular e pela integridade da membrana plasmática. Com origem na acetil-CoA, a biossíntese de ácido esteárico ocorre por uma série de etapas que termina na conversão do transportador de proteína estearoil-acil-ACP a ácido esteárico pela ação da enzima graxa acil-ACP tioesterase A (KEGG, 2024d). Ainda não há trabalhos que investigaram a relação entre ácido esteárico (ou seus derivados) e a exposição de humanos ou animais ao GLYP-R. No entanto, é importante destacar que esse ácido graxo já foi associado ao desenvolvimento de doença microvascular coronária, em estudo envolvendo mulheres em estágio pós-menopausa, que apresentaram elevados níveis de ácido esteárico (Eve *et al.*, 2021). O metabólito também foi identificado como potencial inibidor de autofagia, disfunção intimamente relacionada à doença de Parkinson. Além disso, associações entre *upregulation* de ácido esteárico e doença renal crônica (Zhang, Z. H. *et al.*, 2016) e obesidade mórbida (Sansone *et al.*, 2016) já foram relatadas.

O ácido linoleico assume papel central no metabolismo de lipídeos, pois forma ácidos graxos importantes, como o ácido araquidônico, e está presente em diversas outras vias regulatórias (metabolismo do ácido araquidônico, biossíntese de ácidos graxos insaturados, ferroptose, necroptose, regulação de lipólise em adipócitos, síntese e secreção de aldosterona, etc.) (KEGG, 2024b). O ácido linoleico é metabolizado a ácido araquidônico por meio dos intermediários  $\gamma$ -linolenato e di-homo- $\gamma$ -linolenato. A maior quantidade de ácido linoleico nas células expostas em relação ao controle indica que houve *upregulation* de ácido araquidônico pela exposição ao GLYP-R. Este ácido é conhecido por induzir estresse oxidativo pela alta produção de ROS na célula (Cheng *et al.*, 2022). O composto ativa canais de cálcio na membrana celular, por meio de NOX2 (NADPH oxidase 2). O aumento da concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  no citoplasma ativa CPLA2 (fosfolipase citosólica A2) que, na presença de ácido araquidônico ativa LOX (araquidonato 15-lipoxigenase), gerando alta produção de ROS. O excesso de ROS aumenta a permeabilidade da membrana em um processo conhecido como necroptose (necrose programada) (KEGG, 2024f). Conforme mostrou o ensaio de marcação



com PI, GLYP-R causou morte celular por necrose nas células de fibroblastos. A marcação com PI não é suficiente para determinar que tipo de necrose (programada ou não programada) atua na célula sob estresse. Para isso, seria necessário um ensaio de inibidores farmacológicos, que bloqueiam ou atrasam apoptose, necroptose ou ferroptose, mas que não atuam sobre necrose não programada (Costigan; Hollville; Martin, 2023). Apesar disso, a *upregulation* de ácido linoleico, com consequente aumento da biossíntese de ácido araquidônico sugere que o mecanismo de necroptose atuou no efeito de morte celular induzido pela exposição ao herbicida.

#### **2.4.12 Análises uni e multivariada dos metabólitos *targeted***

Os AA foram quantificados nas mesmas amostras utilizadas na análise *untargeted*, utilizando normalização por Norv nas curvas de calibração (Figura 2.31). A matriz de dados (25 amostras × 21 analitos) foi analisada no MetaboAnalyst, utilizando os mesmos módulos descritos nos tópicos 2.4.9 e 2.4.10. Foi identificado um total de 0,4 % de *missing values*, que foram substituídos por 1/5 dos valores positivos mínimos das variáveis correspondentes. O pré-processamento mais adequado aos dados foi o *range scaling*.

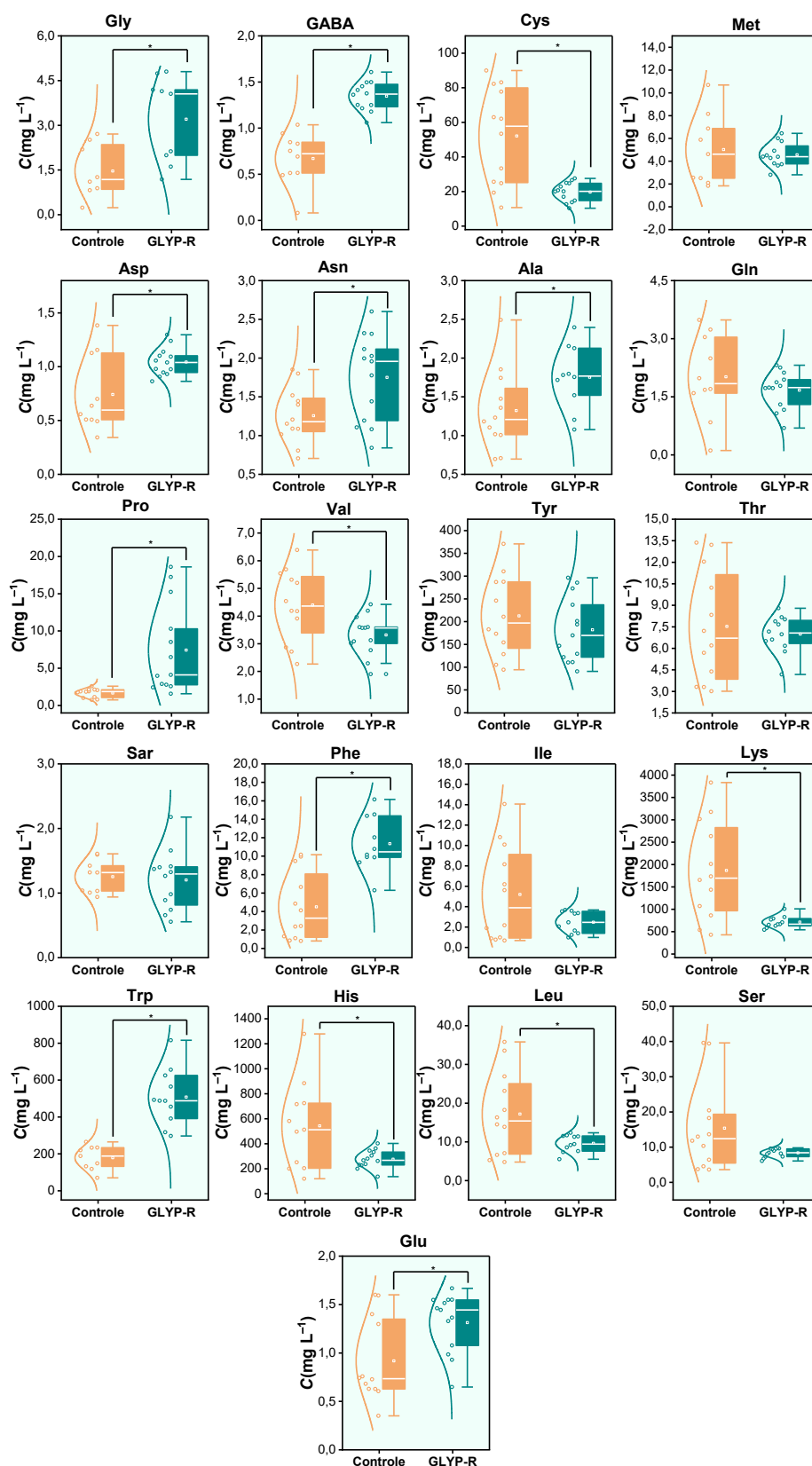
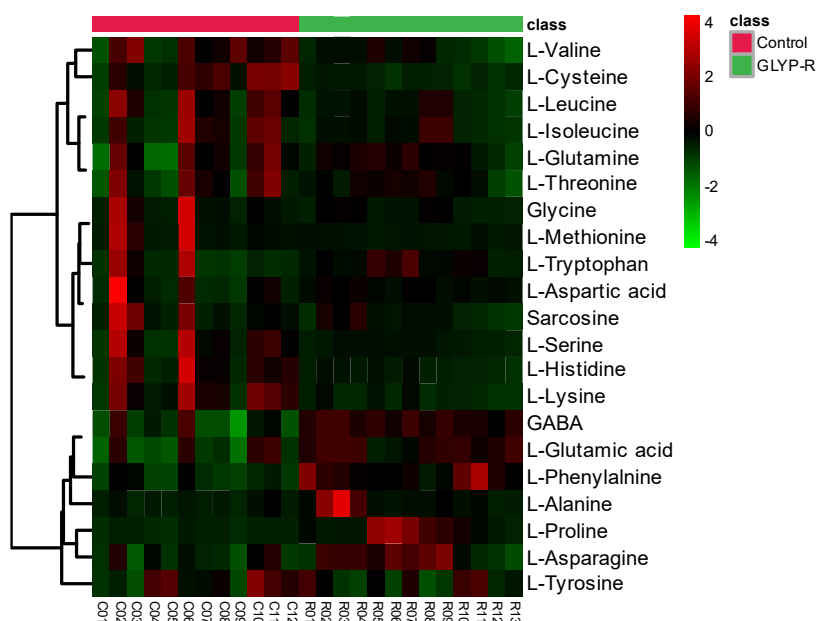


Figura 2.31 - Aminoácidos quantificados nas amostras.  $n(\text{GLYP-R}) = 13$ ,  $n(\text{controle}) = 12$ .

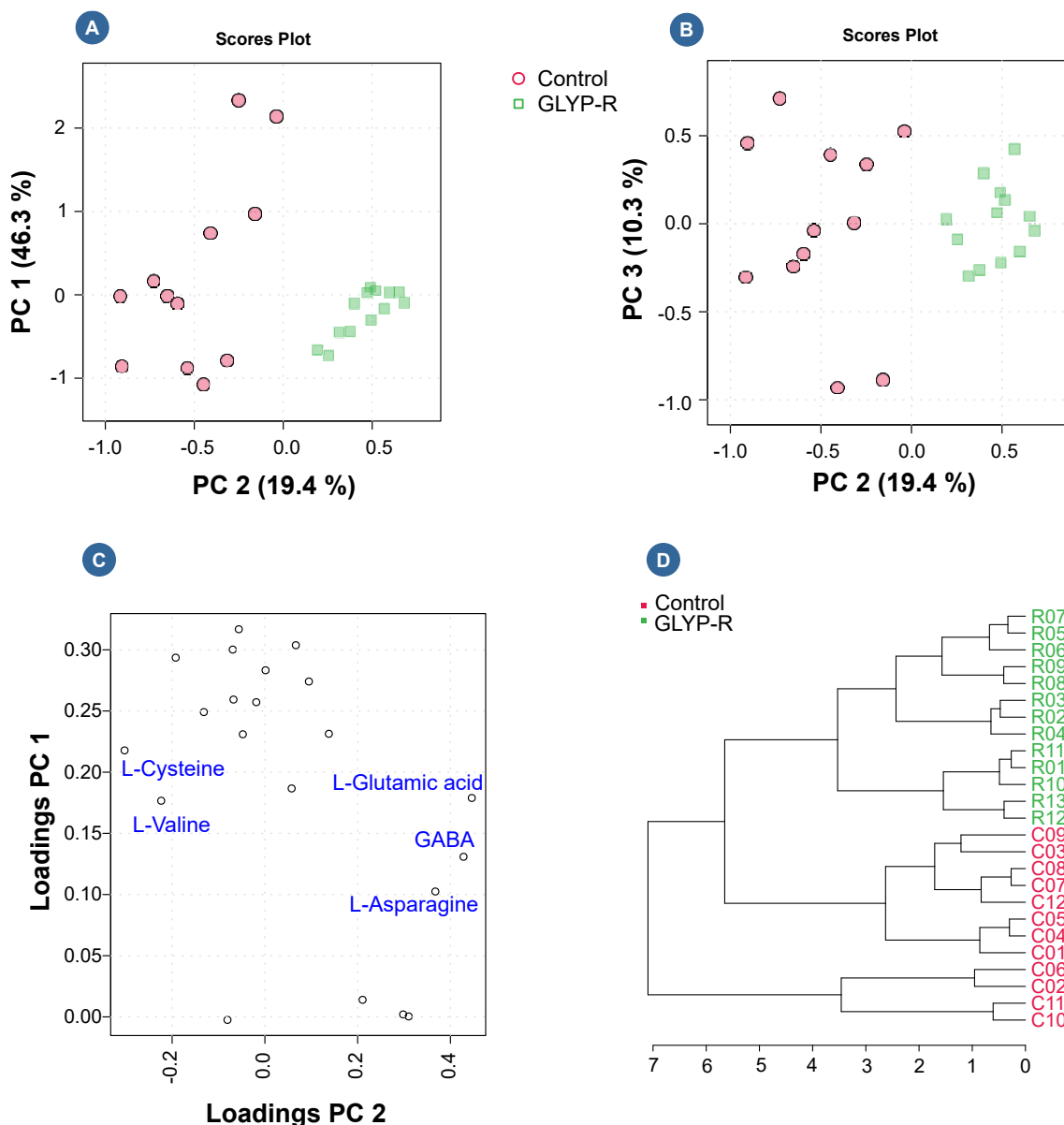
Os AA quantificados apresentaram distribuição variada dos valores de concentração. Nas amostras controle, Asp, Trp, Gly, Met, His e Lys foram os AA mais abundantes. Nas amostras de células expostas ao GLYP-R, os AA com maiores valores de concentração foram Ala, Pro e Phe (Figura 2.32).



**Figura 2.32** - Heatmap dos AA quantificados em amostras de células expostas e não expostas ao GLYP-R.

Para identificar os AA significantes na discriminação das amostras, foi aplicado o método PCA aos dados. Com 3 PCs, o modelo explicou 75,9 % da variância. Houve excelente discriminação das amostras, com a formação de dois grupos em PC 2: células expostas ao GLYP-R foram agrupadas no lado positivo e células não expostas, no lado negativo (Figura 2.33a,b). O gráfico de *loadings* de PC 2 (Figura 2.33c) mostrou que os metabólitos responsáveis por essa discriminação foram Glu, GABA, Asn (*loadings* mais positivos), Cys e Val (*loadings* mais negativos). Assim, Glu (principalmente), GABA e Asn foram os AA diretamente associados ao grupo de células expostas, enquanto Cys (principalmente) e Val, os AA associados ao grupo controle. O dendrograma obtido a partir do modelo HCA mostrou a formação de dois clusteres, um com todas as amostras controle e outro contendo todas as

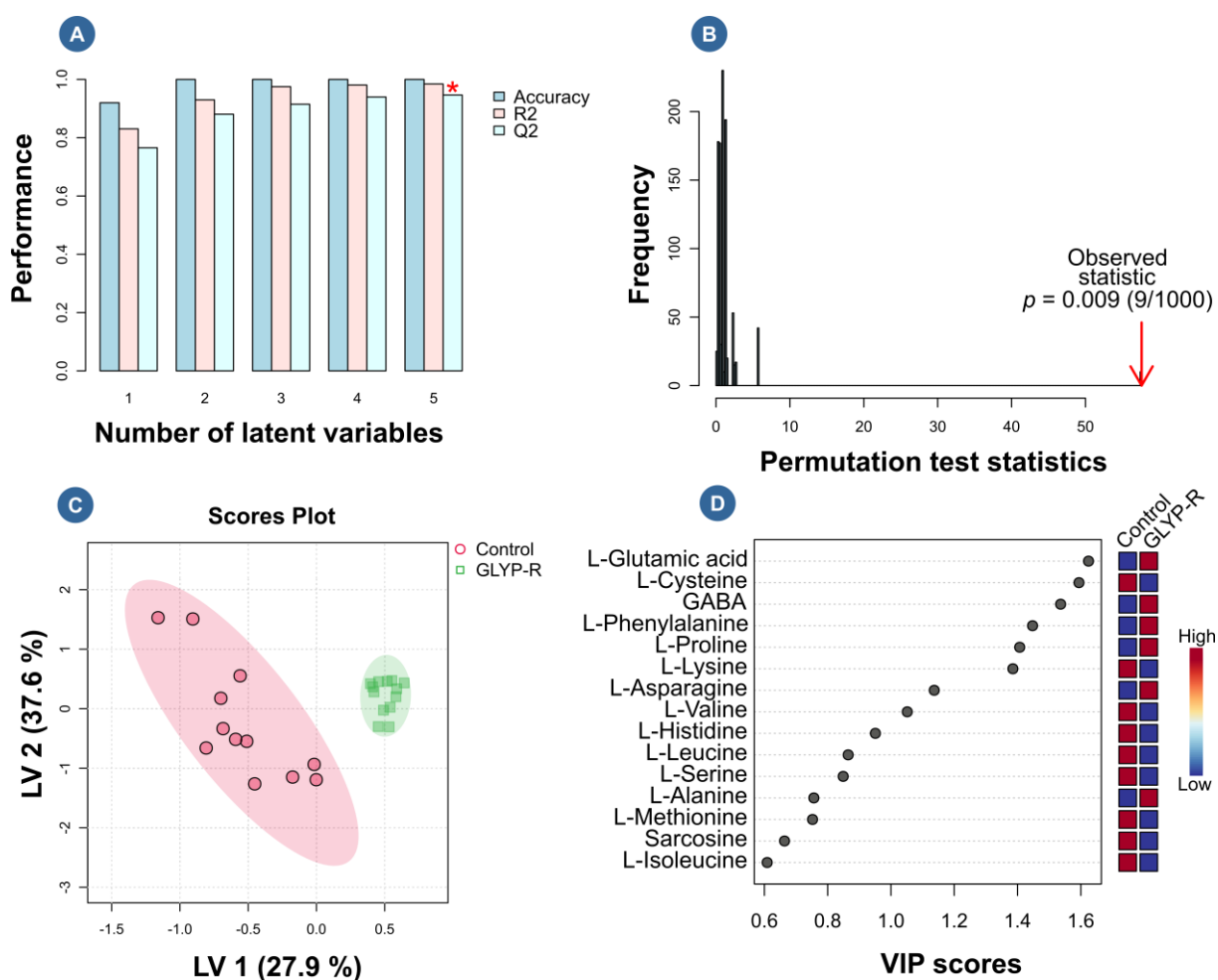
amostras expostas a GLYP-R (Figura 2.33d). Esse resultado concordou com o perfeito agrupamento das amostras observado em PCA.



**Figura 2.33** - Gráficos de *scores* dos dados normalizados de concentração de AA nas amostras: a) PC 1 × PC 2 e b) PC 2 × PC 3. c) Gráfico de *loadings* de PC 1 × PC 2. d) Dendrograma do modelo HCA, aplicando distância euclidiana e o algoritmo *ward clustering*.

Para a construção do modelo PLS-DA, foram escolhidas 5 LVs (Figura 2.34a) com base no menor valor de erro de classificação (acurácia = 1,0) fornecido pela validação cruzada por LOOCV ( $R^2 = 0,98435$ ,  $Q^2 = 0,94668$ ). O teste de permutação não indicou *overfitting* do

modelo (Figura 2.34b), seja com 100 ( $p < 0,01$ ) ou 1000 permutações ( $p = 0,009$ ). O modelo mostrou perfeita classificação das amostras, com a formação de dois clusters em LV 1 (Figura 2.34c). Os AA de maiores valores de VIP *scores* associados a essa variável latente foram Glu, Cys e GABA (Figura 2.34d). Estes foram os AA de maior importância para a discriminação observada em LV 1, confirmando o resultado obtido por PCA. Os resultados combinados de PCA e PLS-DA indicaram que esses 3 AA são potenciais biomarcadores.

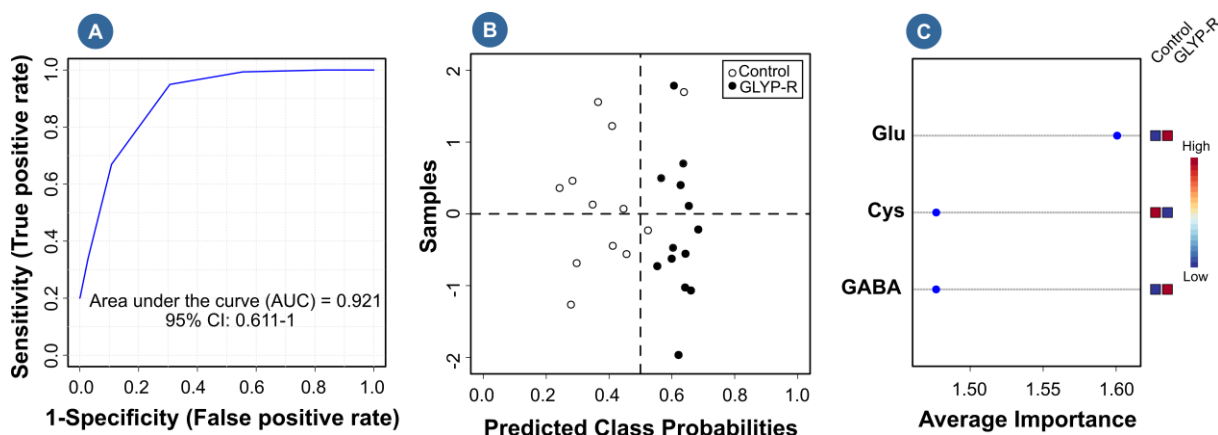


**Figura 2.34** - a) LOOCV aplicada aos dados normalizados de concentração de AA nas amostras, indicando 5 LVs como a melhor escolha para a construção do modelo PLS-DA. b) Teste de permutação utilizando B/W com 1000 permutações. c) Gráfico de *scores* de LV 1  $\times$  LV 2. d) Os 15 AA de maiores VIP *scores* em LV 1.

#### 2.4.13 Modelo *targeted* de potenciais biomarcadores

Para avaliar o desempenho de AA como potenciais biomarcadores *targeted*, foi aplicado o método de curvas ROC multivariadas aos AA quantificados de maiores valores de VIP *score* (Figura 2.35). A análise mostrou que o modelo com três AA apresentou elevado desempenho

de diagnóstico (AUROC = 0,921), com altos valores de sensibilidade (1,000) e especificidade (0,833). Por meio desses valores, foi definido o modelo de potenciais biomarcadores *targeted*, composto por Glu, Cys e GABA, com destaque para Glu (biomarcador mais importante do modelo).



**Figura 2.35** - Gráficos da análise ROC: (a) avaliação de desempenho do diagnóstico com AUROC, (b) desempenho de classificação de amostras e (c) importância de cada AA no modelo de biomarcador *targeted* da exposição ao GLYP-R.  $n(\text{GLYP-R}) = 13$ ,  $n(\text{controle}) = 12$ .

#### 2.4.14 Interpretação biológica da análise *targeted*

Os resultados mostraram que a via mais importante neste estudo foi o metabolismo de arginina/prolina, que está interconectada com diversas outras vias envolvendo AA (metabolismo de alanina, aspartato e glutamato, de D-aminoácidos, degradação de lisina, metabolismo de cisteína/metionina/glicina/serina/treonina e do ciclo do ácido cítrico) (KEGG, 2024c). O AA L-ácido glutâmico ou glutamato (Glu) é conhecido pela sua forte influência na regulação da produção excessiva de ROS (estresse oxidativo) e pela elevada conexão do seu metabolismo com as outras vias de AA. O principal agente intracelular protetor contra o estresse oxidativo é o tripeptídeo glutatona (GSH). GSH reage com radicais livres e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , oxidando-se a GSSG, em um processo reversível. A *upregulation* da biossíntese de GSH e a diminuição da razão GSH/GSSG são indicativos de estresse oxidativo (Hayes; McLellan, 1999; Marrocco; Altieri; Peluso, 2017). A biossíntese de GSH tem como precursores Glu e L-cisteína (Cys), que se convertem inicialmente em L- $\gamma$ -glutamilcisteína, pela ação da subunidade catalítica de glutamato-cisteína ligase (GCLC). Esse intermediário gera então GSH, por meio da glutatona sintase (GSS). Embora Glu seja consumido na biossíntese de GSH, é também produzido no catabolismo de GSH a ácido mercaptúrico (KEGG, 2024e). Essas evidências justificaram a

*upregulation* de Glu nas células expostas a GLYP-R, no presente estudo (Figura 2.36), confirmando o seu papel na proteção das células contra os efeitos do estresse oxidativo (Zhang, Q. *et al.*, 2022). O consumo de Cys nesse processo e na biossíntese de metilcisteína (subtópico 2.4.11) justificou a diminuição desse AA nas amostras de células expostas, quando comparadas ao controle.

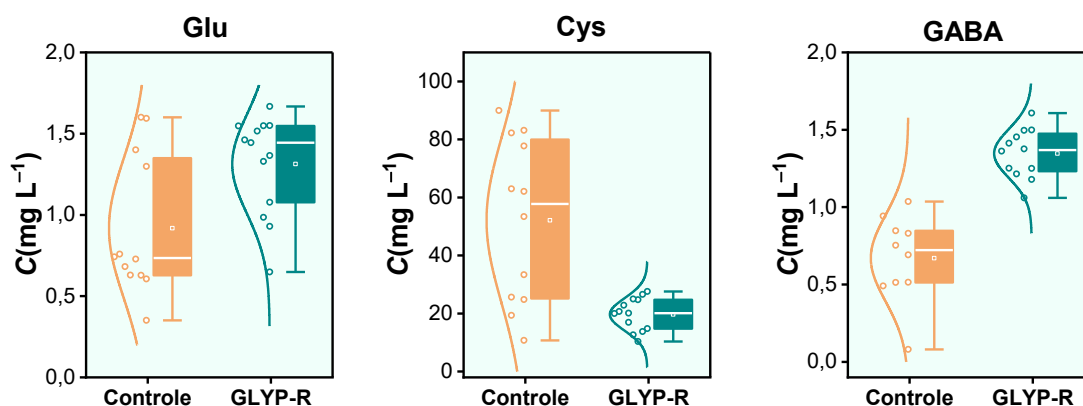


Figura 2.36 - Concentrações de AA nas amostras;  $n(\text{GLYP-R}) = 13$ ,  $n(\text{controle}) = 12$ .

GABA foi indicado como o terceiro mais importante AA no modelo de potenciais biomarcadores *targeted*. Esse AA participa de diversas vias importantes do metabolismo celular. GABA pode ser biossintetizado a partir de Glu por meio da enzima glutamato descarboxilase (GAD), no metabolismo de alanina, aspartato e glutamato (KEGG, 2024a). Através de um processo de duas etapas, GABA produz succinato como metabólito final, que entra no ciclo do ácido cítrico. Esse AA também pode ser produzido a partir de Arg ou Pro, tendo ornitina como intermediário comum, no metabolismo de arginina e prolina. O metabolismo de GABA também produz acetil-CoA, em uma série de etapas reversíveis, responsável por iniciar o ciclo do ácido cítrico. Assim, esse AA exerce elevada importância na manutenção dos mecanismos energéticos da célula. GABA é tradicionalmente conhecido como inibidor de neurotransmissor no sistema nervoso central (Roberts, 1974). Embora haja pouco conhecimento sobre a ação desse AA em tecidos não neuronais, estudos já confirmaram a síntese de GABA em pâncreas, estômago e testículos, por exemplo (Gilon; Tappaz; Remacle, 1991; Tillakaratne *et al.*, 1992). Ito *et al.* (2007) mostraram a localização e a caracterização de GAD em células de fibroblastos de pele humana e de ratos. Os autores verificaram que GABA estimulou a síntese de ácido hialurônico e o aumento da proteção contra estresse oxidativo nas células. Essas evidências

estão de acordo com o presente estudo, que constatou o aumento de GABA nas células de fibroblastos humanos expostas ao GLYP-R.

## **2.5 Conclusões**

Neste trabalho, foi desenvolvido um método GC×GC/Q-TOFMS para análises *untargeted* e *targeted* (AA) de metabólitos extraídos de fibroblastos expostos ao glifosato. O método se mostrou abrangente na análise de diversas classes de metabólitos, permitindo a identificação de 400 compostos. A validação da análise quantitativa de 21 AA apresentou satisfatórios valores das figuras de mérito. Utilizando ensaios biológicos *in vitro*, foi mostrado pela primeira vez que GLYP-R induz estresse oxidativo em células de fibroblastos de pele humana, causando morte celular por necrose. Além disso, através da metabolômica, foi proposto, também de forma inédita, um modelo de potenciais biomarcadores da exposição humana ao GLYP-R, formado por 7 metabólitos (metilcisteína, *N*-acetil-L-metionina, metil estearato, ácido linoleico, L-ácido glutâmico, L-cisteína e ácido  $\gamma$ -aminobutírico). Por meio da análise de vias metabólicas, combinada com discussão bioquímica, foi feita a interpretação dos modos de ação dos potenciais biomarcadores, demonstrando sua relação com diversas vias importantes para o metabolismo energético e de manutenção da vida celular. Este trabalho trouxe importantes descobertas no âmbito da toxicologia do GLYP, contribuindo para aumentar as evidências do perigo da exposição humana ao GLYP-R, com foco na exposição dérmica.



---

## **CAPÍTULO 3. ANÁLISE DE VOCs ASSOCIADOS AO MATERIAL PARTICULADO (PTS e MP<sub>2,5</sub>) EM BRUMADINHO, USANDO DI-SPME-GC×GC/Q-TOFMS**

### **3.1 Introdução**

Em 25 de janeiro de 2019, ocorreu um dos maiores desastres socioambientais da história do Brasil: o desastre de Brumadinho. O evento, que resultou no rompimento da Barragem I de rejeitos de mineração — localizada no ribeirão Ferro-Carvão (também conhecido como Córrego do Feijão) e sob a responsabilidade da empresa Vale — causou 270 vítimas, a maioria trabalhadores da empresa. Além disso, o acidente liberou enorme quantidade de metais tóxicos na região, contaminando o rio Paraopeba e afetando o solo, a água e o ar no local e em áreas adjacentes (Polignano; Lemos, 2020). Por meio de processos de volatilização ou pela ação do vento, a lama, que arrastou a vegetação, pode contribuir para a dispersão de resíduos de agrotóxicos no ar, associados ao material particulado, bem como de diversos outros contaminantes (VOCs/SVOCs). Esses resíduos presentes no ar de Brumadinho podem impactar negativamente a saúde dos moradores locais e das comunidades ao redor. Diante desse cenário, tornou-se fundamental a realização de uma análise abrangente para identificar os tipos de agrotóxicos e VOCs presentes na região.

#### **3.1.1 Agrotóxicos no ar atmosférico**

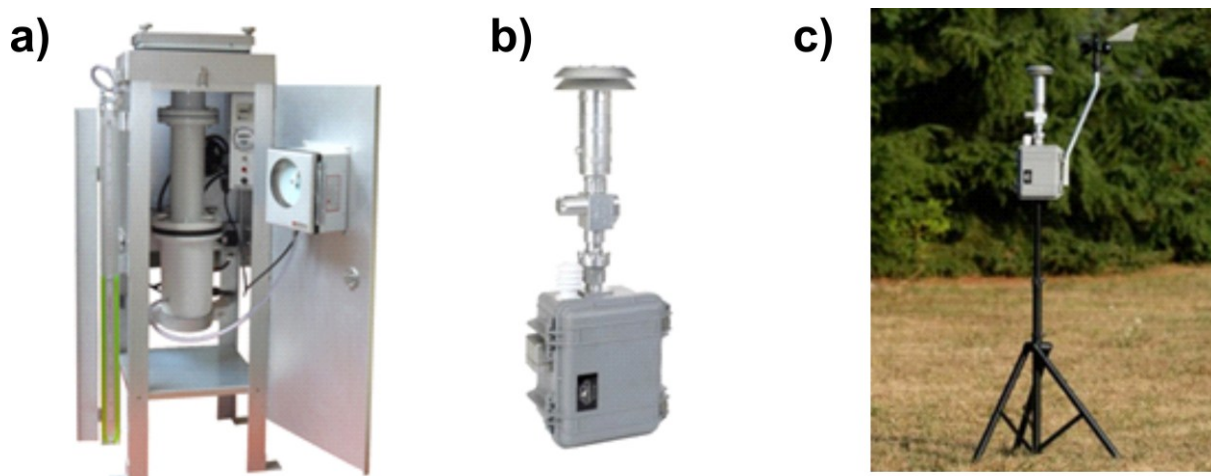
Diversos estudos registraram a presença de resíduos de agrotóxicos no ar (Nascimento, M. M.; Da Rocha; De Andrade, 2018). Guida *et al.* (2018) determinaram agrotóxicos organoclorados (*organochlorine pesticides*, OCPs) e de uso corrente (*current-use pesticides*, CUPs), como piretroides, em duas unidades de conservação no estado do Rio de Janeiro/Brasil: Parque Nacional do Itatiaia (~2400 m acima do nível do mar) e Parque Nacional da Serra dos Órgãos (~2200 m acima do nível do mar), de 2013 a 2015. O segundo parque é cercado por uma região de intensa atividade agrícola (70 % da produção agrícola do RJ), com amplo uso de agrotóxicos na produção de alimentos e flores. A coleta dos agrotóxicos em fase gasosa foi realizada por amostragem passiva atmosférica, com discos de espuma de poliuretano

(*polyurethane foam*, PUF) e a determinação dos compostos ocorreu por GC/MS. O perfil de contaminação foi semelhante para os dois parques nacionais, sendo que as mais altas concentrações foram de endosulfan (3202 pg m<sup>-3</sup>), cipermetrina (881 pg m<sup>-3</sup>) e clorpirifós (270 pg m<sup>-3</sup>). Segundo os autores, endosulfan é reportado como um dos mais abundantes OCPs no ar. O Brasil adotou as diretrizes da Convenção de Estocolmo, proibindo o uso de endosulfan desde 2014. As concentrações encontradas para esse agrotóxico foram no mínimo uma ordem de grandeza acima das concentrações encontradas em regiões montanhosas norte-americanas, europeias e asiáticas. Cipermetrina é o piretroide mais usado no Brasil e apresentou níveis pouco inferiores aos encontrados em regiões similares da Ásia. Clorpirifós foi encontrado em baixas concentrações, similares às reportadas por estudos em regiões remotas da República Tcheca e da Irlanda. No entanto, houve aumento da concentração desse agrotóxico no Parque Nacional da Serra dos Órgãos ao longo da campanha de amostragem e em relação a estudo feito 5 anos antes na mesma região. Esse foi o primeiro estudo que determinou piretroides em regiões montanhosas brasileiras.

Outro trabalho brasileiro relevante determinou agrotóxicos em material particulado respirável, cujo diâmetro aerodinâmico é menor ou igual a 2,5 µm (MP<sub>2,5</sub>), utilizando amostradores de grande volume (*high-volume*, Hi-Vol) com filtros de fibra de quartzo. O estudo foi feito entre julho e outubro de 2010, em três locais em torno da Baía de Todos os Santos/Bahia: Ilha da Maré, Base Naval de Aratu e Ilha de Itaparica. Foram determinados 12 agrotóxicos, 8 dos quais são banidos internacionalmente. As concentrações encontradas variaram de 20,0 pg m<sup>-3</sup> (carbofuran) a 315 pg m<sup>-3</sup> (permetrina) (Nascimento, M. M.; Da Rocha; De Andrade, 2017).

### 3.1.2 Amostradores de ar atmosférico

Os amostradores de grande volume (AGV) monitoram partículas com diâmetro aerodinâmico de até 50 µm, denominadas partículas totais em suspensão (PTS), material particulado inalável com diâmetro aerodinâmico menor ou igual a 10 µm (MP<sub>10</sub>) ou MP<sub>2,5</sub>. As coletas são comumente feitas com vazão em torno de 1,1 m<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>, por período maior ou menor que 24 h (depende do nível de concentração das partículas no ar), usando filtros de fibra de quartzo ou de vidro (Figura 3.1a).



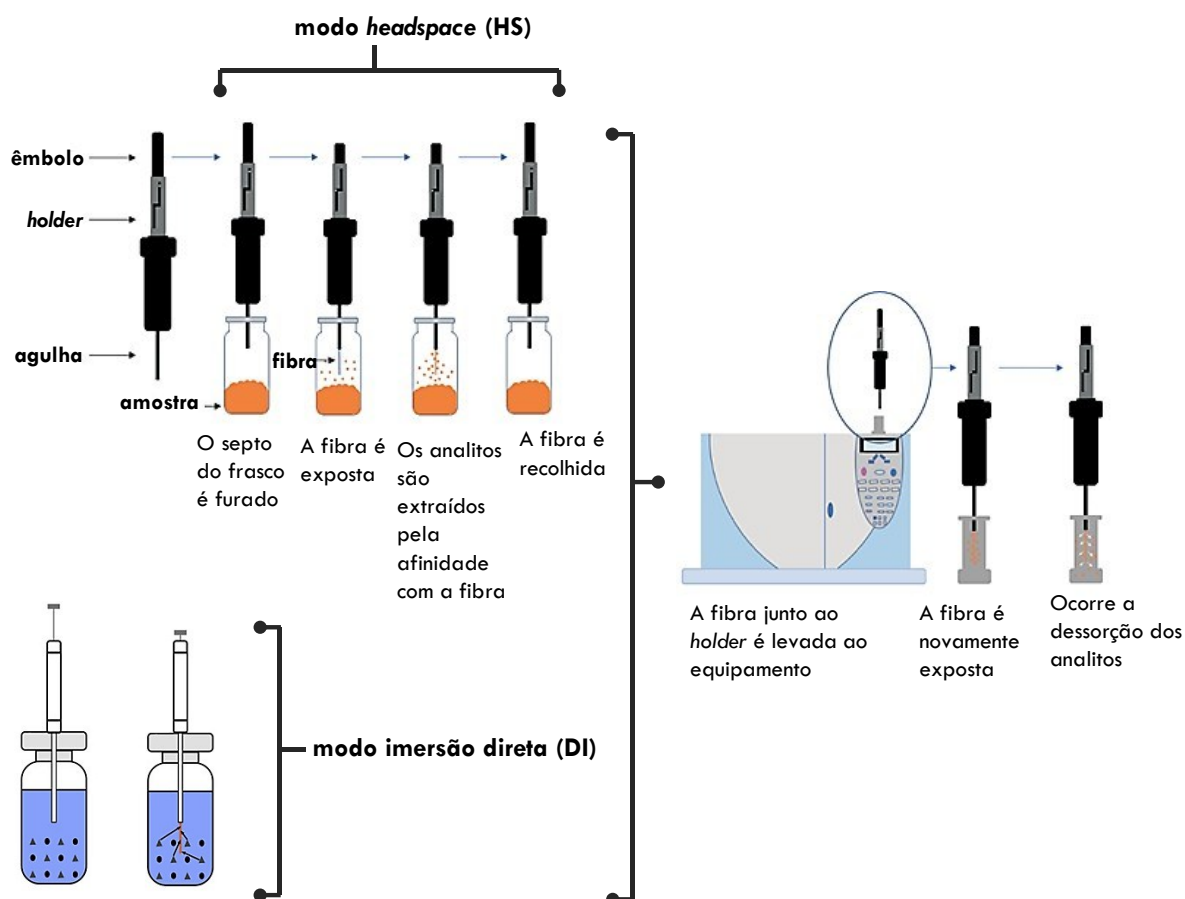
**Figura 3.1** - a) Amostrador AGV para monitoramento de PTS, MP<sub>2,5</sub> ou MP<sub>10</sub>. b e c) Amostrador ARA, modelo N-FRM, para monitoramento de MP<sub>2,5</sub> ou MP<sub>10</sub>. Fontes: ARA Instruments (USA) e ENERGÉTICA.

Os amostradores de médio volume (AMV) realizam a aspiração do ar ambiente a uma vazão constante de 17,0 L min<sup>-1</sup> por uma entrada especialmente construída, onde o material particulado suspenso é inercialmente separado em uma ou mais frações de tamanho, dentro da faixa de MP<sub>10</sub> ou MP<sub>2,5</sub>. Cada fração é então coletada em um filtro pré-selecionado de acordo com a técnica analítica a ser empregada na caracterização físico-química das amostras. Para análises de compostos orgânicos, são empregados filtros de fibra de quartzo, enquanto para análises de compostos inorgânicos, filtros de politetrafluoretileno (PTFE). O amostrador AMV da marca ARA, modelo N-FRM (Figura 3.1b,c) é um equipamento portátil, que pode ser operado com uso de bateria ou diretamente na energia, aplicado à coleta de cada fração do MP, individualmente, permitindo, por meio de sensores adicionais, a medição simultânea da contagem de partículas e de dados meteorológicos. A contagem de partículas fornece um perfil temporal do MP ao longo de 24 h, indicando os horários de pico das concentrações. O amostrador atende a todos os requisitos e níveis de desempenho dos equipamentos certificados pela agência de proteção ambiental U.S. EPA (Noble *et al.*, 2001).

### 3.1.3 Microextração em fase sólida

Uma das principais técnicas de extração utilizadas para análise de compostos orgânicos em matrizes complexas é a microextração em fase sólida (*solid phase microextraction*, SPME), desenvolvida por Arthur e Pawliszyn (1990). O princípio da extração por SPME se baseia no equilíbrio de partição do analito entre a matriz da amostra e a fase extratora. A fase extratora

consiste em um revestimento polimérico, de comprimento e espessura específicos, suportado em uma haste de sílica fundida ou de aço inoxidável. Esta haste é protegida por um tubo oco (agulha) de aço inoxidável, o qual permite que a fibra seja exposta ou recolhida livremente. O conjunto fibra e agulha formam o *holder*. O procedimento geral de uso das fibras de SPME consiste em duas etapas: extração e dessorção. Na primeira etapa, a agulha é introduzida no frasco contendo a amostra e, em seguida, a fibra é exposta por tempo suficiente para que seja alcançado o equilíbrio de sorção dos analitos. A exposição da fibra pode acontecer de dois modos: imersão direta (*direct immersion*, DI) ou na fase gasosa acima da amostra (*headspace*, HS). Atingido o equilíbrio, a fibra é recolhida e o *holder* é retirado do frasco. Na segunda etapa, a agulha do *holder* é inserida na entrada do injetor do cromatógrafo a gás ou na interface SPME/HPLC. A fibra é então exposta por um tempo específico, para que ocorra a dessorção dos analitos (Figura 3.2).



**Figura 3.2** - Ilustração do procedimento de extração por HS-SPME com dessorção no injetor de um cromatógrafo a gás. Fonte: García *et al.* (2021).

Existem vários tipos de materiais usados como revestimento de fibras, sendo os seguintes os mais usados comercialmente: PDMS (*polydimethylsiloxane*), carboxen/PDMS, PDMS/DVB (*divinylbenzene*), PA (*polyacrylate*), PEG (*polyethyleneglycol*) e DVB/carboxen/PDMS. A escolha adequada do tipo de revestimento da fibra é fundamental para o sucesso das análises e depende de fatores como a massa molar dos analitos, sua polaridade e seus níveis de concentração na amostra. Outros revestimentos desenvolvidos recentemente também têm sido usados, como líquidos iônicos (poliméricos ou não poliméricos), materiais carbonáceos, polímeros de impressão molecular, estruturas metalorgânicas, metais, óxidos metálicos, polímeros condutores e sílica modificada. Além da configuração em *holder*, outros dispositivos de amostragem por SPME também têm sido usados, tais como o revestimento interno de recipientes e externo de barras de agitação magnética, pedaços de tubos de PDMS e filmes finos (Ouyang; Jiang, 2017).

As principais características da SPME são pré-concentração e não dependência de solvente orgânico. Além disso, a extração e pré-concentração ocorrem em uma etapa única. Outras vantagens são a seletividade, a reutilização das fibras e o pequeno volume de amostra, o que reduz o efeito de matriz. A técnica SPME tem sido utilizada em diversos campos, como, por exemplo, em análises ambientais, de drogas, alimentos, fragrâncias e em estudos *in vivo* (Menezes; Cardeal, 2011; Ouyang; Jiang, 2017; Pawliszyn, 2000; Xu, C.-H. *et al.*, 2016).

## **3.2 Objetivos**

### **3.2.1 Objetivo geral**

Otimizar um método de varredura de agrotóxicos e VOCs em amostras de material particulado, usando cromatografia a gás bidimensional abrangente.

### **3.2.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver um método de extração DI-SPME como preparo de amostras;
- Coletar as frações MP<sub>2,5</sub> e PTS do material particulado da região do desastre de Brumadinho (2019), utilizando filtros de quartzo em amostradores de médio e grande volumes;
- Pesquisar marcadores de poluição atmosférica, utilizando uma abordagem quimiométrica;
- Discutir a toxicidade dos poluentes atmosféricos possivelmente encontrados.

## **3.3 Parte experimental**

### **3.3.1 Suprimentos e equipamentos**

Amostrador automático, Agilent Technologies GC Sampler 80 (Santa Clara, EUA); amostrador de grande volume PTS/CVV com kit de calibração, Energética (Rio de Janeiro, Brasil); amostrador de médio volume N-FRM equipado com ciclone de separação para MP<sub>2,5</sub>, Ara Instruments (Eugene, EUA); balança analítica, Mettler Toledo MS205DU/A, (Columbus, EUA); balança analítica, Shimadzu modelo AUW220D, (Quioto, Japão); dessecador em gabinete, Somar Dessec 10 (Rio de Janeiro, Brasil); fibras de DVB/CAR/PDMS, CAR/PDMS, PA e PDMS/DVB, Supelco Inc. (Bellefonte, EUA); filtro de fibra de quartzo retangulares (20,3 cm × 25,4 cm × 0,47 mm) para amostradores de grande volume, GE Whatman (Buckinghamshire, Inglaterra); filtro de fibra de quartzo circulares (47 mm) para amostradores de médio volume, GE Whatman (Buckinghamshire, Inglaterra); forno mufla, Quimis Q318M24 (Diadema, Brasil); frasco rosqueável de 20 mL para SPME, Filtrilo (Colombo, Brasil); *liner* SPME 5190-4048, Agilent Technologies (Santa Clara, EUA); micropipeta de 10,0 a 100,0 µL, Paguepet® (São Paulo, Brasil); micropipeta de 100,0 a 1000,0 µL, Paguepet® (São Paulo, Brasil); purificador de água Elga Veolia Purelab® Flex 3 (Paris, França).

### **3.3.2 Solventes e gases**

Acetonitrila, grau HPLC/UV, J. T. Baker (New Jersey, EUA), Água ultrapura (Elga/Veolia, Paris, França), Detergente neutro Extran® MA02, Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA), Gás hélio 99,999 %, Air Products (Belo Horizonte, Brasil).

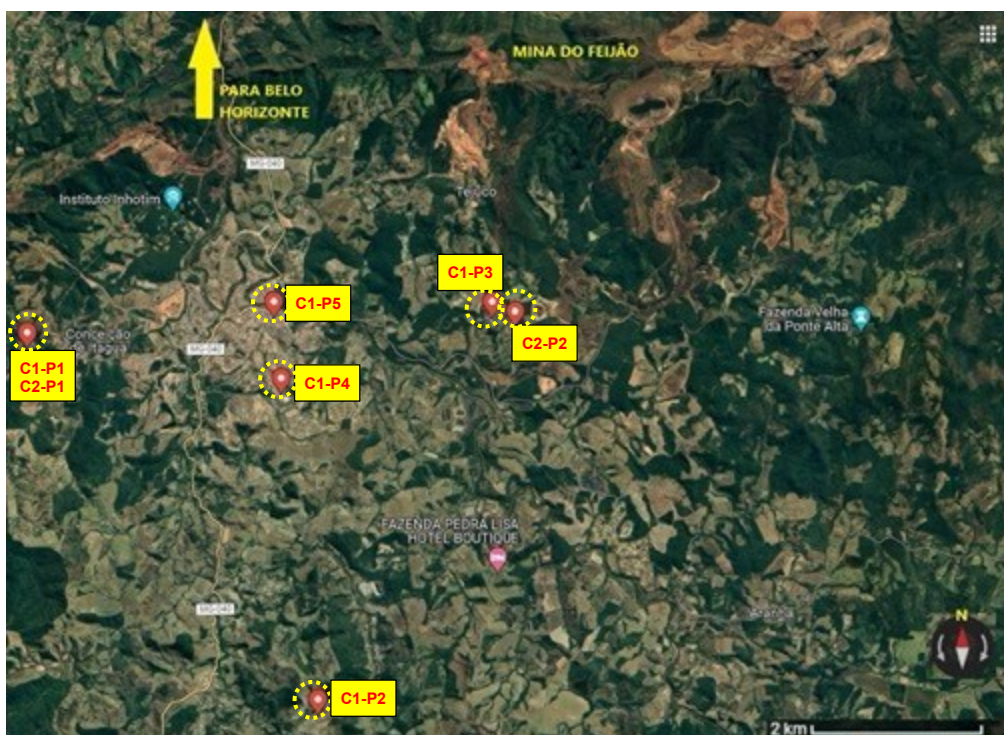
### **3.3.3 Amostragem**

As amostras foram coletadas em filtros de quartzo, na região de Brumadinho, em duas campanhas. Os filtros foram previamente calcinados em forno mufla, a 450 °C por 4 h (Dos Santos; Cardeal; Menezes, 2020; U.S. EPA, 1993). Esse pré-tratamento teve a função de remover os contaminantes orgânicos e reduzir a umidade dos filtros. Estes foram então armazenados em dessecador, contendo sílica gel, durante um período de 24 h. Em seguida, a massa dos filtros foi medida/registrada e estes foram envolvidos em papel alumínio, identificados e armazenados em dessecador até o dia da coleta.

A primeira campanha ocorreu nos meses de setembro e outubro de 2021, em cinco pontos de amostragem (C1-P1 a C1-P5). A segunda campanha foi realizada nos meses de abril e maio de 2022, em dois pontos de amostragem (C2-P1 e C2-P2). Os pontos de amostragem estão apresentados na Tabela 3.1 e o mapa de amostragem, na Figura 3.3.

**Tabela 3.1** - Pontos de coleta das duas campanhas de amostragem.

| Código        | Local de coleta      | Coordenadas geográficas |
|---------------|----------------------|-------------------------|
| C1-P1 e C2-P1 | GramVille Recepções  | –20.14885, –44.24770    |
| C1-P2         | Haras                | –20.21487, –44.19170    |
| C1-P3         | Comunidade do Tejuco | –20.14329, –44.15829    |
| C1-P4         | ETA Copasa           | –20.15708, –44.19869    |
| C1-P5         | Igreja São Sebastião | –20.14318, –44.20012    |
| C2-P2         | Comunidade do Tejuco | –20.14498, –44.15363    |



**Figura 3.3** - Mapa destacando os pontos de coleta (em amarelo) e a região da Mina do Feijão.

Os pontos de coleta foram definidos de acordo com as recomendações da Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (U.S. Environmental Protection Agency, U.S. EPA, 2007). Foram observados critérios que envolvessem fontes de emissão específicas, como avenidas e estradas, bem como a direção predominante dos ventos, a coerência com os locais onde a população exerce suas atividades e com a disponibilidade de energia elétrica para alimentação dos amostradores. Desse modo, os locais de coleta em área urbana (C1-P1/C2-P1, C1-P4 e C1-P5) abrangeram cerca de 85 % de área habitada, a direção predominante dos ventos, a proximidade de fontes específicas, como veículos e congêneres, área de rejeito e mineração.



As amostragens da primeira campanha ocorreram por sete dias consecutivos em cada um dos pontos, utilizando-se AGV (vazão média de 1,1 m<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>) para a coleta da fração PTS e AMV (vazão média de 17,0 L min<sup>-1</sup>) para a coleta de MP<sub>2,5</sub> (Figura 3.4). No primeiro dia de coleta, em cada ponto, foi feita uma calibração dos amostradores para garantir a linearidade da taxa de vazão volumétrica do ar amostrado. Os filtros foram trocados a cada 24 h, acondicionados em sacos plásticos herméticos e transportados em bolsa térmica refrigerada até o laboratório do CRA/DQ-UFMG (Centro de Referência Ambiental do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais). Foram feitos brancos de campo e instrumentais.

**a)**



**b)**



**Figura 3.4** - a) Amostrador do tipo AGV utilizado nas campanhas de amostragem de PTS região de Brumadinho. b) Amostrador do tipo AMV utilizado nas campanhas de amostragem de MP<sub>2,5</sub> na região de Brumadinho.

Após serem recebidos no CRA, os filtros foram mantidos em dessecador por 24 h. Após esse período, as massas dos filtros foram medidas e registradas. Em seguida, as amostras foram armazenadas a -10 °C até o momento das análises por GC×GC, que ocorreram no laboratório 169a da Rede Mineira de Cromatografia Avançada (RMCA/DQ-UFMG).

Na segunda campanha, a amostragem ocorreu por 15 dias consecutivos (24 h em cada ponto), seguindo os mesmos parâmetros da primeira campanha. As duas campanhas tiveram um ponto de amostragem em comum (C1-P1 e C2-P1). O segundo ponto da segunda campanha

(C2-P2) também se situou na comunidade do Tejuco (região próxima à barragem de rejeitos), porém a 700 m de C1-P2. Nesses locais, além das emissões veiculares e proximidade da barragem, ainda se levou em consideração a fonte de emissão por deposição seca<sup>20</sup> da atmosfera (Machado *et al.*, 2009).

### 3.3.4 Método de microextração em fase sólida por imersão direta

Para otimizar a extração por SPME, foram testadas as fibras DVB/CAR/PDMS, CAR/PDMS, PA e PDMS/DVB. Cada filtro contendo MP foi dividido em círculos de 6 mm de diâmetro, retirados de regiões homogeneamente distribuídas na superfície do filtro. Os 6 círculos de cada amostra foram colocados em frasco de vidro transparente (20,0 mL) ao qual foram adicionados 150,0 µL de acetonitrila e o volume completado para 20,0 mL com água ultrapura. Essa metodologia foi adaptada a partir dos trabalhos de dos Santos, Cardeal e Menezes (2020) e de Valenzuela, Menezes e Cardeal (2019). A água pura tem alta polaridade, o que dificultaria a solubilização dos compostos menos polares e, consequentemente, o equilíbrio de partição dos compostos entre o meio e a fibra de SPME. Por esta razão, a acetonitrila foi utilizada para modificar a polaridade do meio. Cada frasco conteve um tipo de amostra. Os frascos foram colocados em autoinjeter acoplado ao sistema GC×GC. A extração DI-SPME ocorreu por 45 min, sob agitação de 250 rpm e aquecimento a 70 °C. Em seguida, a fibra de SPME foi exposta no injetor por dois períodos de tempo, para a otimização da dessorção dos analitos: 7 e 3 min, ambos a 270 °C. Foi escolhido o período de exposição que apresentou os melhores resultados de separação cromatográfica.

### 3.3.5 Sistema cromatográfico

A análise *untarget* dos VOCs e agrotóxicos foi feita por GC×GC. O equipamento utilizado foi o mesmo do CAPÍTULO 2. Foi utilizado o software GC Image (versão 2.9r2 GC×GC-HRMS) para aquisição e tratamento dos diagramas de cores (cromatogramas bidimensionais). Utilizando a injeção direta de uma mistura padrão dos agrotóxicos da **Tabela 3.2**, na concentração final de 500,0 µg L<sup>-1</sup>, foram testados dois períodos de modulação ( $P_M = 6$  e 8 s), dois tempos de *splitless* (1 e 2 min) e dois tempos de exposição da fibra no injetor (3 e 7 min).

---

<sup>20</sup> Processo de remoção de poluentes da atmosfera pela absorção no solo, sem ocorrência de precipitação.

**Tabela 3.2** - Nome comum, número CAS, fórmula molecular, coeficiente de partição octanol-água (log  $K_{ow}$ ) e solubilidade em água de agrotóxicos selecionados (mais comumente usados no setor agrícola).

| Agrotóxico         | Número CAS  | Fórmula Molecular                                                                            | log $K_{ow}$ | Solubilidade em água (mg L <sup>-1</sup> ) |
|--------------------|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------------------------------|
| 4,4-DDD*           | 72-54-8     | C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>4</sub>                                              | 6,20         | 0,09                                       |
| 4,4-DDE*           | 72-55-9     | C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>                                               | 7,00         | 0,04                                       |
| Alacloro           | 15972-60-8  | C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>2</sub>                                            | 3,52         | 240,0                                      |
| Atrazina           | 1912-24-9   | C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub>                                              | 2,61         | 34,7                                       |
| Carfentrazona E.   | 128639-02-1 | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> | 4,00         | 12,0                                       |
| Clorpirifós        | 2921-88-2   | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS                            | 4,96         | 1,4                                        |
| Cresoxim metílico  | 143390-89-0 | C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>                                              | 4,10         | 2,0                                        |
| Diazinona          | 333-41-5    | C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS                             | 3,81         | 40,0                                       |
| Dieldrin           | 60-57-1     | C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O                                             | 3,70         | 0,2                                        |
| Dissulfotom        | 298-04-4    | C <sub>8</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>                                | 4,02         | 25,0                                       |
| Endossulfam        | 33213-65-9  | C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S                               | 3,80         | 0,3                                        |
| Endossulfam II     | 33213-65-9  | C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub> O <sub>3</sub> S                               | 3,80         | 0,3                                        |
| Endrin             | 200-775-7   | C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O                                             | 3,70         | 0,2                                        |
| Fentiona           | 55-38-9     | C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>                               | 4,09         | 2,0                                        |
| Forato             | 298-02-2    | C <sub>7</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>3</sub>                                | 3,56         | 50,0                                       |
| Fosmete            | 732-11-6    | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>                              | 2,80         | 25,0                                       |
| Hexaconazol        | 413-050-7   | C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O                             | 3,70         | 17,0                                       |
| Lindano            | 58-89-9     | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>                                                | 3,80         | 7,3                                        |
| Metoxicloro        | 72-43-5     | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>                               | 5,10         | 0,1                                        |
| Napropamida        | 15299-99-7  | C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>2</sub>                                              | 3,40         | 73,0                                       |
| Oxyfluorfen        | 42874-03-3  | C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>4</sub>                             | 4,70         | 0,1                                        |
| Pirimifós-metílico | 29232-93-7  | C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS                             | 4,12         | 5,0                                        |
| Procimidona        | 251-233-1   | C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>                              | 3,00         | 2,5                                        |
| Procloraz          | 67747-09-5  | C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>                | 4,60         | -                                          |
| Propazina          | 139-40-2    | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>5</sub>                                              | 2,93         | 8,6                                        |
| Triazofós          | 24017-47-8  | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS                             | 3,50         | 35,0                                       |
| Trifluralina       | 1582-09-8   | C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>                 | 5,34         | 18,4                                       |
| α-HCH*             | 58-89-9     | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>                                                | 3,80         | 7,3                                        |
| δ-BHC*             | 58-89-9     | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>                                                | 3,80         | 7,3                                        |

\*Banido desde a década de 1980, porém com resíduos ainda presentes no ambiente.

As condições otimizadas do método de separação estão descritas na seção 3.4.1 e a Figura A9 mostra uma imagem do sistema cromatográfico utilizado neste trabalho.

### 3.3.6 Identificação dos compostos

Utilizando o método GC×GC otimizado, foi analisada uma mistura-padrão de alcanos (C7 a C30), 100,0 µg L<sup>-1</sup>, para a confirmação da identificação dos compostos, por meio de

índice de retenção linear. O cálculo dos índices de retenção dos compostos foi feito conforme descrito no subtópico 2.3.9.

### **3.3.7 Análise quimiométrica**

Dois métodos de análise multivariada foram aplicados aos dados alinhados de intensidade de pico cromatográfico: um método não supervisionado (PCA) e um método supervisionado (PLS-DA). O tipo de pré-processamento escolhido foi a centralização na média. Os modelos foram construídos utilizando-se o *software* MATLAB R2023a em conjunto com PLS Toolbox 9.2.1.

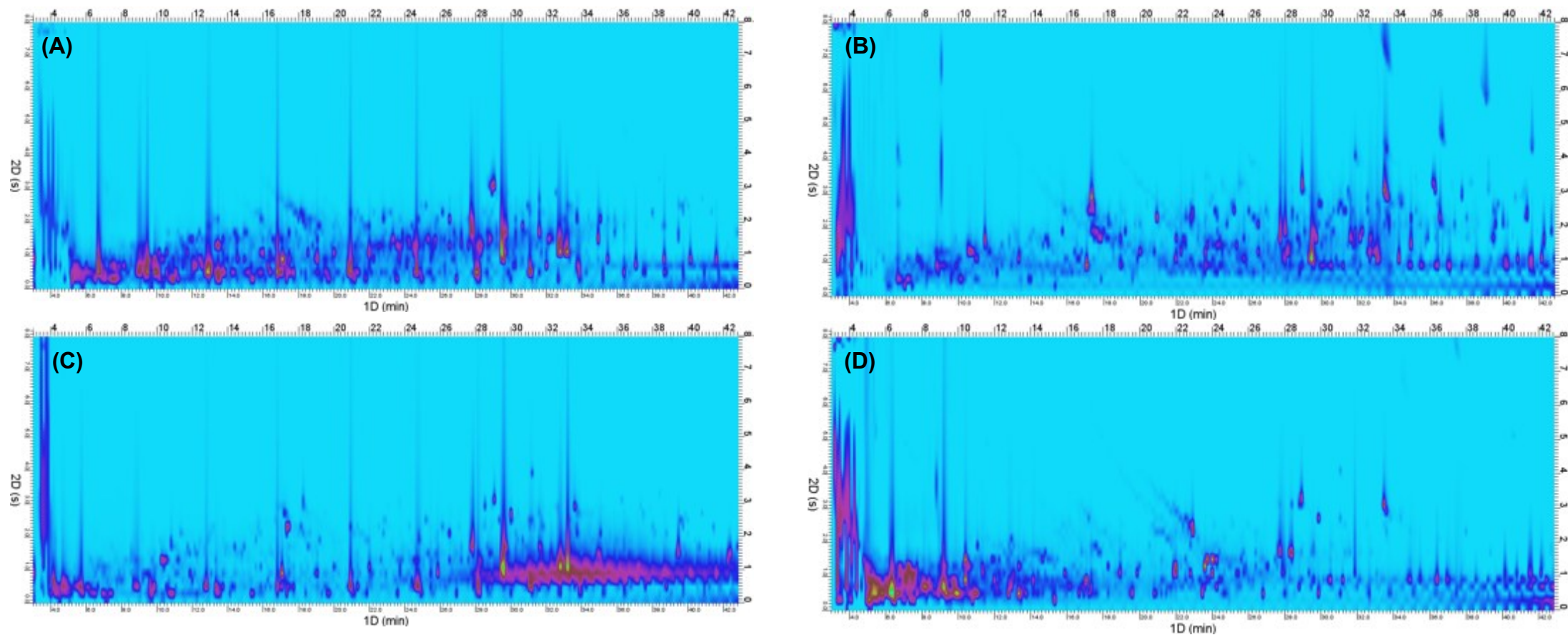
## **3.4 Resultados e discussão**

### **3.4.1 Otimização do método de separação por GC×GC e do procedimento de extração por SPME**

Os resultados da otimização de  $P_M$  estão apresentados na Figura A10. Os diagramas mostraram que  $P_M = 8$  s proporcionou uma separação um pouco mais eficiente (menor número de caudas na segunda dimensão e baixa ocorrência de coeluições). Dessa forma, foi escolhido  $P_M = 8$  s para os testes subsequentes e na análise de amostras reais.

O programa de aquecimento do forno foi baseado em modificações do método de análise *targeted* desenvolvido por Valenzuela, Menezes e Cardeal (2019), utilizando o mesmo jogo de colunas dos outros trabalhos desta tese. A temperatura inicial de 80 °C foi mantida por 3 min, aumentada para 280 °C (na taxa de 5 °C min<sup>-1</sup>), permanecendo nessa temperatura por 2 min. O gás de arraste utilizado foi He (1,0 mL min<sup>-1</sup>). Foi escolhido  $P_M = 8$  s, com tempo de jato quente (mantido fixo em 350 ms) e vazão de jato frio de 17,5 L min<sup>-1</sup>, a -80 °C. O tempo de *splitless* foi reduzido de 2 para 1 min, pois este permitiu menor ocorrência de coeluições dos compostos. O tempo de exposição da fibra de SPME no injetor também foi reduzido, de 7 min, proposto por dos Santos, Cardeal e Menezes (2020), para 3 min. A linha de transferência operou a 290 °C e a fonte de íons, a 200 °C. As condições do quadrupolo e do detector foram as mesmas do CAPÍTULO 2. O método otimizado foi aplicado na análise das amostras de PTS e MP<sub>2,5</sub>.

Para escolher a melhor fibra para extração de VOCs e agrotóxicos do MP foram testadas: DVB/CAR/PDMS, CAR/PDMS, PA e PDMS/DVB. Os testes foram feitos seguindo o método GC×GC aperfeiçoado, utilizando a amostra H-Q-PTS-P5-3 da Campanha 1. Os cromatogramas bidimensionais obtidos para cada teste estão apresentados na Figura 3.5.



**Figura 3.5** - Diagramas de cores obtidos como resultados dos testes de escolha da fibra de SPME, utilizando a amostra H-Q-PTS-P5-3. (A) Fibra de DVB/CAR/PDMS. (B) Fibra de PA. (C) Fibra de PDMS/DVB. (D) Fibra de CAR/PDMS. Não foi observado efeito memória, com base em cromatogramas de brancos das fibras.

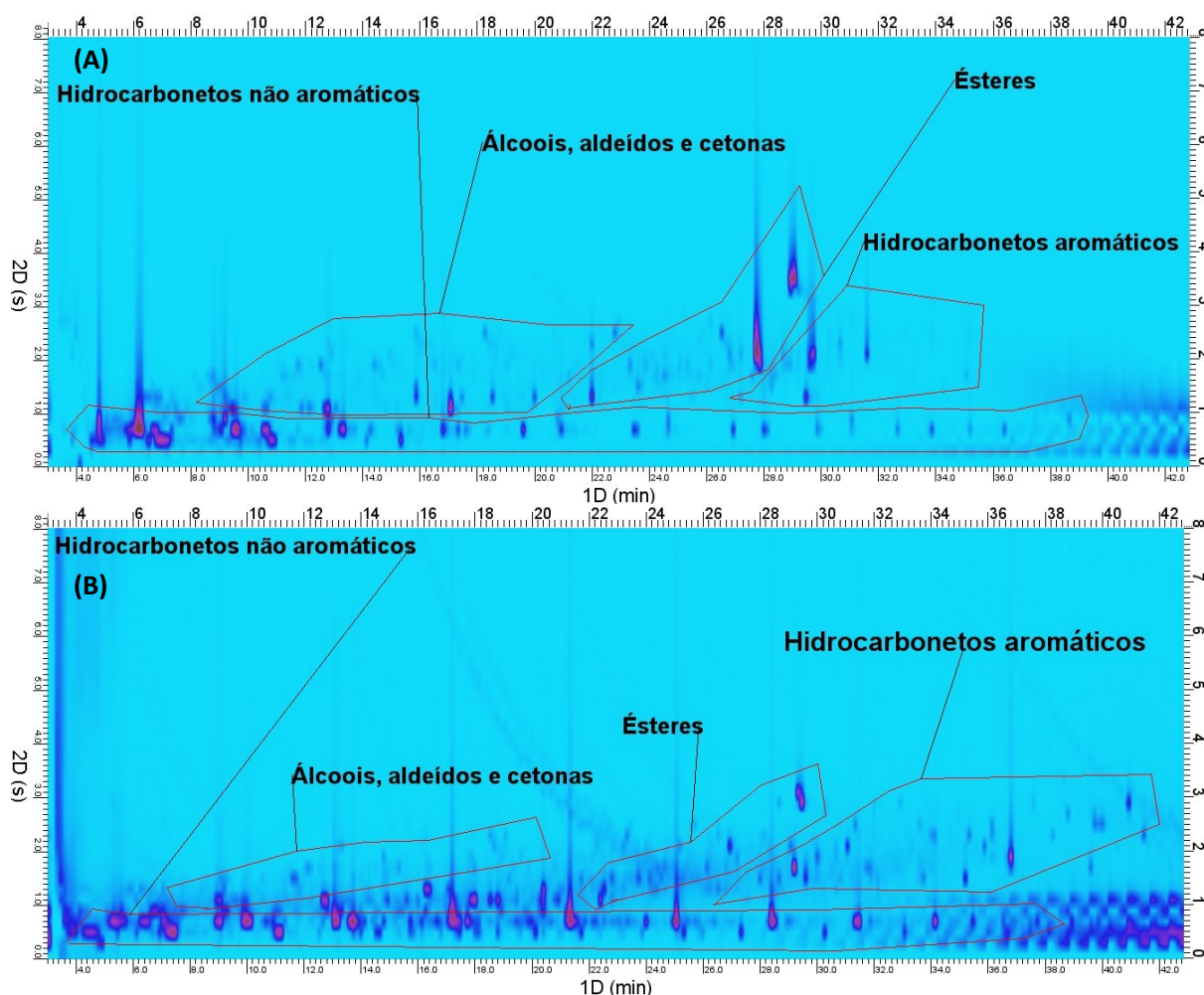
As fibras que apresentaram os melhores resultados de extração (maior quantidade de compostos detectados e que possibilitaram melhor separação cromatográfica) foram DVB/CAR/PDMS e PA. A fibra de DVB/CAR/PDMS foi escolhida para as análises de amostras reais de PTS e MP<sub>2,5</sub>, pois sua fase apresenta polaridade intermediária, o que é importante para a separação das diversas classes químicas das moléculas dos VOCs e agrotóxicos. Na Figura A11 são mostrados dois diagramas de amostras reais, um para PTS e outro para MP<sub>2,5</sub>.

### 3.4.2 Identificação dos compostos

Os espectros de massas obtidos para os compostos foram comparados com os espectros da biblioteca NIST 17. A tentativa de identificação foi feita por índices de retenção da série homóloga de alcanos C7-C30, com o cálculo dos índices de retenção de Kratz. Em seguida foi feita a pesquisa dos índices calculados na literatura, considerando um fator de *match* da biblioteca maior do que 750 e erro de índice de retenção menor do que 5 % (em módulo). Utilizando essa metodologia, foram identificados 382 compostos nas campanhas de amostragem 1 e 2 (APÊNDICE 2 –).

A Figura 3.6 mostra que as análises ortogonais das amostras possibilitaram a estruturação dos compostos em diversas classes no MP, tais como HPAs (hidrocarbonetos policíclicos aromáticos), hidrocarbonetos não aromáticos, ésteres, cetonas, aldeídos etc. No APÊNDICE 2 –, encontram-se as tabelas que mostram os compostos identificados em todos os pontos das campanhas de amostragem de MP. Esses compostos não foram encontrados nos brancos de campo e do método de análise.



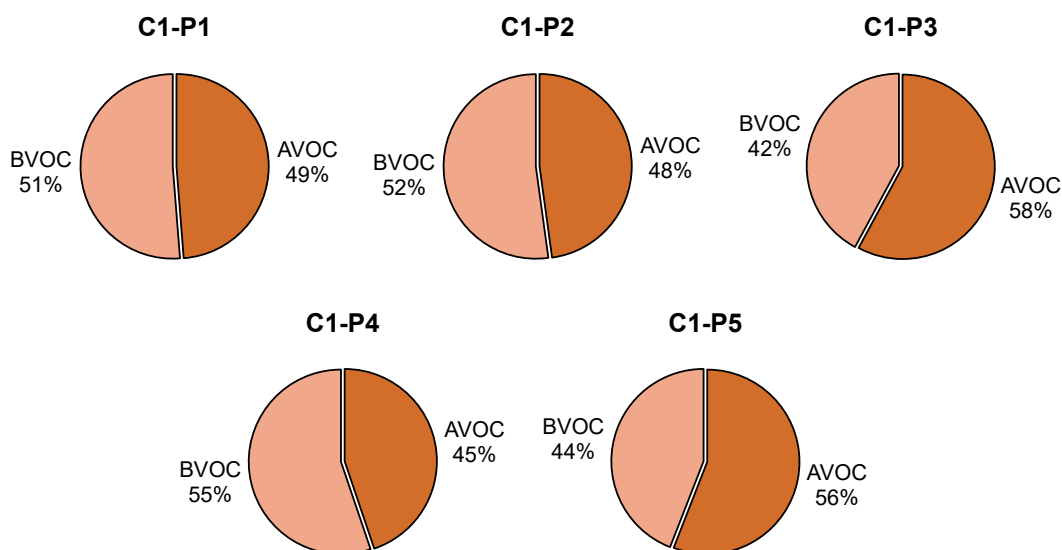


**Figura 3.6** - Diagrama de cores de amostras de MP. (A) H-Q-PTS-P2-1 (Campanha 1). (B) A-Q-PM2,5-P2-8 (Campanha 2) mostrando as principais classes de compostos identificados.

Os compostos identificados foram separados em dois grupos: compostos orgânicos voláteis biogênicos (BVOCs) e compostos orgânicos voláteis antropogênicos (AVOCs). Os BVOCs são emitidos a partir de fontes naturais, como atividades vulcânicas, vegetação, solo (pela ação de microrganismos) e queima de biomassa (incêndios florestais não intencionais). Os AVOCs são emitidos principalmente na queima de combustíveis fósseis e pelas indústrias de processamento do petróleo (Manahan, 2001; Steinbrecher *et al.*, 2009).

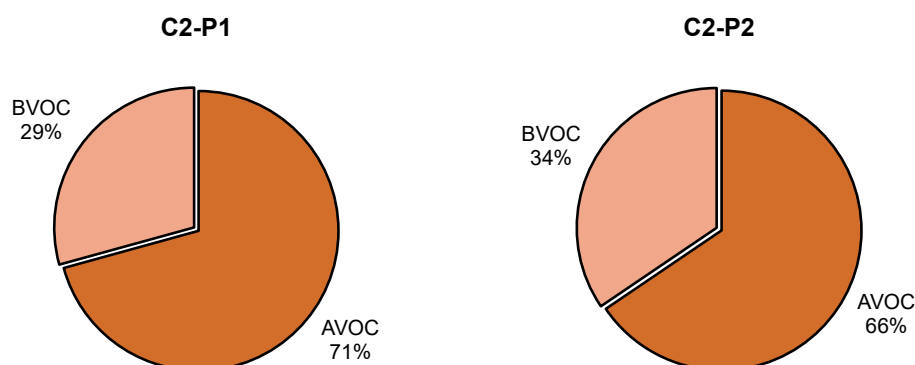
Os valores mostraram que, para os pontos da campanha 1, aproximadamente metade dos compostos são de origem antropogênica e metade, biogênica (Figura 3.7). Os pontos de amostragem da campanha 1 que apresentaram maior quantidade de AVOCs foram P3 (58 %) e P5 (56 %).





**Figura 3.7** - Distribuição dos VOCs por ponto de amostragem da campanha 1.

A Figura 3.8 mostra que houve predominância dos AVOCs nos dois pontos de amostragem da campanha 2, com destaque para o ponto P1 (71 %).



**Figura 3.8** - Distribuição dos VOCs por ponto de amostragem da campanha 2.

Dentre os AVOCs e agrotóxicos identificados, os seguintes compostos mereceram atenção especial, devido à sua elevada toxicidade para humanos: antraceno; benzo[*a*]antraceno; criseno; 9*H*-fluoren-9-ona; 9,10-antracenediona; diazinon; lindano; pentaclorobenzeno; 2,4-di-*tert*-butilfenol e tolueno. A Tabela 3.3 mostra a distribuição desses compostos por ponto de amostragem e por tipo de filtro amostrado.

**Tabela 3.3** - Compostos de elevada toxicidade para humanos e sua distribuição por pontos de amostragem.

| Composto               | Campanha 1 |         |         |         |         | Campanha 2 |         |
|------------------------|------------|---------|---------|---------|---------|------------|---------|
|                        | Ponto 1    | Ponto 2 | Ponto 3 | Ponto 4 | Ponto 5 | Ponto 1    | Ponto 2 |
| 2,4-di-tert-butilfenol |            |         |         |         |         |            | ⊙       |
| 9,10-antracenediona    |            |         |         |         |         | ⊠          | ⊠       |
| 9H-fluoren-9-ona       | ⊠          | ⊠       | ⊠       | ⊠       | ⊠       | ⊠          | ⊗       |
| Antraceno              | ⊠          | ⊠       | ⊠       | ⊠       | ⊠       |            | ⊗       |
| Benzo[a]antraceno      |            |         |         |         |         |            | ⊙       |
| Criseno                |            |         |         |         | ⊠       |            | ⊠       |
| Diazinon               |            |         |         |         |         | ⊗          |         |
| Lindano                | ⊠          |         | ⊠       |         |         |            |         |
| Pentaclorobenzeno      |            |         |         |         |         |            | ⊙       |
| Tolueno                |            |         |         | ⊠       | ⊠       |            |         |

LEGENDA:

⊙ = encontrado em PTS

⊗ = encontrado em MP<sub>2,5</sub>

⊠ = encontrado em PTS e MP<sub>2,5</sub>

Antraceno, benzo[a]antraceno e criseno são HPAs. Esses compostos são formados na combustão incompleta de matéria orgânica e emitidos principalmente a partir da queima de combustíveis fósseis e de atividades industriais (Buczyńska et al., 2013). HPAs são produzidos também a partir de fontes naturais, como erupções vulcânicas e incêndios florestais não intencionais, porém estas são contribuições de menor importância para a poluição atmosférica (Srogi, 2007). 9H-fluoren-9-ona e 9,10-antracenediona são derivados de HPAs conhecidos como oxi-HPAs (HPAs oxigenados), que são formados na atmosfera através de reações de HPAs com radicais hidroxila, nitrato, dentre outros e ozônio ou pela foto-oxidação de HPAs (Andreou; Rapsomanikis, 2009). Tanto os HPAs como os oxi-HPAs acima citados apresentam potencial atividade carcinogênica/mutagênica para humanos (Pedersen *et al.*, 2004).

O tolueno é um solvente aromático altamente tóxico, presente em combustíveis automotivos e de aviação. Também é utilizado na fabricação de tintas, esmaltes, borracha, curtimento de couro e em várias aplicações industriais (Pubchem, 2022).

Lindano é um agrotóxico organoclorado, um poluente orgânico persistente (POP) largamente usado em frutas, vegetais e culturas florestais. A exposição por inalação desse composto causa severa irritação, anemia, afeta o fígado e os sistemas nervoso, cardiovascular

e imunológico (Pubchem, 2022). Esse composto é classificado como carcinogênico para humanos (Grupo 1) pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (Loomis *et al.*, 2015).

Outro POP identificado foi o pentaclorobenzeno (PeCB), um poluente organoclorado que, assim como o lindano, teve sua produção e utilização banidas em 2009 pela Convenção de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes. O PeCB era adicionado às bifenilas policloradas (PCBs: *polychlorinated biphenyls*), como redutor de viscosidade. Dessa forma, enormes quantidades de PeCB são encontradas em equipamentos eletrônicos antigos. Outra fonte de liberação significativa do composto no meio ambiente são as misturas de agrotóxicos organoclorados que contêm PeCB como componente (Madaj; Sobiecka; Kalinowska, 2018).

O composto 2,4-di-*tert*-butilfenol também é um POP, um alquil fenol produzido em atividades industriais e amplamente utilizado como agrotóxico. Pode ser encontrado em lixiviados, efluentes agrícolas, na água e em sedimentos. Estudos relataram o efeito de desregulação endócrina apresentado pelos alquil fenóis, responsáveis por danos ao fígado, aos rins, olhos e músculos (Aziz; Agamuthu; Fauziah, 2018).

### 3.4.3 Análise quimiométrica das amostras ambientais coletadas em Brumadinho

Métodos quimiométricos, como PCA e PLS-DA, são ferramentas muito utilizadas na identificação de compostos responsáveis pela discriminação de amostras. A aplicação desses métodos aos dados de MP<sub>2,5</sub> e PTS possibilitaram a descoberta de marcadores de poluição atmosférica. Estes, por sua vez, podem ser aplicados em estudos de toxicologia ambiental.

Modelos quimiométricos foram construídos para três conjuntos de dados: amostras das campanhas 1 e 2 juntas (C1 + C2), apenas da campanha 1 (C1) e apenas da campanha 2 (C2). O método PCA foi aplicado ao conjunto C1 + C2 como análise exploratória dos dados, com o objetivo de verificar se houve diferença estatística entre as amostras das duas campanhas. Como foi observada perfeita separação das amostras em dois grupos (C1 e C2), foi feita a construção de modelos PCA e PLS-DA com os dados de C1 e C2, separadamente. Essa abordagem direcionada permitiu identificar compostos que diferenciaram as amostras de PTS e MP<sub>2,5</sub> em cada uma das duas campanhas. Esses compostos podem funcionar como marcadores da poluição associada a cada um dos tipos de MP. Além disso, como C1 ocorreu no final do

período seco de 2021 e C2, no início do período seco de 2022, os marcadores encontrados podem sinalizar poluição sazonal por MP.

Os dados utilizados na construção dos modelos foram as intensidades de pico cromatográfico dos compostos identificados nas amostras. Os cromatogramas bidimensionais foram adquiridos e processados no software GC Image (versão 2.9r1 GC×GC). Foi feita inicialmente a correção de linha de base de todos os diagramas usando os seguintes parâmetros: *MS data channel = median-mean*, *deadband datapoints = 5*, *distribution = 7*, *filter windown size = 7* e *stride per modulation cycle = 1*. Em seguida, todos os diagramas foram alinhados pelos espectros de massas e pelos tempos de retenção  $^1t_R$  e  $^2t_R$ , com  $\Delta^1t_R$  %RSD < 3,03 % e  $\Delta^2t_R$  %RSD < 4,84 %. Um total de 268 compostos alinhados (comuns a todos os pontos de amostragem das duas campanhas) foi usado na construção dos modelos quimiométricos; nesse conjunto, foram identificados 1,38 % de dados faltantes. A utilização dos 382 compostos totais identificados nas amostras implicaria em um elevado número de dados faltantes, o que prejudicaria a qualidade dos modelos.

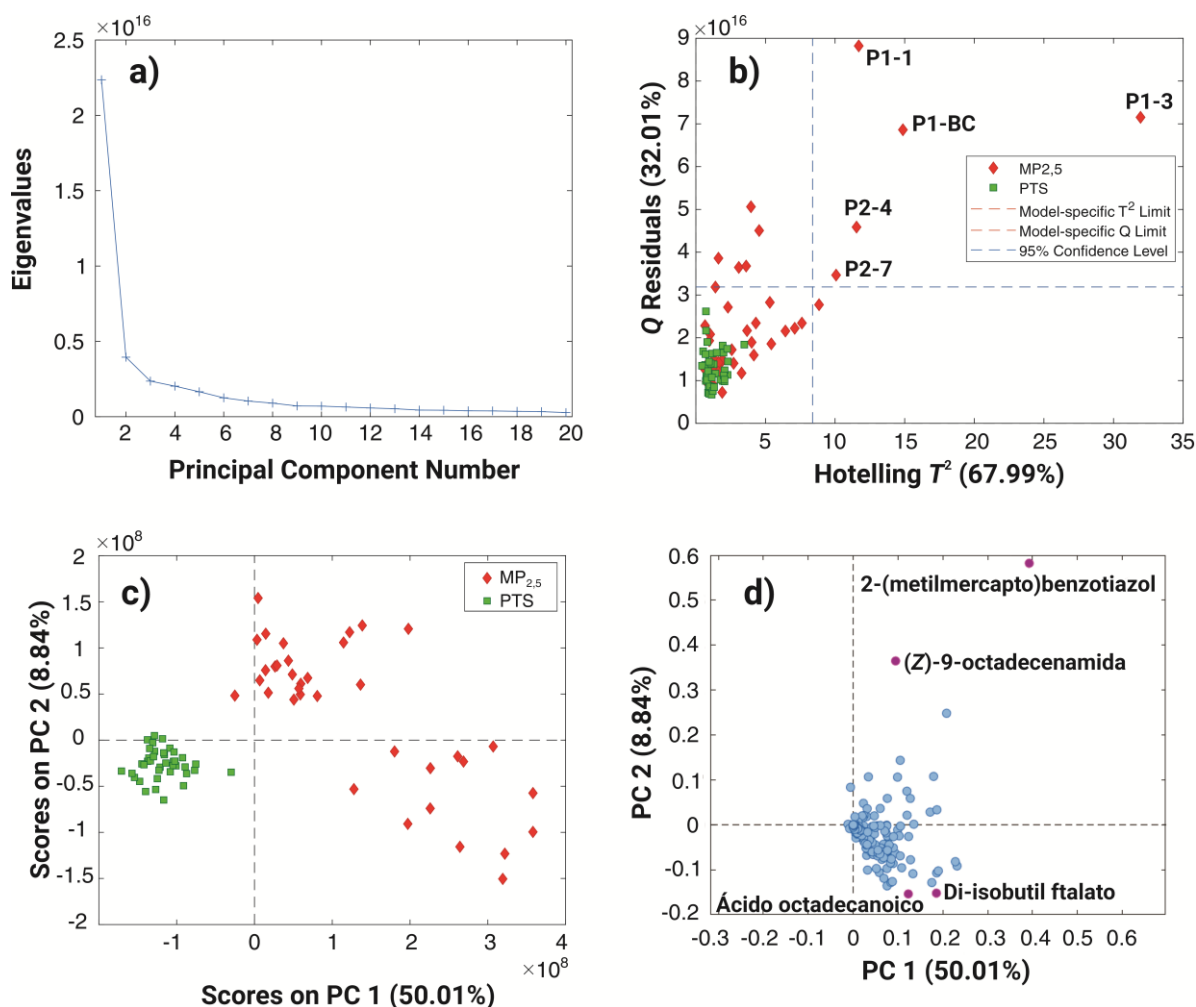
Os três conjuntos de dados foram analisados no software MATLAB em conjunto com a ferramenta PLS Toolbox. Os valores faltantes foram substituídos pela média da linha da respectiva amostra e o tipo de pré-processamento escolhido para todos os conjuntos foi a centralização na média. Para os modelos PLS-DA, a seleção dos subconjuntos de calibração e validação foi feita por meio do algoritmo Kennard-Stone, que selecionou 2/3 das amostras para o conjunto de calibração e 1/3 para o de validação. O tipo de validação cruzada utilizado foi o *venetian blinds* (com 10 divisões).

#### 3.4.3.1 Modelo PCA das amostras de MP coletadas nas campanhas 1 e 2 (C1 + C2)

Inicialmente, foi construído um modelo PCA com os dados de todas as amostras coletadas nas campanhas, organizados na matriz 145 amostras × 268 compostos. O modelo foi construído com 3 PCs, conforme indicou a análise do gráfico de autovalores. O modelo explicou 62,96 % da variância e a PC 2 foi responsável pela discriminação das amostras em dois grupos: amostras de C1 no lado negativo e amostras de C2 no lado positivo (Figura A12). A análise dos *loadings* de PC 2 permitiu relacionar os compostos difenil sulfona e 2-(metilmercapto)benzotiazol (*loadings* mais negativos) à Campanha 1 e 2-hexil-1-decanol e hexadecanonitrila (*loadings* mais positivos) à Campanha 2.

### 3.4.3.2 Análise quimiométrica das amostras de MP coletadas na campanha 1 (C1)

Foram escolhidas duas componentes principais para o modelo PCA aplicado à matriz de dados C1 (80 amostras × 268 compostos), de acordo com o gráfico de *eigenvalues* (Figura 3.9a). O modelo foi capaz de explicar 58,84 % da variância. Analisando o gráfico de resíduos  $Q \times \text{Hotelling } T^2$ , foi possível detectar algumas amostras com elevados valores de resíduos  $Q$  e Hotelling  $T^2$  (rotuladas na Figura 3.9b). Essas amostras foram consideradas como *outliers* e retiradas do modelo. De acordo com o gráfico de *scores* (Figura 3.9c), houve separação entre as amostras de MP<sub>2,5</sub> e de PTS ao longo de PC 1, que explicou 50,01 % da variância. As amostras de MP<sub>2,5</sub> se situaram na parte positiva de PC 1, com uma alta dispersão observada. As amostras de PTS se localizaram na parte negativa de PC 1 e mostraram valores de *scores* mais próximos. A dispersão observada em MP<sub>2,5</sub> indicou que as amostras são diferentes entre si, mesmo pertencentes ao mesmo tipo de MP, sugerindo uma composição química heterogênea. Os *scores* mais próximos em PTS indicaram maior similaridade química entre as amostras dessa fração de MP do que entre as de MP<sub>2,5</sub>. A PC 2 separou as amostras de PTS no lado negativo. No lado positivo de PC 2, situou-se um subgrupo das amostras de MP<sub>2,5</sub> formado pelas amostras dos pontos P4 e P5.

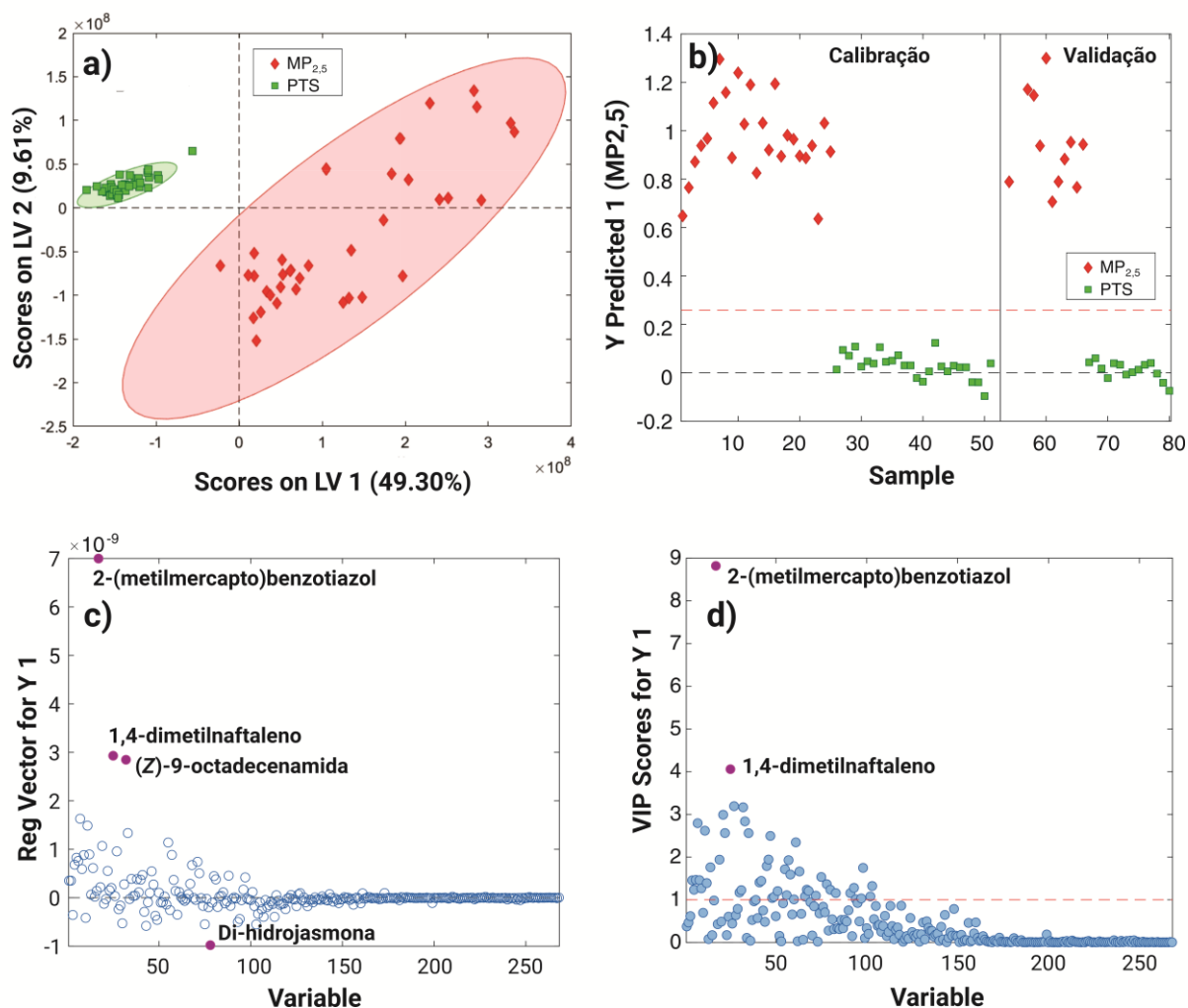


**Figura 3.9** - Modelo PCA construído com os dados do conjunto C1 centrados na média ( $n = 80$ ): a) autovalores em função do número de componentes principais, b) amostras anômalas (*outliers*) indicadas por valores elevados de resíduos  $Q$  e Hotelling  $T^2$ , c) *scores* de PC 1  $\times$  PC 2 e d) *loadings* de PC 1  $\times$  PC 2.

Os *loadings* responsáveis pela discriminação observada tanto em PC 1 como em PC 2 estão destacados na Figura 3.9d. O *loading* mais positivo de PC 1 foi associado ao composto responsável pela separação das amostras de MP<sub>2,5</sub>: o 2-(metilmercapto)benzotiazol. Esse resultado está de acordo com o apresentado no modelo PCA do subtópico anterior, em que 2-(metilmercapto)benzotiazol separou as amostras de C1. Analisando os *loadings* de PC 2, diisobutil ftalato e ácido octadecanoico (os *loadings* mais negativos) foram os compostos responsáveis pela separação de PTS.

Para a construção do modelo PLS-DA, as amostras de C1 foram divididas em 40 amostras de MP<sub>2,5</sub> e 40 de PTS. Com base no menor erro de classificação da validação cruzada, foram escolhidas 2 LVs para a construção do modelo. O modelo de regressão explicou 93,92 %

da variância em Y, 58,91 % da variância em X e adequada capacidade preditiva ( $R^2 = 0,9347$ ). A informação contida em LV 1 foi responsável pela distinção entre amostras de MP<sub>2,5</sub>, classificadas no lado positivo, e PTS, no lado negativo (Figura 3.10a). Nenhuma amostra foi incorretamente classificada (Figura 3.10b), o que forneceu sensibilidade e especificidade iguais a 1,000 para os subconjuntos de calibração e validação cruzada de cada classe. Através dos vetores informativos (vetores de regressão e *VIP scores*), foi possível indicar os compostos responsáveis pela discriminação observada. Os compostos que caracterizaram a classe MP<sub>2,5</sub> (vetores de regressão mais positivos) foram o 2-(metilmercapto)benzotiazol, o 1,4-dimetilnaftaleno e a (Z)-9-octadecenamida. A di-hidrojasmona (vetor de regressão mais negativo) caracterizou a classe PTS (Figura 3.10c). Os compostos com maiores *VIP scores*, 2-(metilmercapto)benzotiazol e 1,4-dimetilnaftaleno, foram os mais importantes na discriminação das amostras entre MP<sub>2,5</sub> e PTS (Figura 3.10d). Associando esses resultados com aquele do PCA do subtópico anterior, é possível afirmar que um composto associado ao MP<sub>2,5</sub>, o 2-(metilmercapto)benzotiazol, caracterizou a Campanha 1.



**Figura 3.10** - Modelo PLS-DA construído com os dados do conjunto C1 centrados na média ( $n_{MP_{2,5}} = 40$ ,  $n_{PTS} = 40$ ): a) scores de LV 1  $\times$  LV 2 com as elipses de confiança delimitando as classes MP<sub>2,5</sub> e PTS (limite de confiança de 95 %), b) valores do limite de discriminação das classes (linha pontilhada vermelha) e de Y predito para os subconjuntos de calibração e validação, c) vetores de regressão e d) VIP scores.

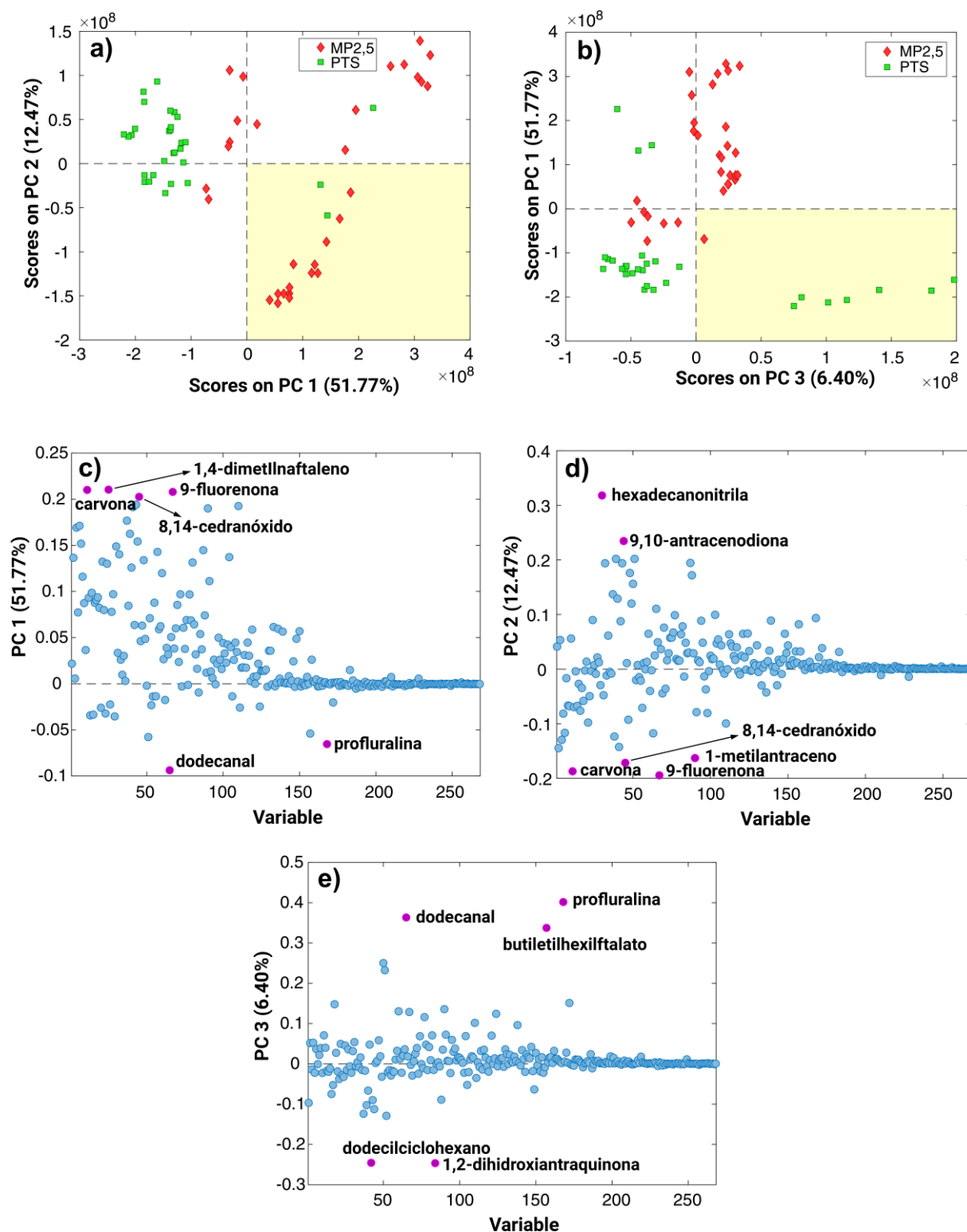
Para avaliar se o modelo PLS-DA apresentou *overfitting*, foi aplicado o teste de permutação aos dados, considerando 50 permutações, avaliado por meio de três testes estatísticos (Wilcoxon, Sign e teste-*t* randomizado). Os resultados (Tabela A11) mostraram que o modelo não apresentou sobreajuste, pois os resíduos dos dados permutados foram significativamente diferentes dos resíduos dos dados não permutados ( $p < 0,05$ ). Além disso, os gráficos de soma quadrática (*sum squared*, SSQ) do bloco Y (Figura A13) mostraram que os dados não permutados (à direita) estiveram suficientemente distantes dos dados permutados (à esquerda), confirmando que o modelo não foi sobreajustado.



De acordo com as curvas ROC (Figura A14), o modelo apresentou alto desempenho de classificação das amostras de MP<sub>2,5</sub> e PTS (AUROC = 1,0000 para as duas classes). Assim, foi possível sugerir alguns marcadores de poluição atmosférica por MP em C1, com base nos VIP *scores*: 2-(metilmercapto)benzotiazol, 1,4-dimetilnaftaleno, (Z)-9-octadecenamida (MP<sub>2,5</sub>) e di-hidrojasmona (PTS). 1,4-dimetilnaftaleno pode ser classificado apenas como marcador de poluição por MP<sub>2,5</sub> e não como marcador de poluição por estação do ano, pois esse composto também foi marcador de MP<sub>2,5</sub> em C2. Assim, os marcadores que caracterizaram a poluição por MP relacionada ao final de período seco foram 2-(metilmercapto)benzotiazol, (Z)-9-octadecenamida e di-hidrojasmona.

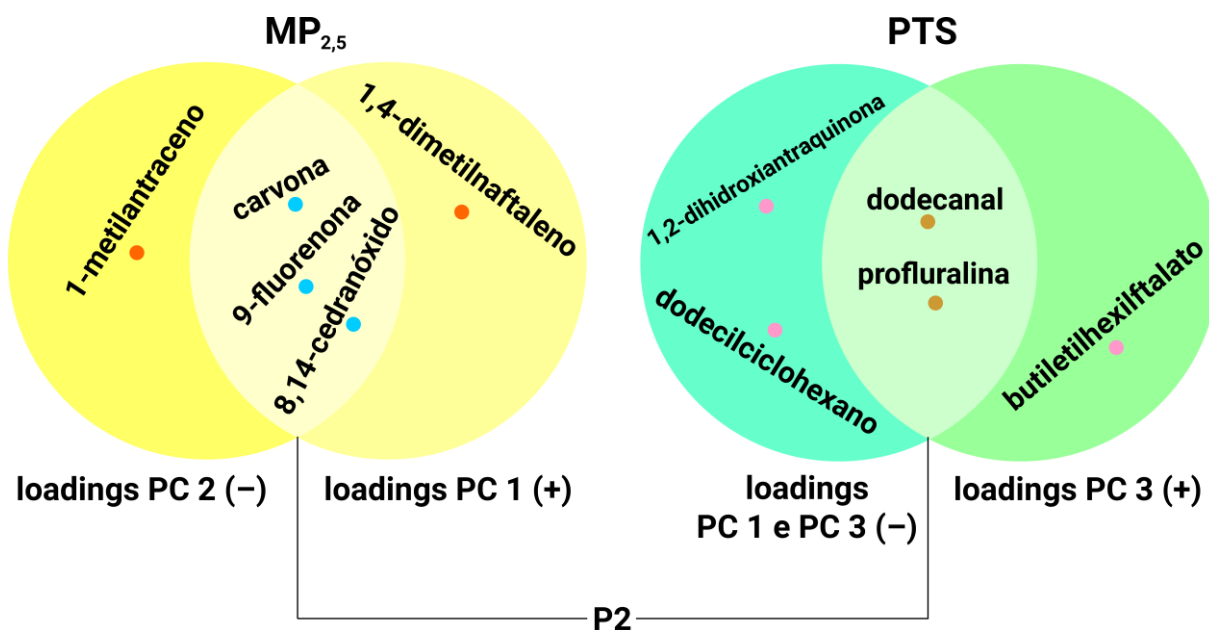
#### 3.4.3.3 Análise quimiométrica das amostras de MP coletadas na campanha 2 (C2)

O modelo PCA para a matriz de dados C2 (65 amostras × 268 compostos) foi construído com 3 PCs, que explicaram 70,64 % da variância. As amostras de MP<sub>2,5</sub> foram separadas, em sua maioria, na parte positiva de PC 1 (Figura 3.11a).



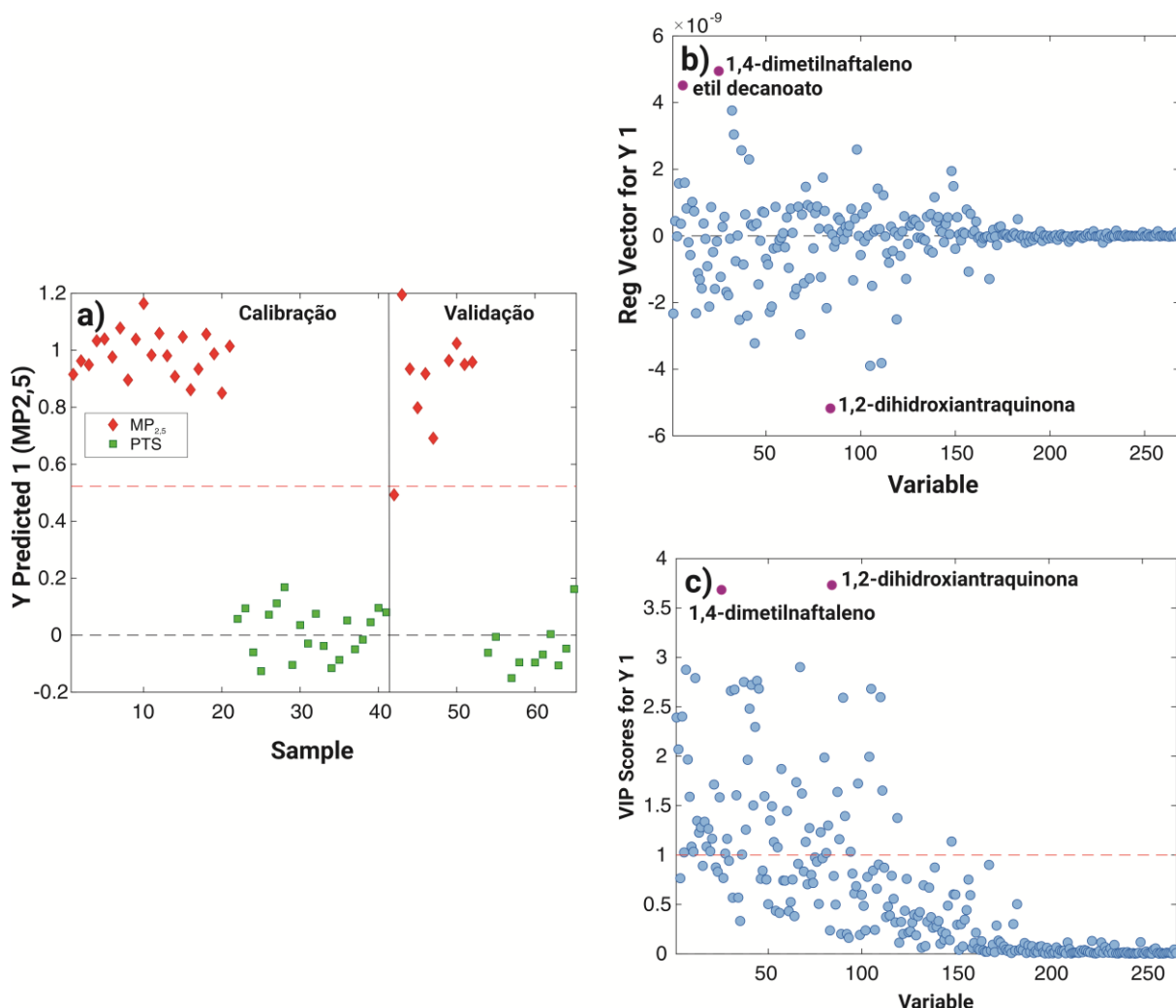
**Figura 3.11** - Modelo PCA construído com os dados do conjunto C2 centrados na média ( $n = 65$ ): a) *scores* de PC 1 × PC 2 (quadrante amarelo: amostras MP<sub>2,5</sub>-P2) e b) PC 1 × PC 3 (quadrante amarelo: amostras PTS-P2), c) *loadings* de PC 1, d) PC 2 e e) PC 3.

A maior parte das amostras de PTS se situaram no lado negativo de PC 1, com apenas três amostras separadas no lado positivo da PC (Figura 3.11a). Assim, PC 1 foi responsável pela discriminação das amostras de MP<sub>2,5</sub> e PTS. A segunda componente mais importante, em termos de variância, PC 2, separou o subconjunto de amostras MP<sub>2,5</sub>-P2 no lado negativo (Figura 3.11a) e a maior parte das amostras de PTS no lado positivo. Embora de menor importância em termos de variância, PC 3 separou algumas amostras PTS-P2 no lado positivo (Figura 3.11b) e o restante (a maioria) das amostras de PTS no lado negativo. Os compostos que influenciaram a separação de MP<sub>2,5</sub> (*loadings* mais positivos de PC 1) foram carvona, 1,4-dimetilnaftaleno, 8,14-cedranóxido e 9-fluorenona (Figura 3.11c). Já os compostos que influenciaram a discriminação da maioria das amostras de PTS (*loadings* mais negativos de PC 1 e de PC 3) foram dodecanal, profluralina, dodecilciclohexano e 1,2-dihidroxiantraquinona (Figura 3.11c,e). O ponto P2 se destacou na separação das amostras, como mostraram os gráficos de *scores* (quadrantes amarelos na Figura 3.11a,b). Os compostos associados a essa separação foram carvona, 9-fluorenona, 1-metilantraceno e 8,14-cedranóxido para MP<sub>2,5</sub> (Figura 3.11d) e dodecanal, butiletilhexilftalato e profluralina para PTS (Figura 3.11e). Os compostos hexadecanotrila e 9-10 antracenodiona (*loadings* mais positivos de PC 2) também foram relacionados ao PTS (Figura 3.11d). Esse resultado confirmou o modelo PCA do subtópico 3.4.3.1, que indicou o composto hexadecanotrila como o responsável pela separação das amostras de C2. Os resultados em conjunto mostraram que um composto associado ao PTS (hexadecanotrila) caracterizou a Campanha 2. Alguns dos compostos acima também influenciaram a separação global dos conjuntos MP<sub>2,5</sub> e PTS. A Figura 3.12 mostra os compostos responsáveis pela separação de amostras pertencentes exclusivamente ao ponto P2.



**Figura 3.12** - Diagramas de Venn mostrando os compostos responsáveis pela separação das amostras de MP<sub>2,5</sub> (●) e PTS (●) do ponto P2 (interseções), bem como os compostos responsáveis pela discriminação global de amostras de MP<sub>2,5</sub> (●) e PTS (●).

Para a construção do modelo PLS-DA, as 65 amostras foram divididas em 32 amostras para a classe MP<sub>2,5</sub> e 33 amostras para a classe PTS. O modelo construído com 4 LVs foi capaz de explicar 97,40 % da variância em Y e 70,77 % da variância em X. As classes foram adequadamente modeladas, com todas as amostras do conjunto de calibração corretamente classificadas. Apenas uma amostra de MP<sub>2,5</sub> do conjunto de validação foi incorretamente classificada (Figura 3.13a).



**Figura 3.13** - Modelo PLS-DA construído com os dados do conjunto C2 centrados na média ( $n_{MP_{2,5}} = 32$ ,  $n_{PTS} = 33$ ): a) valores do limite de discriminação das classes (linha pontilhada vermelha) e de Y predito para os subconjuntos de calibração e validação, b) vetores de regressão e c) VIP scores.

O modelo apresentou excelentes valores de sensibilidade e especificidade (Tabela A12), além de previsão adequada ( $R^2 = 0,9167$ ). Os compostos que caracterizaram a classe MP<sub>2,5</sub> (vetores de regressão mais positivos) foram 1,4-dimetilnaftaleno e etil decanoato. O composto que caracterizou PTS (vetor de regressão mais negativo) foi 1,2-dihidroxiantraquinona (Figura 3.13b). De acordo com o gráfico de VIP scores (Figura 3.13c), esses dois compostos também foram os mais importantes (maiores VIP scores) na classificação das amostras. O modelo não apresentou sobreajuste, de acordo com o teste de permutações ( $n = 50$ ), cujo resultado gráfico está mostrado na Figura A15. Os testes estatísticos (Wilcoxon, Sign e teste- $t$  randomizado) também não mostraram sobreajuste ( $p < 0,05$ ). Também foi observado alto desempenho de classificação, de acordo com a análise das curvas ROC (Figura A16). Assim, os marcadores

que caracterizaram a poluição por MP relacionada ao início de período seco foram etil decanoato (por MP<sub>2,5</sub>) e 1,2-dihidroxiantraquinona (por PTS).

#### 3.4.4 Marcadores de poluição atmosférica

Os modelos quimiométricos mostraram que o MP apresentou diversos compostos candidatos a marcadores de poluição atmosférica. Como o método PLS-DA é supervisionado, os compostos destacados por ele foram selecionados como potenciais marcadores. Os marcadores que caracterizaram o final de período seco (C1) foram: 2-(metilmercaptop)benzotiazol (MTBT), (Z)-9-octadecenamida (relacionados ao MP<sub>2,5</sub>) e di-hidrojasmona (relacionado ao PTS). O MTBT, um AVOC, é proveniente de metil tioéter do 2-mercaptopbenzotiazol (MBT), o qual é um composto carcinogênico para humanos. Os benzotiazóis são utilizados, principalmente, na indústria farmacêutica, de inibidores de corrosão e de detergentes. São considerados poluentes emergentes e já foram encontrados em material particulado proveniente de pneus de carros e em efluentes (Salinas *et al.*, 2017). A identificação de MTBT em MP<sub>2,5</sub> pode ter origem em prováveis reações de MBT na atmosfera. MTBT é irritante para pele, olhos e sistema respiratório, e sua detecção está associada à presença de MBT no ar, cujas consequências para a saúde humana são severas. Além de carcinogênico, MBT é alergênico (PubChem, 2024).

A (Z)-9-octadecenamida (ou oleamida) é uma alquilamida derivada do ácido oleico. É um metabólito (BVOC) encontrado em humanos, animais e plantas. Em mamíferos, a oleamida é sintetizada nos neurônios e atua principalmente como agente indutor do sono. Essa alquilamida também é largamente utilizada como aditivo em polímeros lubrificantes (AVOC). Estudos demonstraram a migração desse composto a partir de embalagens plásticas, recipientes indicados para uso em micro-ondas, mamadeiras, fraldas, seringas medicinais, garrafas de bebidas e produtos eletrônicos (He, Y. J. *et al.*, 2021; Naumoska *et al.*, 2020; Tang *et al.*, 2022). Danos para a saúde de animais marítimos, como o caranguejo *Pagurus bernhardus*, já foram associados à contaminação por oleamida de plásticos (Greenshields; Schirmacher; Hardege, 2021) e potenciais riscos para peixes também já foram investigados (Chen *et al.*, 2024). Os estudos sobre a toxicidade desse composto indicam potenciais danos para a saúde humana e ambiental, mas são insuficientes para o estabelecimento de limites de uso (Tang *et al.*, 2022; Tuersuntuoheti *et al.*, 2022).

A di-hidrojasmona é um monoterpene (BVOC) que pode ser obtido através das flores de *Carissa spinarum* L. (Ansari; Patil, 2018). Ela também pode ser obtida através de síntese orgânica, a partir de 1,4-dicarbonil cetonas ou *n*-octanol (Zope; Patnekar; Kanetkar, 2007). Di-hidrojasmona é utilizada em substituição à jasmona (responsável pelo odor das flores de jasmim) na indústria de perfumes. Não há registros de toxicidade desse composto na literatura e sua presença nas amostras é justificável pelas regiões de mata próximas aos pontos de amostragem, especialmente em C1-P2.

Os marcadores que caracterizaram o início do período seco (C2) foram: etil decanoato (MP<sub>2,5</sub>) e 1,2-dihidroxi-antraquinona (PTS). Etil decanoato (ED) é um éster do ácido decanoico, de ocorrência natural e artificial (B/ACOV), utilizado nas indústrias de perfumaria e biodiesel. De acordo com a literatura, não há indícios de toxicidade do composto para humanos, estando presente nas formulações cosméticas em concentrações inferiores a 7,2 % (Api *et al.*, 2022; Lamba; Sarkar; Kumar, 2018).

A 1,2-dihidroxi-antraquinona (1,2-dhATQ) é um oxi-HPA (AVOC) obtido a partir da foto-oxidação do antraceno (Tripuranthakam *et al.*, 1999) ou naturalmente (BVOC), a partir de plantas como *Rubia cordifolia* L. e *Cassia obtusifolia* (Kaur *et al.*, 2010; Sung *et al.*, 2004). É um composto utilizado como pigmento na indústria de cosméticos (PubChem, 2024) e tem promissor uso como sonda fluorescente em ensaios biológicos de detecção de íons Co<sup>2+</sup> (Mohandoss; Stalin, 2017) e em exames de imagem do fígado (Schuhmacher; Maler-Borst; Wellman, 1980). As quinonas têm comportamento controverso quanto à sua toxicidade. Esses compostos são considerados mutagênicos e potencialmente carcinogênicos quando provenientes de poluição ambiental, mas também funcionam como drogas anticâncer em uma abordagem terapêutica (Smith, 1985). A 1,2-dhATQ, em especial, é uma quinona tóxica para plantas aquáticas, como a *Lemna gibba* (Babu *et al.*, 2001; Babu; Tripuranthakam; Greenberg, 2005) e inibe a fotossíntese em fitoplâncton (Marwood *et al.*, 1999). Mas também é um inibidor seletivo de arilamina *N*-acetiltransferase (NAT1) em humanos, enzima responsável pela metabolização de agentes carcinogênicos, tais como arilaminas e seus metabólitos (Leggett *et al.*, 2022). A presença de 1,2-dhATQ nas regiões amostradas pode ter origem em poluição veicular, que é uma fonte conhecida de emissão de antraceno.

O 1,4-dimetilnaftaleno (1,4-DMN), um AVOC da classe dos HPAs, foi considerado marcador de poluição por MP<sub>2,5</sub> tanto em C1 como em C2. A presença desse composto nas

regiões de amostragem pode ter origem na queima de combustíveis fósseis. O naftaleno e os alquilnaftalenos são os HPAs mais encontrados no ar ambiente. O 1,4-DMN tem sido usado na inibição de formação de brotos em batatas, após a colheita (Krause, M. R. *et al.*, 2023) e é classificado como agrotóxico (*pesticide active substance*) pela EFSA (*European Food Safety Authority*). É considerado um composto tóxico para plantas e tem seus limites estabelecidos pela EC 396/2005 (EFSA). Essa resolução regulamenta os resíduos de 1,4-DMN em plantas, *commodities* processadas, culturas rotativas e pecuária (Anastassiadou *et al.*, 2021). Na atmosfera, os alquilnaftalenos sofrem reações com radicais hidroxila (OH<sup>•</sup>) durante o dia, formando 1,2-dicarbonilas e 1,4-dicarbonilas insaturadas. Esses produtos oferecem risco para a saúde humana, por serem mutagênicos (Nishino; Arey; Atkinson, 2009). A presença desse HPA nas amostras coletadas é esperada pela elevada atividade de caminhões nas proximidades das regiões de amostragem.

### 3.5 Conclusões

A metodologia utilizada na análise de VOCs e agrotóxicos em Brumadinho foi satisfatória, confirmando a eficiente combinação entre extração por DI-SPME e separação por GC×GC. O método empregado possibilitou a varredura de compostos de diversas classes, o que permitiu a identificação de 382 compostos nas amostras de PTS e MP<sub>2,5</sub>, por meio de espectros de massas, com confirmação por índices de retenção de Kratz. Foi identificada a presença de agrotóxicos no ar atmosférico de Brumadinho, como o lindano (organoclorado). Os compostos identificados foram classificados em AVOCs e BVOCs. Essa classificação mostrou que o ar atmosférico da região amostrada contém aproximadamente metade de compostos de origem antropogênica e metade de origem biogênica; exceto pelos pontos de amostragem da campanha 2, que mostraram considerável predominância de AVOCs. Através de modelos PCA e PLS-DA, foi possível identificar alguns marcadores de poluição por tipo de MP, de acordo com as duas estações do ano avaliadas (início e final de tempo seco). Além disso, a origem e a toxicidade dos marcadores de poluição ambiental e de outros compostos poluentes foram discutidas.



---

## CAPÍTULO 4. ANÁLISE DE VOCs/SOVCS ASSOCIADOS AO MATERIAL PARTICULADO (MP<sub>2,5</sub>) EM BELO HORIZONTE/MG, USANDO DI-SPME-GC×GC/Q-TOFMS

### 4.1 Introdução

Compostos orgânicos voláteis apresentam temperaturas de ebulição entre 50/100 °C a 240/260 °C, enquanto compostos orgânicos semivoláteis (SVOCs), na faixa de 240/260 °C até 380/400 °C, a 101,3 kPa (U.S. EPA, 2024). Esses grupos de compostos contêm, principalmente, átomos de carbono e hidrogênio, representados por alcanos, alcinos e hidrocarbonetos aromáticos, mas também oxigênio, nitrogênio, enxofre e átomos de halogênio (hidrocarbonetos halogenados) como cloro, bromo e flúor.

Os SVOCs/VOCs são gerados por fontes naturais e atividades humanas. Nas atividades humanas, os SVOCs/VOCs são amplamente utilizados nas indústrias de calçados, aço, madeira, cosméticos e farmacêutica, por meio de tintas, revestimentos à base de solventes, solventes, adesivos, dispersantes, desengraxantes e detergentes. A evaporação, combustão ou transporte desses produtos é conhecida por ser uma fonte antropogênica (Dai *et al.*, 2021). Muitos VOCs presentes na atmosfera são de origem natural e estão relacionados aos processos de decomposição da matéria orgânica, como o metano (de ruminantes) ou são formados pela vegetação, como os óleos essenciais (BVOCs), no oceano e por atividade vulcânica (Li, J.-R. *et al.*, 2020). Além disso, alguns VOCs são originários do setor de produtos de consumo, como fragrâncias, cremes para a pele ou produtos de limpeza (Gerster *et al.*, 2014).

Concentrações aumentadas de SVOCs/VOCs no ar impactam os setores ambiental e de saúde. Esses compostos contribuem para as mudanças climáticas, formação de ozônio troposférico e material particulado (MP<sub>2,5</sub>) (Guan *et al.*, 2016; Li, N. *et al.*, 2023). Essa situação leva a problemas respiratórios, como infecções agudas do trato respiratório inferior (ALRTIs) (Lyu *et al.*, 2020), doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (Li, Y.-W.; Ma, 2021) bem como problemas cardiovasculares (Pathak; Viphavakit, 2022), doenças oculares (Yang, D.-L. *et al.*, 2023) e impactos negativos na agricultura (Wang, Z.; Wei; Zheng, 2020). Certos SVOCs,

como HPAs, têm sido associados a mutações, infertilidade masculina (Kakavandi *et al.*, 2023) e alguns tipos de câncer, como de pulmão (Schmekel; Winquist; Vikström, 2014).

Na análise por GC×GC de amostras complexas, como VOCs/SVOCs, a escolha dos parâmetros de modulação é determinante para uma boa separação bidimensional. A combinação dos parâmetros de modulação e separação envolve muitas variáveis que devem ser controladas simultaneamente. Portanto, o uso de planejamento de experimentos (*Design of Experiments*, DoE) e de métodos de superfície de resposta (*Response Surface Methodology*, RSM) é muito útil na redução do número de experimentos e obtenção da melhor combinação de parâmetros para a modulação e otimização dos procedimentos de extração (Boegelsack *et al.*, 2021; Gaines, 1998; Kulsing; Nolvachai; Marriott, 2020; Skartland; Mjøs; Grung, 2011; Stefanuto *et al.*, 2017; Vyviurska *et al.*, 2022; Zou, Y. *et al.*, 2021)(Bhatt *et al.*, 2022; Cheong *et al.*, 2011; Drabińska; Jeleń, 2022; Salvador *et al.*, 2013; Setyaningsih *et al.*, 2019). Contudo, não foram identificados estudos que otimizem os parâmetros de modulação para a análise de VOCs/SVOCs em MP. Assim, este trabalho propõe uma investigação nessa área utilizando um planejamento fatorial fracionário (DoE) e a matriz Doehlert, conforme os princípios da *Response Surface Methodology* (RSM). O planejamento Doehlert é uma técnica de modelagem amplamente empregada em procedimentos de otimização, fundamentada na disposição dos dados em arranjos poligonais — como faces triangulares, quadradas e o ápice de um cuboctaedro — em torno de um ponto central que delimita a região ideal (Cerqueira *et al.*, 2021). O planejamento fatorial fracionário apresenta a vantagem de requerer um número significativamente menor de experimentos do que um planejamento fatorial completo, enquanto a matriz Doehlert oferece resultados de otimização comparáveis aos métodos Box-Behnken e ao composto central, mas com uma demanda experimental muito inferior.

Existem vários procedimentos clássicos para extração e análise de VOCs/SVOCs, alguns dos quais comumente incluem dessorção térmica (TD), extração líquido-líquido (LLE), extração estática por *headspace* (SHS), extração dinâmica por *headspace* (DHS), extração em fase sólida (SPE), extração magnética em fase sólida (MSPE) e extração usando barras de agitação (Cardador; Gallego, 2017; Kaikiti; Stylianou; Agapiou, 2022; León *et al.*, 2006; Liu, X. *et al.*, 2021; Murrell; Dorman, 2021; Nie *et al.*, 2016). O uso de técnicas como SPME, dispositivo de armadilha de agulha (NTD), microextração em fase líquida (LPME) e microextração de gota única (SDME) aumentou significativamente nos últimos anos na análise

de SVOCs/VOCs (Delove Teglada *et al.*, 2020; Jeong *et al.*, 2024; Martínez *et al.*, 2022; Sarafray-Yazdi; Amiri; Es'haghi, 2008). Todas essas técnicas mostraram maior sensibilidade, eficiência de extração, versatilidade, proteção ao meio ambiente e seletividade do que os métodos convencionais (Jalili; Barkhordari; Norouzian Baghani, 2019).

## **4.2 Objetivos**

### **4.2.1 Objetivo geral**

Realizar a varredura de compostos orgânicos semivoláteis (SVOCs) e voláteis (VOCs) em amostras de material particulado fino (MP<sub>2,5</sub>) coletadas em áreas urbanas e naturais de Belo Horizonte (Minas Gerais, Brasil), utilizando o método DI-SPME-GC×GC/Q-TOFMS.

### **4.2.2 Objetivos específicos**

- Aplicar ferramentas de planejamento de experimentos e matriz Doehlert na otimização de um método GC×GC/Q-TOFMS para análise de VOCs/SVOCs em MP<sub>2,5</sub>;
- Coletar amostras de MP<sub>2,5</sub>, usando filtros de quartzo e AGV;
- Analisar as amostras usando o método GC×GC otimizado;
- Discutir a toxicidade dos compostos identificados nas amostras.

## **4.3 Parte experimental**

### **4.3.1 Suprimentos e equipamentos**

Os mesmos descritos no CAPÍTULO 3.

### **4.3.2 Materiais e solventes**

Acetonitrila, grau HPLC/UV, J. T. Baker (Nova Jersey, EUA); água ultrapura, Elga (Lane End, Reino Unido); acetona, grau HPLC, Merck (Darmstadt, Alemanha); álcool etílico (70 %), CRQ (São Paulo, Brasil); filtros de quartzo (20,3 cm × 25,4 cm × 47 mm), Whatman (Clifton, NJ, EUA); fibra SPME/PA (85 µm, 24 Ga, Sílica Fundida/SS), Supelco (Bellefonte, EUA); frascos de SPME (20 mL), Filtrilo (Colombo, Brasil).

### 4.3.3 Amostragem

As amostras consistiram em filtros de fibra de quartzo com fração MP<sub>2,5</sub> retida e foram coletadas em Belo Horizonte, Minas Gerais/Brasil. A amostragem ocorreu entre 10 de março e 7 de abril de 2022, em dias não sequenciais (média de quatro coletas por semana). Foram selecionados dois pontos de coleta no campus Pampulha da UFMG (Figura 4.1): Portaria 1, Av. Antônio Carlos (19°51'47,3"S 43°57'30,2"W), identificado como PAC (16 amostras), caracterizado por alto tráfego veicular (~2000 veículos/hora) e Estação Ecológica da UFMG (19°52'34,7"S 43°58'24,8"W), identificado como ECO (17 amostras), área de baixo impacto antrópico com vegetação nativa preservada. O preparo dos filtros de quartzo e as condições de amostragem seguiram o protocolo descrito no subtópico 3.3.



**Figura 4.1** - Imagem de satélite indicando os pontos de amostragem de MP<sub>2,5</sub> (distantes aproximadamente de 1,8 km).

### 4.3.4 Preparo de amostras

Um total de 33 amostras foram extraídas por DI-SPME, de acordo com o procedimento descrito no subtópico 3.3.4, usando fibra PA. A dessorção foi feita no sistema GC×GC, a 250°C, por 1 min (mais 2 min de limpeza da fibra).

#### 4.3.5 Análise por GC×GC/Q-TOFMS

A determinação dos compostos contidos nas amostras de MP foi realizada usando o mesmo sistema GC×GC descrito nos capítulos anteriores, com o mesmo conjunto de colunas e as mesmas condições de ionização/detecção. O injetor operou a 250 °C no modo *splitless* (1 min) e a vazão de gás He foi de 1,0 mL min<sup>-1</sup>. A temperatura inicial do forno foi de 50 °C, depois aumentou para 150 °C, a 20 °C min<sup>-1</sup>. Em seguida, até 180 °C (1 min), a 3 °C min<sup>-1</sup> e, por fim, até 280 °C (2 min), a 7 °C min<sup>-1</sup>. A linha de transferência operou a 280 °C, a fonte de ionização, a 200 °C e o quadrupolo, a 150 °C.

#### 4.3.6 Planejamento de experimentos e otimização de parâmetros

Utilizando DoE e a metodologia de superfície de resposta (RSM), os seguintes parâmetros foram otimizados: *offset* (+20, +30 e +40 °C), duração do jato quente (300, 650 e 1000 ms), vazão de jato frio (10, 20 e 30 L min<sup>-1</sup>) e  $P_M$  (2, 4 e 6 s). Um planejamento fatorial fracionário de dois níveis, com resolução IV ( $2^{4-1}_{IV}$ ) e três pontos centrais foi construído para seleccionar as variáveis significativas. O planejamento totalizou 11 experimentos realizados em ordem aleatória.

A partir da análise dos resultados do planejamento acima, foram escolhidas as variáveis vazão de jato frio e tempo de jato quente para a construção da matriz Doehlert, com três pontos centrais, totalizando 9 experimentos executados em ordem aleatória (Tabela 4.1).

**Tabela 4.1** - Condições experimentais da matriz Doehlert.

| Nº do experimento | Vazão de jato frio<br>(L min <sup>-1</sup> ) | Tempo de jato<br>quente (ms) |
|-------------------|----------------------------------------------|------------------------------|
| 1                 | 22,5 (+1)                                    | 325 (0)                      |
| 2                 | 17,5 (+0,5)                                  | 600 (+0,866)                 |
| 3                 | 2,5 (-1)                                     | 325 (0)                      |
| 4                 | 7,5 (-0,5)                                   | 50 (-0,866)                  |
| 5                 | 17,5 (+0,5)                                  | 50 (-0,866)                  |
| 6                 | 7,5 (-0,5)                                   | 600 (+0,866)                 |
| 7                 | 12,5 (0)                                     | 325 (0)                      |
| 8                 | 12,5 (0)                                     | 325 (0)                      |
| 9                 | 12,5 (0)                                     | 325 (0)                      |

#### 4.3.7 Processamento de dados

Os cromatogramas 2D foram processados conforme descrito no subtópico 2.3.8. Os dados alinhados foram importados no software MATLAB, versão R2010a, na forma de uma matriz contendo as amostras nas linhas e a intensidade de pico dos compostos identificados nas colunas. Este conjunto de dados foi utilizado para construir um modelo PCA, utilizando o PLS Toolbox, versão 5.2.2. O pré-processamento utilizado para o modelo PCA foi a centralização na média. Amostras com valores anormais de  $Q$  residual e Hotelling  $T^2$  (*outliers*) foram removidas. A tentativa de identificação dos compostos foi feita conforme descrito no subtópico 2.3.9.

### 4.4 Resultados e discussão

#### 4.4.1 Otimização do processo de modulação térmica

As análises de varredura requerem métodos cromatográficos capazes de detectar o número máximo de compostos na amostra, com a melhor resolução. Em GC×GC, o modulador é considerado o componente central e crítico do sistema. Sem um modulador otimizado, a coeluição e a perda de resolução comprometem a identificação de analitos, especialmente em concentrações traço. Portanto, otimizar o parâmetro de modulação é crucial para uma análise abrangente dos compostos totais.

Uma amostra de filtro de quartzo do conjunto PAC foi usada para os experimentos de otimização. Foram realizadas repetições no ponto central para avaliar a falta de ajuste do modelo. O número de picos com resolução ( $Rs$ ) > 1,2 e SNR > 500 foi escolhido como a resposta ( $R$ ) nos planejamentos. Foi feita a normalização por  $\sqrt{R}$  e os resíduos apresentaram homocedasticidade. Os efeitos que foram significativos no planejamento fatorial fracionário foram a vazão de jato frio ( $f_{cj}$ ), a duração do jato quente ( $t_{hj}$ ) e  $P_M$ , conforme mostrado no gráfico de paretos (Figura 4.2). A ANOVA *One-way* para o modelo fatorial selecionado mostrou que a regressão foi significativa ( $p < 0,05$ ), sem falta de ajuste ( $p > 0,05$ ), com um valor de  $R^2 = 0,9323$ . Assim, a equação do modelo ajustado, em termos dos fatores codificados, foi  $R = 3,54 (\pm 0,34) + 0,93P_M (\pm 0,34) - 1,35t_{hj} (\pm 0,34) - 2,67f_{cj} (\pm 0,34)$ .

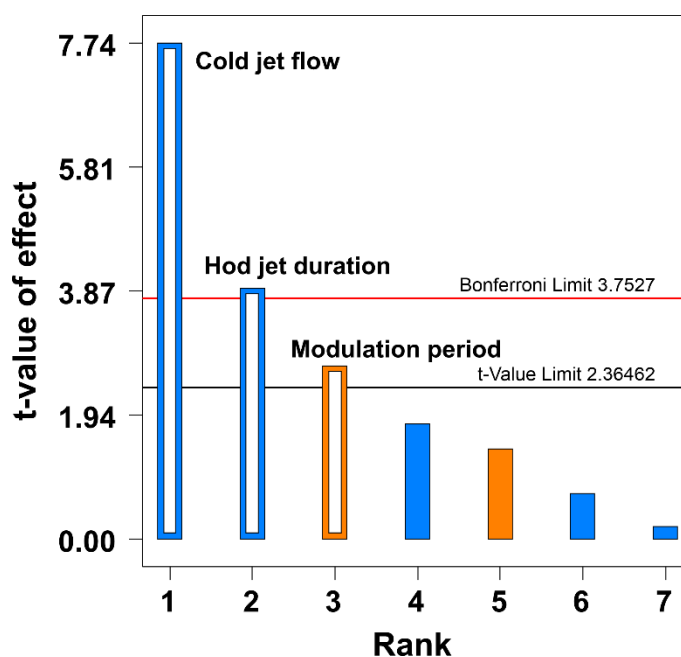
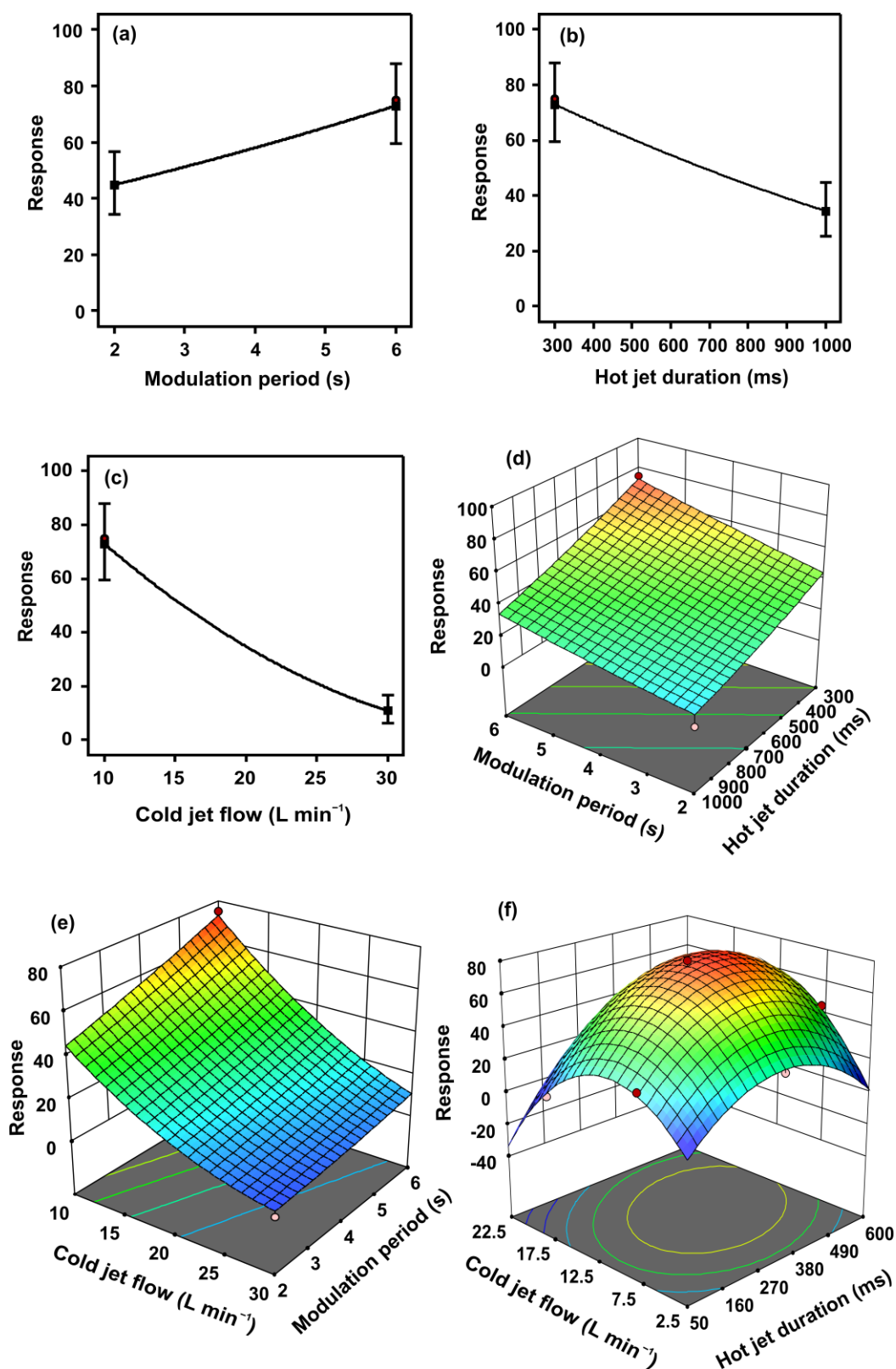


Figura 4.2 - Gráfico de paretos com os efeitos significativos do planejamento fatorial fracionário  $2^{4-1}_{IV}$ .

Observou-se que valores mais elevados para  $P_M$  aumentaram a resposta (Figura 4.3a), possivelmente devido ao maior tempo de contato dos analitos com a coluna  $^2D$ , o que favorece o aumento do número de picos detectados. Em contrapartida, valores mais baixos para a duração do jato quente (Figura 4.3b) também resultaram em resposta superior, pois a maioria dos analitos presentes na amostra não possui altas temperaturas de ebulição, dispensando um pulso de calor prolongado para a liberação eficiente do *loop* de  $^2D$ . Um jato quente muito extenso pode, inclusive, acarretar *breakthrough*. Por fim, menores vazões de jato frio também aumentaram a resposta (Figura 4.3c); excesso de jato frio ocasiona picos mais largos e, portanto, menos intensos (Snow, 2020).



**Figura 4.3** - Resultados gráficos da otimização: influência do a) período de modulação na resposta, b) da duração do jato quente e c) da vazão de jato frio. d, e) Superfícies de resposta para o planejamento fatorial e f) para o planejamento Doehlert, com  $P_M$  fixado em 6 s.

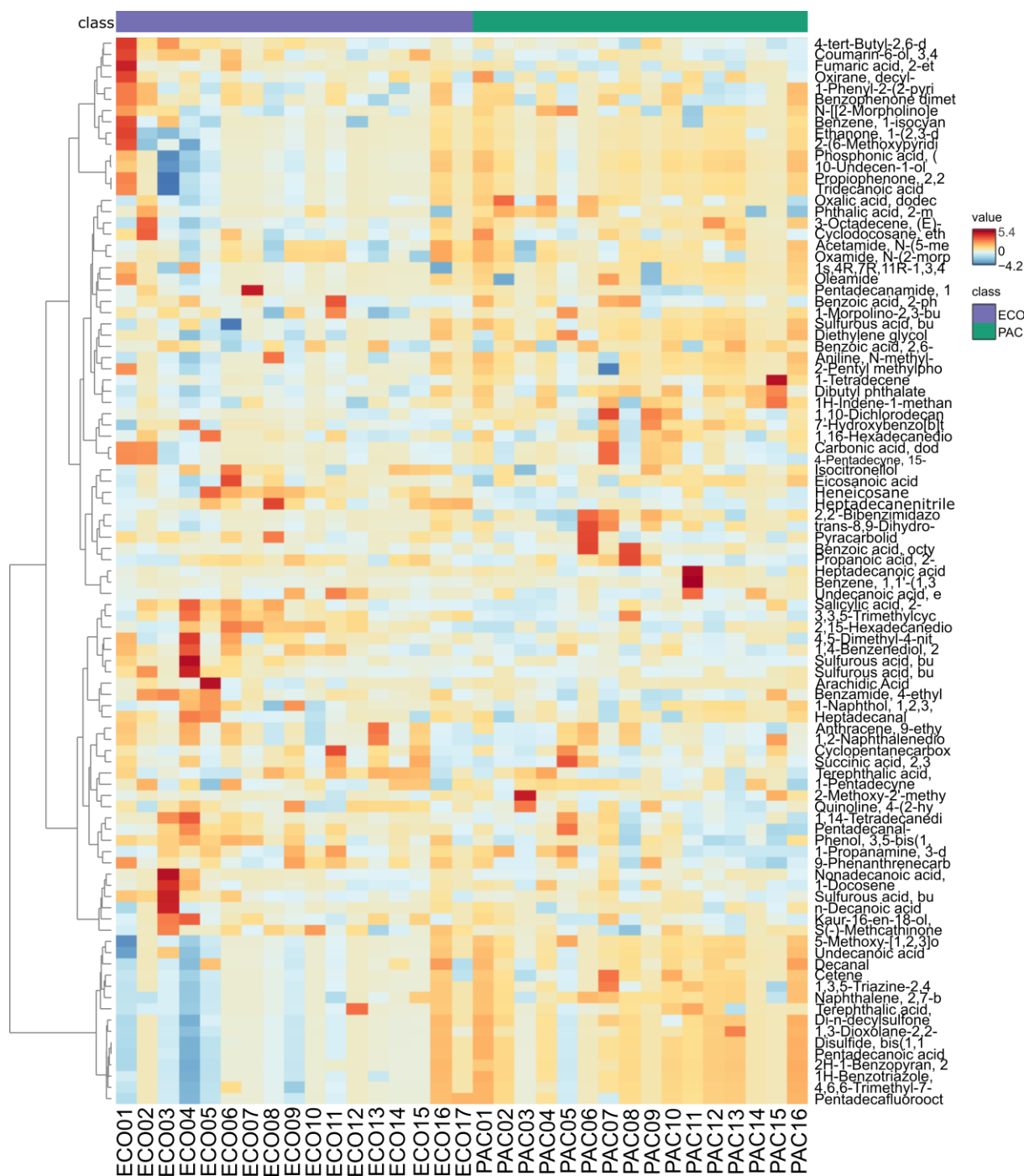


Com base no gráfico de paretos (Figura 4.2), os dois fatores que exerceram maior influência sobre a resposta foram a duração do jato quente e a vazão de jato frio. Estes foram selecionados para a otimização usando matriz Doehlert. O período de modulação foi ajustado para 6 s e o *offset* do jato quente, para +30 °C (variável não significativa). A resposta escolhida para a construção do modelo foi a mesma do planejamento fatorial. Um modelo quadrático foi ajustado aos dados experimentais, com  $R^2 = 0,9915$ . Os termos do modelo foram estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) e não houve falta de ajuste ( $p > 0,05$ ). Além disso, o modelo foi adequado para previsão, com uma diferença menor do que 0,2 entre os valores de  $R^2$  previsto e ajustado. Os resíduos apresentaram distribuição homogênea e não foram detectados *outliers*. Assim, a equação final do modelo, em termos dos fatores codificados estatisticamente significativos, foi  $R = 76,67 (\pm 2,18) + 15,00t_{hj} (\pm 1,89) - 3,00f_{cj} (\pm 2,18) + 16,00t_{hj}f_{cj} (\pm 3,77) - 30,75t_{hj}^2 (\pm 2,58) - 45,67f_{cj}^2 (\pm 3,44)$ .

A região de cor vermelha da superfície de resposta ( $75 < R < 80$ ) mostrou que as condições ideais foram duração de jato quente de 393 ms e vazão de jato frio de 12,5 L min<sup>-1</sup> (Figura 4.3f). Essas condições foram aplicadas para analisar algumas amostras reais e a resposta se situou dentro da faixa ótima de  $R$ . Dessa maneira, as condições otimizadas foram aplicadas para analisar todas as amostras de MP.

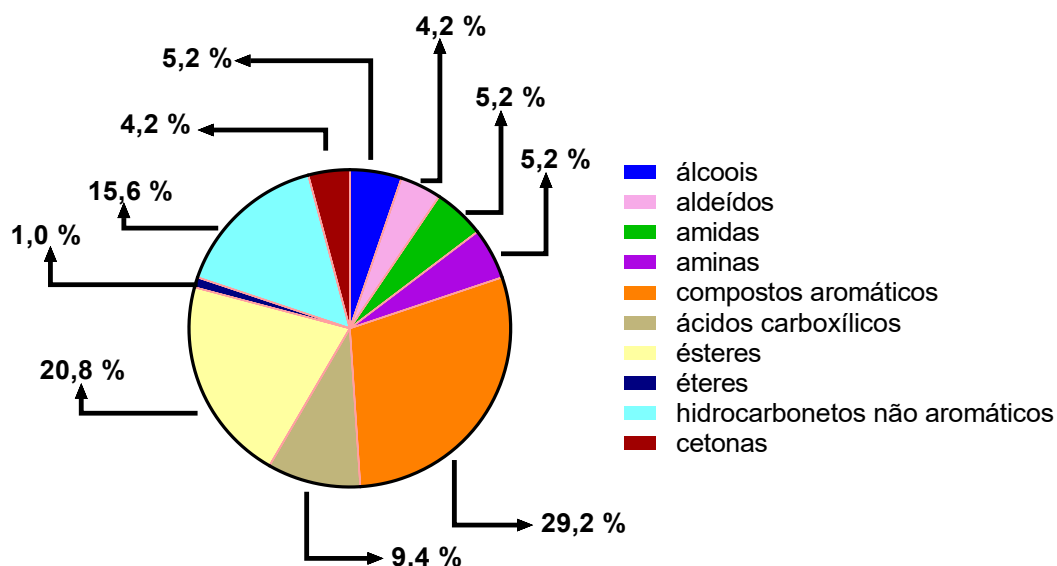
#### 4.4.2 Análise estatística multivariada

Um total de 189 VOCs/SVOCs foram identificados nas amostras (APÊNDICE 3 –). Os diagramas representativos se encontram no mesmo Apêndice. Como pode ser observado no *heatmap* da distribuição dos compostos (Figura 4.4), o ponto PAC apresentou algumas amostras com altas intensidades de pico (cor laranja a vermelha), o que era de se esperar, pois esse ponto está mais próximo de fontes de poluição do ar (alto tráfego de veículos). No entanto, algumas amostras do ponto ECO também apresentaram altas intensidades de pico, sugerindo que os fenômenos atmosféricos contribuíram para o transporte de poluentes de regiões antrópicas para o ambiente natural ECO.



**Figura 4.4** - Heatmap das intensidades de pico dos compostos mais abundantes identificados em amostras de MP<sub>2,5</sub>. ECO01 a ECO17 representam as amostras de filtro coletadas no ponto ECO; PAC01 a PAC16 representam as amostras de filtro coletadas no ponto PAC. O número após ECO e PAC é o dia de amostragem

Os compostos foram divididos em várias classes químicas, sendo que a maior classe foi a de aromáticos, que representaram 29,2 % do total (Figura 4.5). Dentre os compostos aromáticos destacaram-se, pela sua toxicidade, os derivados de HPA e de anilina (Figura 4.6).



**Figura 4.5** - Distribuição por classe química de compostos identificados em amostras de MP<sub>2,5</sub> coletadas em PAC e ECO.

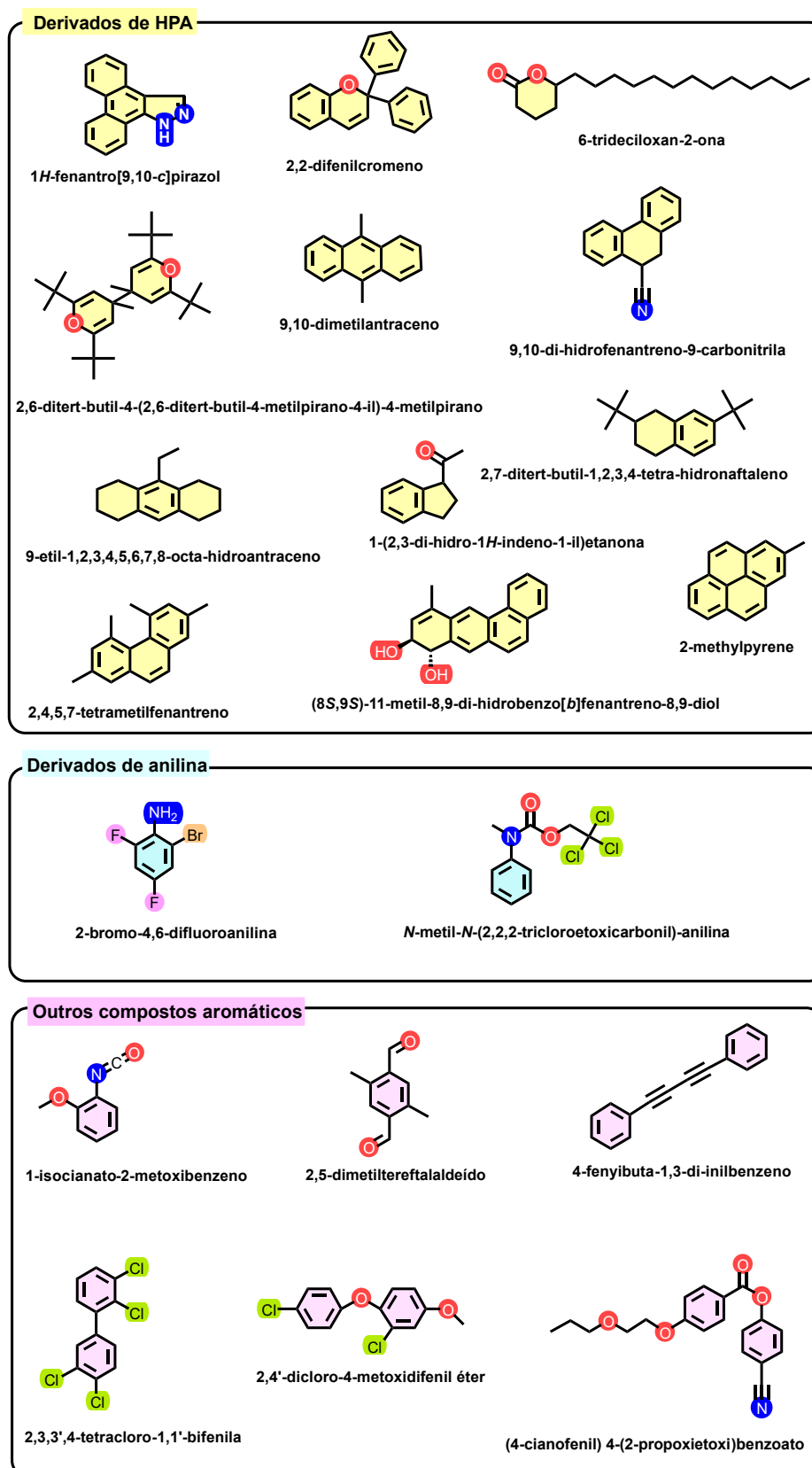
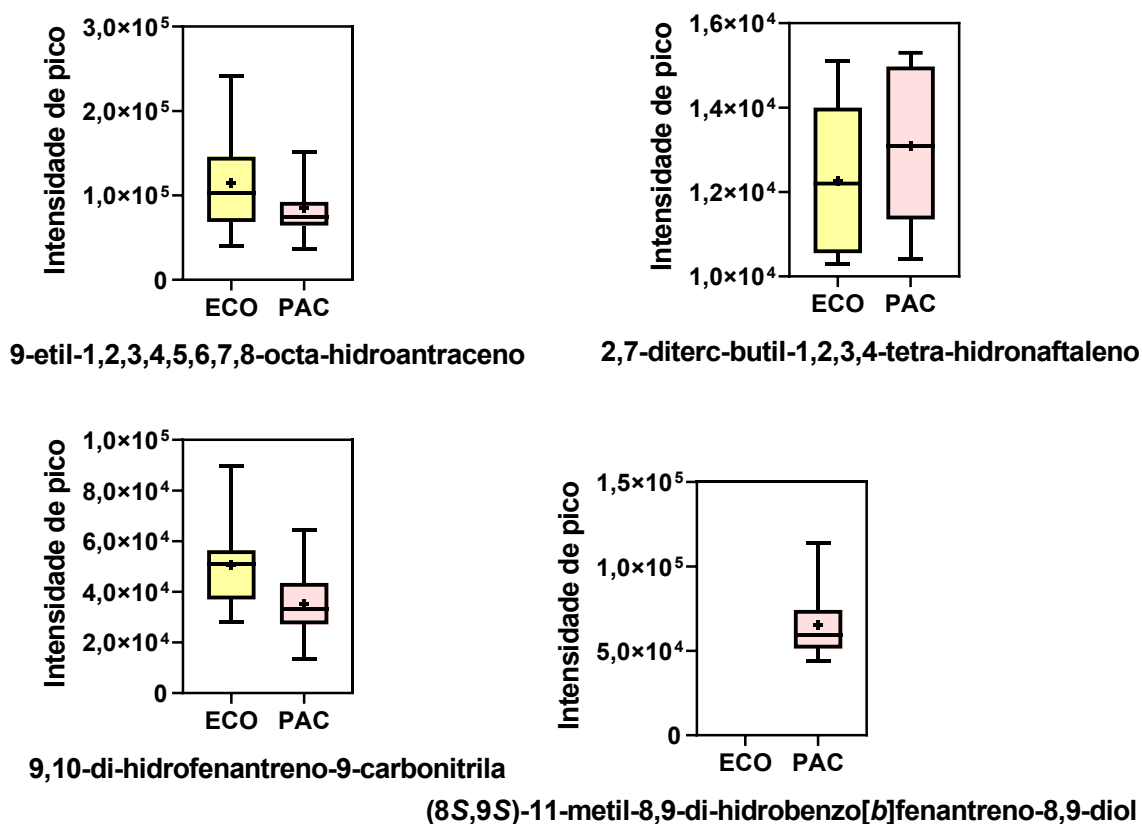


Figura 4.6 - Compostos tóxicos representativos identificados em amostras de MP<sub>2,5</sub>, de acordo com suas classes químicas.

Alguns HPAs e seus derivados (como o benzo[*a*]pireno e nitro-HPAs) têm efeito carcinogênico/mutagênico em seres humanos (Pedersen *et al.*, 2004). Estudos indicam que esses derivados são mais tóxicos do que seus compostos de origem (Albinet *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2022; Zhao, J. *et al.*, 2019). Neste estudo, oito derivados de HPA foram identificados em menos de três dias de amostragem: 1*H*-fenantro[9,10-*c*]pirazol (apenas PAC); 2,2-difenilcromeno (PAC e ECO); 6-trideciloxano-2-ona (apenas ECO); 2,6-diterc-butil-4-(2,6-diterc-butil-4-metilpirano-4-il)-4-metilpirano (apenas PAC), 9,10-dimetilantraceno (apenas PAC); 1-(2,3-dihidro-1*H*-indeno-1-il)etanona (PAC e ECO); 2,4,5,7-tetrametilfenantreno (apenas PAC) e 2-metilpireno (apenas PAC). Os demais compostos foram detectados em períodos superiores a três dias e sua distribuição é mostrada nos *boxplots* da Figura 4.7. Um aspecto relevante observado foi que os derivados 1*H*-fenantro[9,10-*c*]pirazol, 6-trideciloxano-2-ona, 2,6-di-terc-butil-4-metilpirano e 2,4,5,7-tetrametilfenantreno representam a primeira detecção em MP atmosférico, de acordo com a literatura disponível. Além disso, todos os derivados detectados, exceto (8*S*,9*S*)-11-metil-8,9-dihidrobenzo[*b*]fenantreno-8,9-diol, foram encontrados tanto na área urbana (PAC) quanto na área natural (ECO). A análise estatística (teste *t* de Student,  $\alpha = 0,05$ ) das intensidades de pico dos compostos citados não revelou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os dois pontos, sugerindo mecanismos de dispersão atmosférica ou fontes comuns não localizadas. Embora o ponto de amostragem ECO esteja localizado em uma reserva florestal com densa vegetação, sua proximidade com vias de alto tráfego e instalações industriais pode contribuir para a presença de derivados de HPA no local, devido à influência dessas fontes antrópicas. Já no ponto PAC, a identificação desses compostos pode estar associada predominantemente às emissões veiculares, típicas da avenida localizada nas proximidades.

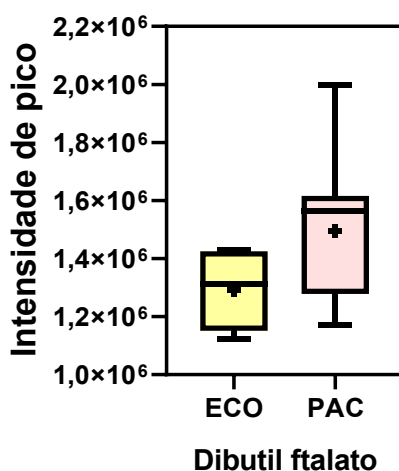


**Figura 4.7** - Boxplots de alguns derivados de HPA identificados em amostras de MP<sub>2,5</sub> (após remoção de *outliers*). 9-etil-1,2,3,4,5,6,7,8-octa-hidroantraceno ( $n = 16$  para ECO e  $n = 15$  para PAC); 2,7-diterc-butil-1,2,3,4-tetra-hidronaftaleno ( $n = 5$  para ECO e  $n = 8$  para PAC); 9,10-di-hidrofenantreno-9-carbonitrila ( $n = 17$  para ECO e  $n = 16$  para o PAC); (8S,9S)-11-metil-8,9-di-hidrobenzo[b]fenantreno-8,9-diol ( $n = 13$  para PAC).

Além de compostos característicos das atividades antrópicas, incluindo a cafeína, também foram identificados nas amostras compostos de origem natural (BSVOCs). Alguns deles foram o ácido oleico, o ácido palmitoleico, o ácido esteárico, o acetato de vanilina, o isocitronelol, o caurenol, o 1,14-tetradecanodiol, o 1,16-hexadecanodiol, o 10-undecen-1-ol e o n-tridecan-1-ol. Como esperado, a maioria desses compostos foi encontrada na Estação Ecológica.

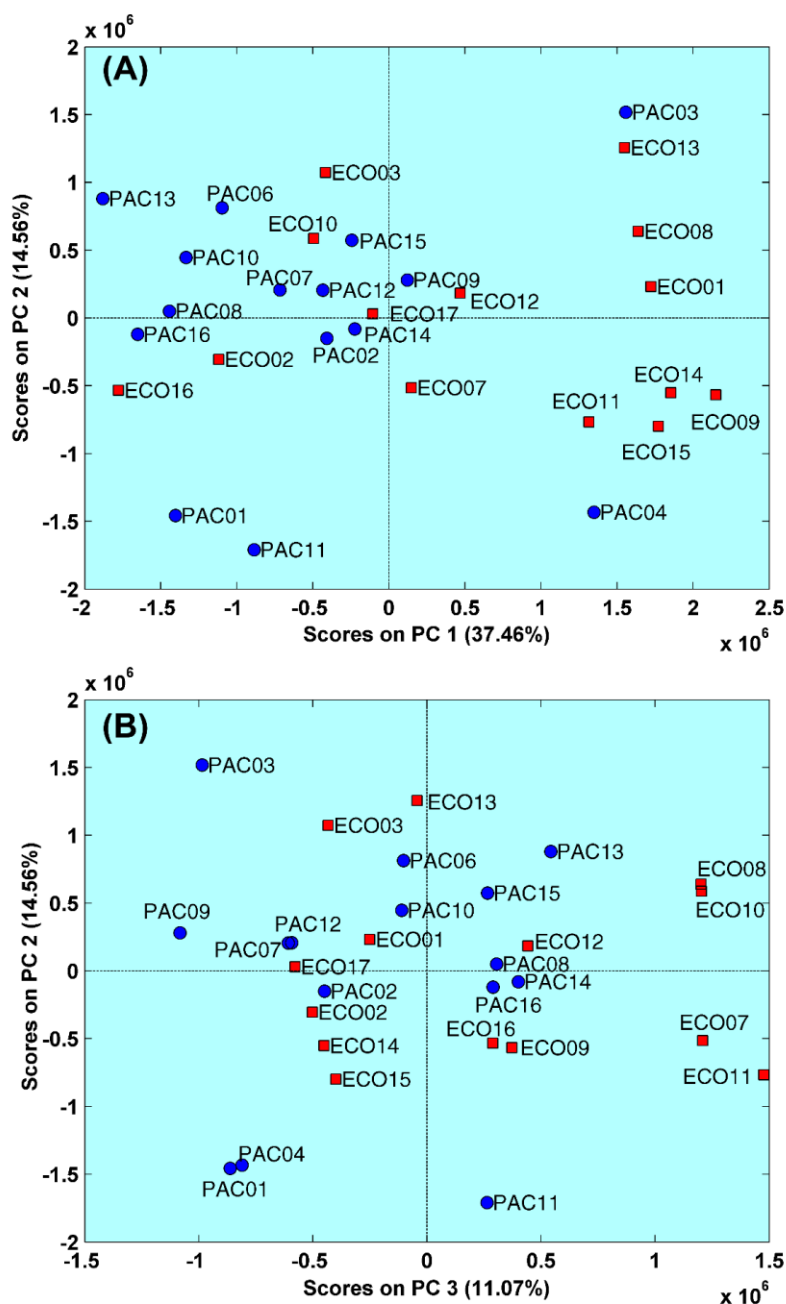
Alguns plastificantes foram identificados nas amostras coletadas neste trabalho, como o dibutil ftalato (DBP), o monometil ftalato e os ésteres 2-metilbutilpentil e isobutil-2-pentil do ácido ftálico. Esses compostos são amplamente utilizados em materiais poliméricos, como pisos, papel de parede, embalagens de alimentos e também são usados em solventes, fragrâncias, repelentes, xampus e outros produtos pessoais (Afshari *et al.*, 2004; Wang, X. De *et al.*, 2018).

Alguns deles têm efeitos endócrinos em animais e humanos e atuam como alergênicos (Marsee *et al.*, 2006; Zhou, C.; Gao; Flaws, 2017; Zhou, S. *et al.*, 2020). O DBP é um dos plastificantes mais conhecidos devido à sua alta toxicidade. Esse composto foi identificado nas amostras de PAC e ECO. Embora as amostras do ponto PAC tenham apresentado maiores intensidades de pico de DBP, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as médias dos dois locais ( $p > 0,05$ ). O ponto PAC é mais impactado por fontes de poluição devido ao intenso fluxo de veículos. Além disso, a alta concentração de edifícios e residências na região pode contribuir para a liberação de plastificantes de seus materiais constituintes. Essas características explicam os dias em que a quantidade de DBP no PAC foi superior às do ECO. Para descartar possíveis interferências de fundo (*background*) dos ftalatos, foram analisados filtros não amostrados (brancos).



**Figura 4.8** - *Boxplots* das intensidades de pico do DBP, de acordo com os locais de amostragem ( $n = 5$  para ECO e  $n = 13$  para PAC).

As intensidades de pico dos 189 compostos foram usadas para construir um modelo PCA. Um total de 4 PCs foram selecionadas após a análise do gráfico de autovalores. O modelo construído capturou 72,56 % da variância acumulada, sendo que PC 1 e PC 2 explicaram 52,02 % da variância (Figura 4.9).



**Figura 4.9** - Gráficos de *scores* do modelo PCA construído com os dados centrados na média. (A) PC 1 × PC 2; (B) PC 2 × PC 3.

A maioria das amostras do conjunto PAC se localizou no lado negativo de PC 1, enquanto as amostras ECO foram distribuídas principalmente ao longo da parte positiva dessa PC (Figura 4.9a). Os *loadings* de PC 1 (Figura 4.10) podem ser usados para determinar quais compostos estão relacionados à separação observada. Os *loadings* do lado direito de PC 1 foram associados, principalmente, às amostras ECO. Os principais compostos que diferenciam essas amostras, em ordem de importância, foram o éster 6-metil-hept-2-il octil do ácido tereftálico, a



4-(2-hidroxi-2-metoxi-1-tioxoetil)-2-fenil-quinolina, o 1-pentadecino e a 2,15-hexadecanodiona. Os *loadings* negativos de PC 1 foram menos críticos para a discriminação das amostras PAC (menores valores, em módulo, em relação aos *loadings* do lado positivo de PC 1). Os compostos representativos de PAC foram o ácido araquídico e o éster 2,6-dicloro, 2-acetilfenílico do ácido benzoico.

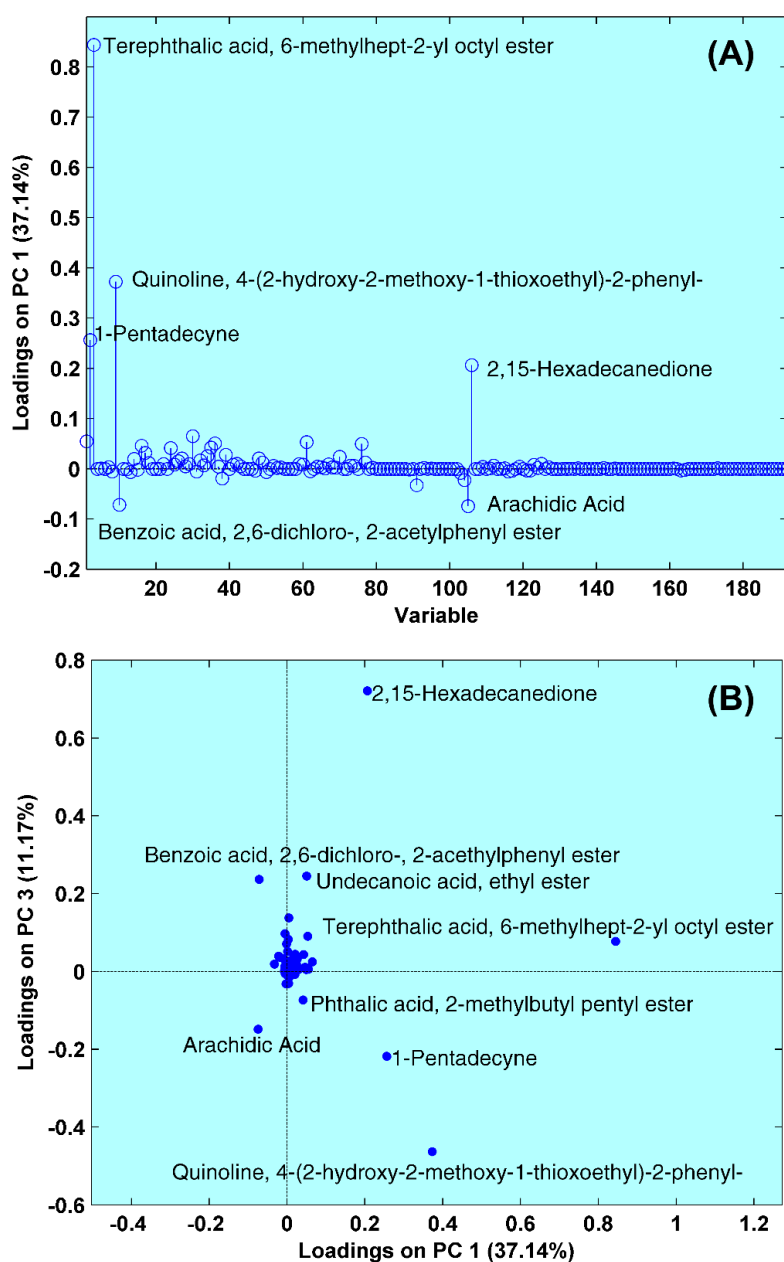
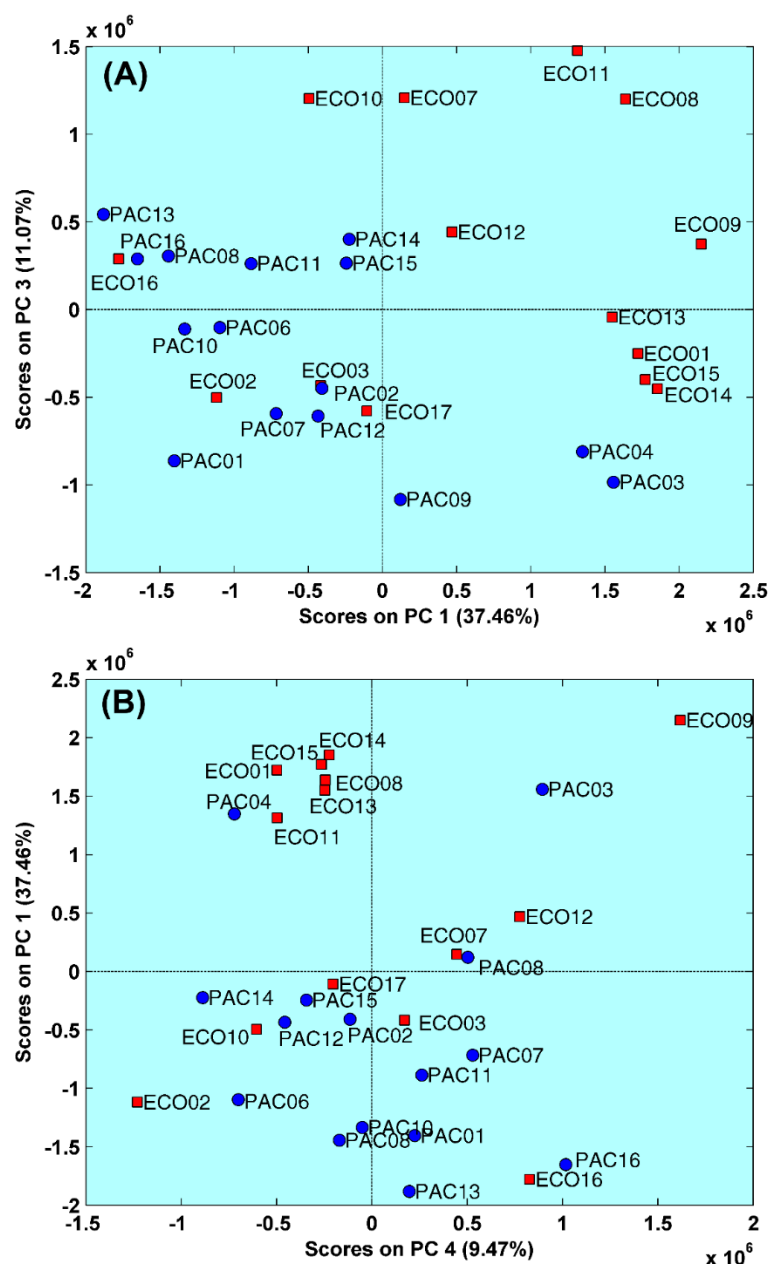


Figura 4.10 - Gráficos de *loadings* do modelo PCA: (A) para PC 1 e (B) PC 1 × PC 3.

O gráfico dos *scores* de PC 2 × PC 3 (Figura 4.9b) mostrou que os pares PAC07/PAC12 e PAC01/PAC04, no lado negativo de PC 3, e ECO08/ECO10, no lado positivo, apresentaram *scores* muito próximos, indicando alta similaridade entre essas amostras. Em PC 1 × PC 3 (Figura 4.11a), algumas amostras ECO foram distinguidas pelo primeiro quadrante (formado pelos lados positivos das PCs). Em PC 1 × PC 4 (Figura 4.11b), amostras ECO foram agrupadas no segundo quadrante (lado positivo de PC 1 × lado negativo de PC 4). A proximidade das amostras em cada uma dessas situações pode estar relacionada à semelhança das condições climáticas e dos níveis de poluição nos dias de coleta, o que originou perfis semelhantes de compostos nessas amostras. A proximidade entre algumas amostras PAC e ECO pode ser atribuída à presença de compostos compartilhados, bem como a condições climáticas semelhantes nos dias de amostragem. Essas interpretações são de caráter exploratório, pois o método PCA é não supervisionado e não pode servir como ferramenta de diagnóstico. Para isso, seria necessário aplicar aos dados um modelo supervisionado, como o PLS-DA, que requer um número maior de amostras do que as coletadas neste trabalho, para a construção dos blocos de calibração e validação. No entanto, os gráficos de PCA forneceram informações preliminares e confiáveis sobre o comportamento das amostras.



**Figura 4.11** - Gráficos de *scores* do modelo PCA dos dados centrados na média. (A) PC 1  $\times$  PC 3; (B) PC 1  $\times$  PC 4.

Os compostos de maior valor (em módulo) de *loading* foram selecionados para uma discussão de toxicidade. Os três principais compostos associados às amostras da Estação Ecológica foram o éster 6-metil-hept-2-il octil do ácido tereftálico (6,2-EAT), a 4-(2-hidroxi-2-metoxi-1-tioxoetil)-2-fenil-quinolina (4-FeQ) e o 1-pentadecino (1-PD). O 6,2-EAT está associado a materiais plastificantes e já foi encontrado em amostras de poeira de ambientes internos (Pourasil *et al.*, 2022). Embora não existam estudos sobre a toxicidade desse composto,

6,2-EAT pode indicar contaminação na região de amostragem por plastificantes, que geralmente representam toxicidade preocupante para a saúde humana. Derivados de quinolina, como 4-FeQ, são comumente usados como intermediários em síntese de polímeros e sua emissão no ar pode ocorrer a partir de materiais de construção (Pourasil *et al.*, 2022). Hidrocarbonetos, como 1-PD (um alcino de cadeia longa), podem ser emitidos a partir de fontes petroquímicas. A identificação desse composto nas amostras pode ser associada às emissões veiculares, pela queima de combustíveis fósseis (Feng *et al.*, 2021). A presença incomum desses compostos em uma região natural (ECO) pode estar relacionada aos fenômenos de transporte presentes na atmosfera, que são responsáveis pela realocação de poluentes de uma região poluída para regiões com baixa poluição (Burkow; Kallenborn, 2000; Tirabassi; Costa; Rui, 2020), principalmente pelo ponto se situar em uma região cercada por áreas urbanas/industriais.

Os gráficos de *loadings* para PAC mostraram que o ácido araquídico (AAQ) e o éster 2,6-dicloro, 2-acetilfenílico do ácido benzoico (2,6-AB) foram os compostos representativos dessa região. AAQ é um ácido graxo encontrado em plantas e já foi identificado em óleo extraído das sementes da árvore *Esopse eminii* (Joven *et al.*, 2020). O composto também é usado na produção de filmes poliméricos para aplicações eletrônicas (Ren, L. *et al.*, 2005). Embora a Av. Antônio Carlos seja em uma região caracterizada pelo alto tráfego de veículos e por construções civis, há também uma área florestal próxima ao ponto de amostragem. Portanto, a presença de AAQ pode ser relacionada às emissões naturais da região de floresta ou do biodiesel de veículos. Compostos derivados do ácido benzoico, tais como 2,6-AB, são utilizados como conservantes na indústria alimentícia e de aromas (Pourasil *et al.*, 2022). A presença desse éster nas amostras pode ser relacionada às indústrias alimentícias próximas aos pontos de amostragem.

#### 4.5 Conclusões

O uso de GC×GC/Q-TOFMS, em combinação com extração DI-SPME e a aplicação de DoE e RSM na otimização de parâmetros relacionados ao processo de modulação térmica mostraram-se eficientes para a análise de VOCs/SVOCs em amostras de MP<sub>2,5</sub>.

Foram identificados 189 compostos orgânicos de classes tóxicas nas amostras de material particulado, como derivados de HPAs, plastificantes e compostos aromáticos

oxigenados, dos quais 1*H*-fenantro[9,10-*c*]pirazol, 6-tridecilo-xano-2-ona, 2,6-di-terc-butil-4-metilpirano e 2,4,5,7-tetrametilfenantreno representam a primeira detecção reportada na literatura, revelando lacunas críticas em dados ambientais e toxicológicos. Este estudo aprimorou metodologias analíticas ao desenvolver um protocolo GC×GC/Q-TOFMS sensível e de baixo consumo de solventes, alinhando-se à química verde. A presença de contaminantes como DBP e nitro-HPAs, associados à disfunção endócrina e dano celular, além de compostos emergentes como 6-tridecilo-xano-2-ona — sem estudos toxicológicos estabelecidos —, destaca riscos à saúde pública e a necessidade urgente de avaliação regulatória. Os resultados fornecem um banco de dados quimiométrico para investigar sinergias entre poluentes e subsidiar políticas de monitoramento, especialmente diante da detecção de derivados de HPAs até em áreas naturais, evidenciando a dispersão global de poluentes urbanos. Este trabalho avança a química analítica ambiental e alerta para a demanda por pesquisas translacionais que liguem exposição e desfechos clínicos, reforçando a urgência de atualizações em diretrizes de saúde e ambiente.

## CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese trouxe contribuições significativas tanto para a química analítica, com o desenvolvimento de novos métodos de análise por GC×GC, como para a metabolômica e a toxicologia, com a identificação de poluentes orgânicos de abrangência mundial.

O método GC×GC desenvolvido para a análise metabolômica de fibroblastos expostos ao GLYP-R permitiu a identificação de metabólitos de diversas classes, podendo ser aplicado tanto em análises *targeted* como *untargeted* de matrizes biológicas. O estudo foi inédito no uso de metabolômica na avaliação da exposição de HDFa ao GLYP-R. Através da aplicação de ferramentas quimiométricas (PCA e PLS-DA) e de diagnóstico (AUROC), o trabalho apontou potenciais biomarcadores da exposição ao herbicida. Em trabalhos futuros, esses metabólitos podem ser validados através de experimentos envolvendo animais e humanos.

A análise do material particulado coletado em Brumadinho forneceu o perfil de contaminantes atmosféricos daquela região, no período pós-desastre ambiental causado pelo rompimento da barragem de rejeitos de mineração situada no Córrego do Feijão. Compostos de toxicidade elevada, como HPAs, agrotóxicos, solventes orgânicos e outros compostos aromáticos foram identificados nas amostras. Embora não haja um estudo similar anterior ao desastre (para efeitos de comparação), a análise de varredura permitiu sugerir que há poluição atmosférica aumentada na região, principalmente pelo aumento do tráfego de caminhões utilizados nas ações de recuperação ambiental, somados àqueles usados nas atividades de mineração característica da região. A detecção de agrotóxicos nas amostras aponta para a volatilização de compostos adsorvidos na lama contaminada ou seu transporte atmosférico a partir de lavouras vizinhas, revelando um cenário de contaminação cruzada entre áreas afetadas pelo desastre e regiões agrícolas. Essas conclusões evidenciaram a necessidade de ações ambientalmente corretas, tanto nas atividades de reparo ao desastre como nas práticas agrícolas do município.

A aplicação de DoE e RSM na otimização de parâmetros de modulação térmica diminuiu significativamente o número de experimentos necessários para o desenvolvimento de métodos de análise por GC×GC. O método assim otimizado, aplicado na análise de material

particulado em Belo Horizonte, possibilitou a identificação de diversas classes de VOCs/SVOCs, como HPAs e seus derivados, plastificantes e outros compostos aromáticos. De acordo com a literatura, alguns desses compostos ainda não tinham sido reportados no material particulado, conferindo ineditismo ao trabalho. Este estudo demonstrou que mesmo áreas naturais de Belo Horizonte, como a Estação Ecológica da UFMG, considerada um refúgio de biodiversidade, estão expostas a poluentes atmosféricos críticos, transportados por fenômenos atmosféricos como correntes de vento e inversões térmicas a partir de fontes antrópicas próximas.

Como perspectivas futuras, pretende-se realizar a quantificação direcionada de poluentes prioritários em MP identificados nas amostras de material particulado. Além disso, analisar amostras da fase gasosa utilizando espuma de poliuretano (PUFs), com o objetivo de estabelecer correlações entre compostos encontrados nessa fase e no material particulado, ou até mesmo identificar novos compostos. Por fim, por meio da metabolômica, pretende-se investigar os efeitos desses contaminantes na saúde humana, principalmente dos poluentes inéditos no material particulado, visando ampliar bancos de dados toxicológicos, subsidiar políticas públicas e desenvolver potenciais biomarcadores para monitoramento populacional. A integração entre química ambiental, toxicologia sistêmica e epidemiologia molecular permitirá avanços na compreensão dos impactos da poluição atmosférica em cenários urbanos complexos, como Belo Horizonte, conectando exposição a desfechos clínicos e ecológicos.

## REFERÊNCIAS

AFSHARI, A.; GUNNARSEN, L.; CLAUSEN, P. A.; HANSEN, V. Emission of phthalates from PVC and other materials. **Indoor Air**, v. 14, n. 2, p. 120–128, 2004.

ALAVANJA, Michael C. R.; BONNER, Matthew R. Occupational Pesticide Exposures and Cancer Risk: A Review. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 15, n. 4, p. 238–263, maio 2012.

ALBINET, A.; LEOZ-GARZIANDIA, E.; BUDZINSKI, H.; VILLENAVE, E.; JAFFREZO, J. L. Nitrated and oxygenated derivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air of two French alpine valleys. Part 1: Concentrations, sources and gas/particle partitioning. **Atmospheric Environment**, v. 42, n. 1, p. 43–54, 2008.

ANASTASSIADOU, Maria; BELLISAI, Giulia; BERNASCONI, Giovanni; BRANCATO, Alba; CARRASCO CABRERA, Luis; FERREIRA, Lucien; GRECO, Luna; JARRAH, Samira; KAZOCINA, Aija; LEUSCHNER, Renata; MAGRANS, Jose Oriol; MIRON, Ileana; NAVE, Stefanie; PEDERSEN, Ragnor; REICH, Hermine; SANTOS, Miguel; SCARLATO, Alessia Pia; THEOBALD, Anne; VAGENENDE, Benedicte; VERANI, Alessia. Review of the existing maximum residue levels for 1,4-dimethylnaphthalene according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. **EFSA Journal**, v. 19, n. 5, p. 1–45, maio 2021. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2021.6597>.

ANSARI, Imtiyaz; PATIL, Diptesh T. A brief review on phytochemical and pharmacological profile of carissa spinarum l. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 11, n. 9, p. 12–18, 2018.

ANSBAUGH, Nathan; SHANNON, Jackilen; MORI, Motomi; FARRIS, Paige E.; GARZOTTO, Mark. Agent Orange as a risk factor for high-grade prostate cancer. **Cancer**, v. 119, n. 13, p. 2399–2404, jul. 2013.

API, A. M.; BELSITO, D.; BOTELHO, D.; BRUZE, M.; BURTON, G. A.; CANCELLIERI, M. A.; CHON, H.; DAGLI, M. L.; DATE, M.; DEKANT, W.; DEODHAR, C.; FRYER, A. D.; JONES, L.; JOSHI, K.; KUMAR, M.; LAPCZYNSKI, A.; LAVELLE, M.; LEE, I.; LIEBLER, D. C.; MOUSTAKAS, H.; NA, M.; PENNING, T. M.; RITACCO, G.; ROMINE, J.; SADEKAR, N.; SCHULTZ, T. W.; SELECHNIK, D.; SIDDIQI, F.; SIPES, I. G.; SULLIVAN, G.; THAKKAR, Y.; TOKURA, Y. RIFM fragrance ingredient safety assessment, ethyl decanoate, CAS Registry Number 110-38-3. **Food and Chemical Toxicology**, v. 167, n. November 2021, 2022.

ARISTILDE, Ludmilla; REED, Michael L.; WILKES, Rebecca A.; YOUNGSTER, Tracy; KUKURUGYA, Matthew A.; KATZ, Valerie; SASAKI, Clayton R.S. Glyphosate-induced specific and widespread perturbations in the metabolome of soil *Pseudomonas* species.



**Frontiers in Environmental Science**, v. 5, n. JUN, p. 266266, 20 jun. 2017. Disponível em: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org). Acesso em: 12 set. 2024.

ARNDT-JOVIN, Donna J; JOVIN, Thomas M. Fluorescence Labeling and Microscopy of DNA. In: TAYLOR, D.; WANG, Y. **Fluorescence Microscopy of Living Cells in Culture Part B. Quantitative Fluorescence Microscopy-Imaging and Spectroscopy**. Amsterdam: Elsevier, 1989. v. 30. p. 417–448. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091679X08609899>.

ARTATI, Anna; TOKARZ, Janina. Metabolomics applied to cultured human and animal cells. In: ADAMSKI, J. **Metabolomics for Biomedical Research**. Amsterdam: Elsevier, 2020. p. 137–157. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128127841000086>. Acesso em: 9 abr. 2023.

ARTHUR, Catherine L.; PAWLISZYN, Janusz. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, n. 19, p. 2145–2148, out. 1990.

AZIZ, A; AGAMUTHU, P; FAUZIAH, SH. Removal of bisphenol A and 2,4-Di-tert-butylphenol from landfill leachate using plant-based coagulant. **Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy**, v. 36, n. 10, p. 975–984, out. 2018.

BABU, T. Sudhakar; MARDER, Jonathan; TRIPURANTHAKAM, Sridevi; DIXON, George; GREENBERG, Bruce. Synergistic effects of a photooxidized polycyclic aromatic hydrocarbon and copper on photosynthesis and plant growth: Evidence that in vivo formation of reactive oxygen species is a mechanism of copper toxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 1351–1358, 2001.

BABU, T. Sudhakar; TRIPURANTHAKAM, Sridevi; GREENBERG, Bruce M. Biochemical responses of the aquatic higher plant *Lemna gibba* to a mixture of copper and 1,2-dihydroxyanthraquinone: Synergistic toxicity via reactive oxygen species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 3030–3036, 9 dez. 2005. Disponível em: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1897/05-073R.1>.

BAI, Shahla Hosseini; OGBOURNE, Steven M. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 19, p. 18988–19001, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-016-7425-3>.

BATISTA, Josimar M.; NEVES, Maria J.; MENEZES, Helvécio C.; CARDEAL, Zenilda L. Evaluation of amino acid profile by targeted metabolomics in the eukaryotic model under exposure of benzo[a]pyrene as the exclusive stressor. **Talanta**, v. 265, n. June, p. 124859, dez. 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914023006100>.

BATISTA, Josimar M.; NEVES, Maria J.; PEREIRA, Alline G.; GONÇALVES, Letícia S.; MENEZES, Helvécio C.; CARDEAL, Zenilda L. Metabolomic studies of amino acid analysis in *Saccharomyces* cells exposed to selenium and gamma irradiation. **Analytical Biochemistry**, v. 597, p. 113666, maio 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003269720301986>.

BENACHOUR, Nora; SÉRALINI, Gilles Eric. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells. **Chemical Research in Toxicology**, v. 22, n. 1, p. 97–105, 2009.

BHATT, Kinjal; DEJONG, Thibaut; DUBOIS, Lena M.; MARKEY, Alice; GENGLER, Nicolas; WAVREILLE, José; STEFANUTO, Pierre Hugues; FOCANT, Jean François. Lipid Serum Profiling of Boar-Tainted and Untainted Pigs Using GC×GC–TOFMS: An Exploratory Study. **Metabolites**, v. 12, n. 11, p. 0–9, 1 nov. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-1989/12/11/1111/htm>. Acesso em: 14 jan. 2024.

BOEGELSACK, Nadin; HAYES, Kevin; SANDAU, Court; WITHEY, Jonathan M.; MCMARTIN, Dena W.; O’SULLIVAN, Gwen. Method development for optimizing analysis of ignitable liquid residues using flow-modulated comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1656, p. 462495, out. 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967321006191>.

BONNER, Matthew R.; BEANE FREEMAN, Laura E.; HOPPIN, Jane A.; KOUTROS, Stella; SANDLER, Dale P.; LYNCH, Charles F.; HINES, Cynthia J.; THOMAS, Kent; BLAIR, Aaron; ALAVANJA, Michael C.R. Occupational Exposure to Pesticides and the Incidence of Lung Cancer in the Agricultural Health Study. **Environmental health perspectives**, v. 125, n. 4, p. 544–551, abr. 2017.

BORGGGAARD, Ole K; GIMSING, Anne Louise. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 441–456, 27 abr. 2008. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.1512>.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, maio 1976. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003269776905273>. Acesso em: 12 jan. 2024.

BRASIL. *Decreto Nº 4.074*. . Brasil: Presidência da República - Casa Civil. , 2002

BROUWER, Maartje; HUSS, Anke; VAN DER MARK, Marianne; NIJSSEN, Peter C.G.; MULLENERS, Wim M.; SAS, Antonetta M.G.; VAN LAAR, Teus; DE SNOO, Geert R.; KROMHOUT, Hans; VERMEULEN, Roel C.H. Environmental exposure to pesticides and the risk of Parkinson’s disease in the Netherlands. **Environment International**, v. 107, p. 100–110, out. 2017.

BURKOW, Ivan C; KALLENBORN, Roland. Sources and transport of persistent pollutants to the Arctic. **Toxicology Letters**, v. 112–113, p. 87–92, mar. 2000. Disponível em: [www.elsevier.com/locate/toxlet](http://www.elsevier.com/locate/toxlet). Acesso em: 3 jan. 2024.

CARDADOR, Maria Jose; GALLEGO, Mercedes. Simultaneous determination of 14 disinfection by-products in meat products using microwave-assisted extraction and static headspace coupled to gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1509, p. 9–15, ago. 2017. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967317308786>.

CARRANÇA, Thais. “A indústria virou pó”: como agro e mineração já superam manufatura no Brasil. **BBC News Brasil**, São Paulo, 12 abr. 2023. Disponível em: [https://www.bbc.com/portuguese/articles/cxr0v1vqdgqo#:~:text=Na contramão do mundo,-Ao se especializar&text=Enquanto no mundo 21%25 das,comércio internacional em produtos industriais.%22](https://www.bbc.com/portuguese/articles/cxr0v1vqdgqo#:~:text=Na%20contram%20do%20mundo,-Ao%20se%20especializar&text=Enquanto%20no%20mundo%2021%25%20das,com%C3%A9rcio%20internacional%20em%20produtos%20industriais.%22).

CELEN, Ilker H.; ONLER, Eray. Reducing Spray Drift. **Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management**. [S.l.]: InTech, 2011. .

CERNEI, Natalia; HEGER, Zbynek; GUMULEC, Jaromir; ZITKA, Ondrej; MASARIK, Michal; BABULA, Petr; ECKSCHLAGER, Tomas; STIBOROVA, Marie; KIZEK, Rene; ADAM, Vojtech. Sarcosine as a Potential Prostate Cancer Biomarker—A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 7, p. 13893–13908, 4 jul. 2013. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/14/7/13893>.

CERQUEIRA, Uillian Mozart Ferreira Mata; BEZERRA, Marcos Almeida; FERREIRA, Sérgio Luís Costa; DE JESUS ARAÚJO, Rodrigo; DA SILVA, Bruno Novaes; NOVAES, Cleber Galvão. Doehlert design in the optimization of procedures aiming food analysis – A review. **Food Chemistry**, v. 364, n. March, p. 130429, dez. 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814621014357>.

CH, Ratnasekhar; SINGH, Amit Kumar; PATHAK, Manoj Kumar; SINGH, Amarnath; KESAVACHANDRAN, Chandrasekharan Nair; BIHARI, Vipin; MUDIAM, Mohana Krishna Reddy. Saliva and urine metabolic profiling reveals altered amino acid and energy metabolism in male farmers exposed to pesticides in Madhya Pradesh State, India. **Chemosphere**, v. 226, p. 636–644, jul. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653519306034>.

CHANDRAN, C. Sarath; THOMAS, Sabu; UNNI, M R. Pesticides: Classification, Detection, and Degradation. **Organic Farming**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 71–87. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-04657-6\\_5](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-04657-6_5).

CHATURVEDI, Sadashiv; KUMAR, Amit; SINGH, Varsha; CHAKRABORTY, Biswameet; KUMAR, Rupesh; MIN, Liu. *Recent Advancement in Organic Aerosol Understanding: a Review of Their Sources, Formation, and Health Impacts*. **Water, Air, and Soil Pollution**. [S.l.]: Springer. Disponível em: <https://link.springer->

com.ez27.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11270-023-06772-0. Acesso em: 9 jan. 2024. , 27 nov. 2023

CHEN, Qiqing; MA, Cuizhu; LEE, Young Hwan; MARQUES DOS SANTOS, Mauricius; KIM, Min Sub; MENG, Ge; SNYDER, Shane Allen; LEE, Jae Seong; SHI, Huahong. Non-negligible Toxicity to Fish in the Early Life Stages Triggered by Aqueous Leachate of Takeaway Plastic Containers. **Environmental Science and Technology**, v. 58, n. 23, p. 10041–10051, 2024.

CHENG, Xuedan; CHU, Jian; ZHANG, Liandong; SUO, Zhirong; TANG, Wei. Intracellular and extracellular untargeted metabolomics reveal the effect of acute uranium exposure in HK-2 cells. **Toxicology**, v. 473, p. 153196, 15 maio 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0300483X22001081>. Acesso em: 9 abr. 2023.

CHEONG, Kok Whye; TAN, Chin Ping; MIRHOSSEINI, Hamed; CHIN, Sung Tong; CHE MAN, Yaakob B.; HAMID, Nazimah Sheikh Abdul; OSMAN, Azizah; BASRI, Mahiran. Optimization of equilibrium headspace analysis of volatile flavor compounds of malaysian soursop (*Annona muricata*): Comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOFMS). **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1481–1489, 15 abr. 2011.

CHONG, Jasmine; WISHART, David S.; XIA, Jianguo. Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 68, n. 1, p. 1–128, 20 dez. 2019. Disponível em: <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpbi.86>.

ČOLOVIĆ, Mirjana; KRSTIĆ, Danijela; PETROVIĆ, Sandra; LESKOVAC, Andreja; JOKSIĆ, Gordana; SAVIĆ, Jasmina; FRANKO, Mladen; TREBŠE, Polonca; VASIĆ, Vesna. Toxic effects of diazinon and its photodegradation products. **Toxicology Letters**, v. 193, n. 1, p. 9–18, mar. 2010. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378427409015367>.

COSTIGAN, Aoife; HOLLVILLE, Emilie; MARTIN, Seamus J. Discriminating Between Apoptosis, Necrosis, Necroptosis, and Ferroptosis by Microscopy and Flow Cytometry. **Current Protocols**, v. 3, n. 12, p. e951, 19 dez. 2023. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cpz1.951>. Acesso em: 6 set. 2024.

DAI, Ling-Wen; MENG, Jing; LI, Qian-Qian; SHI, Bin; SU, Gui-Jin; HUANG, Li-Hong. VOCs Emission Inventory and Variation Characteristics of Artificial Sources in Hubei Province in the Yangtze River Economic Belt. **Huan Jing Ke Xue**, v. 42, n. 3, p. 1039–1052, 8 mar. 2021. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33742900>.

DAVIES, J. E.; FREED, V. H.; ENOS, H. F.; BARQUET, A.; MORGADE, C.; DANAUSKAS, J. X. Minimizing occupational exposure to pesticides: epidemiological overview. **Residue reviews**, v. 75, p. 7–20, 1980.

DE LUCA, Arnaud; KÜSTER, Alice; TEA, Illa; DARMAUN, Dominique; ROZÉ, Jean-Christophe; ROBINS, Richard; HANKARD, Régis. Plasma amino acid pools in the umbilical cord artery show lower  $^{15}\text{N}$  natural isotope abundance relative to the maternal venous pools. **Isotopes in Environmental and Health Studies**, p. 1–8, set. 2020.

DELOVE TEGLADZA, Isaac; QI, Tong; CHEN, Tianyu; ALORKU, Kingdom; TANG, Sheng; SHEN, Wei; KONG, Dezhaio; YUAN, Aihua; LIU, Jianfeng; LEE, Hian Kee. Direct immersion single-drop microextraction of semi-volatile organic compounds in environmental samples: A review. **Journal of Hazardous Materials**, v. 393, p. 122403, jul. 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389420303915>.

DICH, Jan; ZAHM, Shelia Hoar; HANBERG, Annika; ADAMI, Hans Olov. Pesticides and cancer. **Cancer Causes and Control**, v. 8, n. 3, p. 420–443, 1997.

DO NASCIMENTO, Eliane; MENEZES, Helvécio C.; RESENDE, Rodrigo R.; GOULART, Vânia A.M.; CARDEAL, Zenilda L. Determination of Amino Acids in Plasma Samples of Preeclampsia Patients by Liquid Chromatography Coupled to High-Resolution Mass Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 10, p. 2136–2143, out. 2019.

DOS SANTOS, Rosimeire Resende; CARDEAL, Zenilda de Lourdes; MENEZES, Helvécio Costa. Phase distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and their oxygenated and nitrated derivatives in the ambient air of a Brazilian urban area. **Chemosphere**, v. 250, p. 126223, jul. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126223>. Acesso em: 5 ago. 2023.

DRABIŃSKA, Natalia; JELEŃ, Henryk H. Optimisation of headspace solid-phase microextraction with comprehensive two-dimensional gas chromatography–time of flight mass spectrometry (HS-SPME–GC  $\times$  GC–ToFMS) for quantitative analysis of volatile compounds in vegetable oils using statistical experi. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 110, p. 104595, 1 jul. 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889157522002137>. Acesso em: 14 jan. 2024.

DUKE, Stephen O. Glyphosate Degradation in Glyphosate-Resistant and -Susceptible Crops and Weeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 11, p. 5835–5841, 8 jun. 2011. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf102704x>.

DUKE, Stephen O.; POWLES, Stephen B. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. **Pest Management Science**, v. 64, n. 4, p. 319–325, 13 abr. 2008. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ps.1518>.

DUKE, Stephen O. Glyphosate: Uses Other Than in Glyphosate-Resistant Crops, Mode of Action, Degradation in Plants, and Effects on Non-target Plants and Agricultural Microbes. In: KNAAK, JAMES B. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 1–65. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/398\\_2020\\_53](https://doi.org/10.1007/398_2020_53).

EIL, Charles; NISULA, Bruce C. The binding properties of pyrethroids to human skin fibroblast androgen receptors and to sex hormone binding globulin. **Journal of Steroid Biochemistry**, v. 35, n. 3–4, p. 409–414, 1 mar. 1990. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002247319090248Q>. Acesso em: 13 dez. 2024.

EPA. *Technical Overview of Volatile Organic Compounds*. Disponível em: <https://www.epa.gov/indoor-air-quality-iaq/technical-overview-volatile-organic-compounds>. Acesso em: 15 jun. 2024.

ERARPAT, Sezin; BODUR, Süleyman; ÖZTÜRK ER, Elif; BAKIRDERE, Sezgin. Combination of ultrasound-assisted ethyl chloroformate derivatization and switchable solvent liquid-phase microextraction for the sensitive determination of <scp>L</scp>-methionine in human plasma by GC–MS. **Journal of Separation Science**, v. 43, n. 6, p. 1100–1106, mar. 2020.

ESTADÃO. Agronegócio: veja os 10 principais Estados produtores do Brasil (2024). **Estadão Agro**, São Paulo, 5 jun. 2023. Disponível em: [https://agro.estadao.com.br/summit-agro/agronegocio-veja-os-10-principais-estados-produtores-do-brasil#:~:text=Agronegócio: veja os 10 principais Estados produtores do Brasil \(2024\),-As três Regiões&text=image-23675-1,-As três regiões com maior faturament](https://agro.estadao.com.br/summit-agro/agronegocio-veja-os-10-principais-estados-produtores-do-brasil#:~:text=Agronegócio: veja os 10 principais Estados produtores do Brasil (2024),-As três Regiões&text=image-23675-1,-As três regiões com maior faturament).

EVE, Alicia Arredondo; TUNC, Elif; LIU, Yu Jeh; AGRAWAL, Saumya; YILMAZ, Huriye Erbak; EMREN, Sadık Volkan; AKÇAY, Filiz Akyıldız; MAINZER, Luidmila; ŽURAUSKIENĖ, Justina; ERDOGAN, Zeynep Madak. Identification of circulating diagnostic biomarkers for coronary microvascular disease in postmenopausal women using machine-learning techniques. **Metabolites**, v. 11, n. 6, p. 339, 25 maio 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-1989/11/6/339/htm>. Acesso em: 28 ago. 2024.

FENG, Miao; HU, Xiang; ZHOU, Li; ZHANG, Tianyue; ZHANG, Xiao; TAN, Qinwen; ZHOU, Zihang; DENG, Ye; SONG, Danlin; HUANG, Chengmin. Real-World Vehicle Volatile Organic Compound Emissions and Their Source Profile in Chengdu Based on a Roadside and Tunnel Study. **Atmosphere**, v. 12, n. 7, p. 861, 2 jul. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4433/12/7/861/htm>. Acesso em: 3 jan. 2024.

FIEHN, Oliver. Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. **Plant molecular biology**, v. 48, n. 1–2, p. 155–71, jan. 2002. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11860207>.

FLORES, Araceli Verônica; RIBEIRO, Joselito Nardy; NEVES, Antonio Augusto; QUEIROZ, Eliana Lopes Ribeiro De. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 111–124, dez. 2004.

GAINES, Richard Bradley. **Characterization of petroleum-based fuels using comprehensive two-dimensional gas chromatography**. 1998. 166 f. Thesis, University of Connecticut, Connecticut, 1998. Disponível em: <https://www.proquest.com/dissertations-theses/characterization-petroleum-based-fuels-using/docview/304429011/se->

2?accountid=9876.

GALAL, Aya; TALAL, Marwa; MOUSTAFA, Ahmed. Applications of machine learning in metabolomics: Disease modeling and classification. **Frontiers in Genetics**, v. 13, n. November, p. 1–25, 24 nov. 2022. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2022.1017340/full>.

GALON, Leandro; BRAGAGNOLO, Lucimara; KORF, Eduardo Pavan; DOS SANTOS, José Barbosa; BARROSO, Gabriela Madureira; RIBEIRO, Victor Hugo Vidal. Mobility and environmental monitoring of pesticides in the atmosphere — a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 25, p. 32236–32255, jul. 2021.

GARCÍA, Yesenia Mendoza; LEMOS, Eurico Eduardo Pinto De; RAMOS, Ana Luiza Coeli Cruz; REINA, Luisa Del Carmen Barrett; OLIVEIRA, Altamir Fernandes De; PAULA, Ana Cardoso Clemente Filha Ferreira De; MELO, Angelita Cristine De; AUGUSTI, Rodinei; ARAÚJO, Raquel Linhares Bello De; MELO, Júlio Onésio Ferreira. EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS POR SPME-HS E GC-MS – UM BREVE REFERENCIAL TEÓRICO. **Ciências Agrárias: o avanço da ciência no Brasil - Volume 1**. [S.l.]: Editora Científica Digital, 2021. p. 68–83.

GASNIER, Céline; DUMONT, Coralie; BENACHOUR, Nora; CLAIR, Emilie; CHAGNON, Marie Christine; SÉRALINI, Gilles Eric. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. **Toxicology**, Importante, v. 262, n. 3, p. 184–191, 2009.

GERSTER, Fabian Melchior; VERNEZ, David; WILD, Pascal Pierre; HOPF, Nancy Brenna. Hazardous substances in frequently used professional cleaning products. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 20, n. 1, p. 46–60, 14 jan. 2014. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1179/2049396713Y.0000000052>.

GHIO, Andrew J; SOUKUP, Joleen M; MADDEN, Michael C. The toxicology of air pollution predicts its epidemiology. **Inhalation Toxicology**, v. 30, n. 9–10, p. 327–334, ago. 2018.

GILON, P; TAPPAZ, M; REMACLE, C. Localization of GAD-like immunoreactivity in the pancreas and stomach of the rat and mouse. **Histochemistry**, v. 96, n. 4, p. 355–365, ago. 1991. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/BF00271357>. Acesso em: 10 set. 2024.

GLOBAL GLYPHOSATE STUDY. *Glyphosate*. Disponível em: <https://glyphosatestudy.org/faqs-glyphosate/#fn1>. Acesso em: 8 dez. 2024.

GOEMAN, Jelle J.; VAN DE GEER, Sara A.; DE KORT, Floor; VAN HOUWELINGEN, Hans C. A global test for groups of genes: testing association with a clinical outcome. **Bioinformatics**, v. 20, n. 1, p. 93–99, 1 jan. 2004. Disponível em:

<https://academic.oup.com/bioinformatics/article/20/1/93/229017>.

GOMEZ-CASATI, D.F.; GRISOLÍA, M.; BUSI, M.V. The Significance of Metabolomics in Human Health. In: KUMAR, DHAVIDRA; ANTONARAKIS, STYLIANOS. **Medical and Health Genomics**. Rosario: Elsevier, 2016. p. 89–100. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-420196-5.00007-1>.

GOULART, Vânia A.M.; SENA, Marcelo M.; MENDES, Thiago O.; MENEZES, Helvécio C.; CARDEAL, Zenilda L.; PAIVA, Maria J.N.; SANDRIM, Valéria C.; PINTO, Mauro C.X.; RESENDE, Rodrigo R. Amino Acid Biosignature in Plasma among Ischemic Stroke Subtypes. **BioMed Research International**, v. 2019, 2019.

GREENSHIELDS, Jack; SCHIRRMACHER, Paula; HARDEGE, Jörg D. Plastic additive oleamide elicits hyperactivity in hermit crabs. **Marine Pollution Bulletin**, v. 169, n. May, 2021.

GUAN, Wei-Jie; ZHENG, Xue-Yan; CHUNG, Kian Fan; ZHONG, Nan-Shan. Impact of air pollution on the burden of chronic respiratory diseases in China: time for urgent action. **The Lancet**, v. 388, n. 10054, p. 1939–1951, out. 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673616315975>.

GUIDA, Yago de Souza; MEIRE, Rodrigo Ornellas; TORRES, João Paulo Machado; MALM, Olaf. Air contamination by legacy and current-use pesticides in Brazilian mountains: An overview of national regulations by monitoring pollutant presence in pristine areas. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 19–30, nov. 2018.

HANFF, Erik; RUBEN, Stephan; KREUZER, Martin; BOLLENBACH, Alexander; KAYACELEBI, Arslan Arinc; DAS, Anibh Martin; VON VERSEN-HÖYNCK, Frauke; VON KAISENBERG, Constantin; HAFFNER, Dieter; ÜCKERT, Stefan; TSIKAS, Dimitrios. Development and validation of GC–MS methods for the comprehensive analysis of amino acids in plasma and urine and applications to the HELLP syndrome and pediatric kidney transplantation: evidence of altered methylation, transamidation, and arginase acti. **Amino Acids**, v. 51, n. 3, p. 529–547, 2019.

HAO, Youwu; CHEN, Hui; XU, Wenping; GAO, Jufang; YANG, Yun; ZHANG, Yang; TAO, Liming. Roundup® confers cytotoxicity through DNA damage and Mitochondria-Associated apoptosis induction. **Environmental Pollution**, v. 252, p. 917–923, 1 set. 2019.

HARRIS, Curtis C.; PEGG, Anthony E.; GRAFSTROM, Roland C.; TRUMP, Benjamin F. O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase activity in normal human tissues and cells. **Cancer Research**, v. 44, n. 7, p. 2855–2857, 1984.

HASSAAN, Mohamed A.; EL NEMR, Ahmed. Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 46, n. 3, p. 207–220, set. 2020. Disponível em:



<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1687428520300625>.

HAYASHI-TAKAGI, Akiko; VAWTER, Marquis P.; IWAMOTO, Kazuya. Peripheral Biomarkers Revisited: Integrative Profiling of Peripheral Samples for Psychiatric Research. **Biological Psychiatry**, v. 75, n. 12, p. 920–928, jun. 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000632231300944X>.

HAYES, John D.; MCLELLAN, Lesley I. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. **Free Radical Research**, v. 31, n. 4, p. 273–300, 7 jan. 1999. Disponível em: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10715769900300851>.

HE, Ying Jie; QIN, Yan; ZHANG, Tie Li; ZHU, Yan Yan; WANG, Zhao Jie; ZHOU, Zhong Shun; XIE, Tian Zhen; LUO, Xiao Dong. Migration of (non-) intentionally added substances and microplastics from microwavable plastic food containers. **Journal of Hazardous Materials**, v. 417, n. May, p. 126074, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126074>.

HE, Zengyou. Biomarker discovery. In: HE, ZENGYOU. **Data Mining for Bioinformatics Applications**. Amsterdam: Elsevier, 2015. p. 69–78. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081001004000089>.

HELANDER, Marjo; SALONIEMI, Irma; OMACINI, Marina; DRUILLE, Magdalena; SALMINEN, Juha-pekka; SAIKKONEN, Kari. Glyphosate decreases mycorrhizal colonization and affects plant-soil feedback. **Science of the Total Environment**, v. 642, p. 285–291, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.377>.

HEU, Celine; ELIE-CAILLE, Celine; MOUGEY, Virginie; LAUNAY, Sophie; NICOD, Laurence. A step further toward glyphosate-induced epidermal cell death: Involvement of mitochondrial and oxidative mechanisms. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 34, n. 2, p. 144–153, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2012.02.010>.

HIGGINS KEPLER, Emily A.; JENKINS, Carrie L.; DAVIS, Trenton J.; BEAN, Heather D. *Advances in the application of comprehensive two-dimensional gas chromatography in metabolomics*. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**. [S.l: s.n.], 2018

HMBDB. *N-Acetyl-L-methionine*. Disponível em: <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0011745>. Acesso em: 28 ago. 2024.

HSIAO, Yun Chung; JOHNSON, Gregory; YANG, Yifei; LIU, Chih Wei; FENG, Jiahao; ZHAO, Haoduo; MOY, Sheryl S.; HARPER, Kathryn M.; LU, Kun. Evaluation of neurological behavior alterations and metabolic changes in mice under chronic glyphosate exposure. **Archives of Toxicology**, v. 98, n. 1, p. 277–288, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03622-0>.

HU, Lu; GAO, Yu; CAO, Yunfeng; ZHANG, Yinxu; XU, Minghao; WANG, Yuanyuan; JING, Yu; GUO, Shengnan; JING, Fangyu; HU, Xiaodan; ZHU, Zhitu. Identification of arginine and its “Downstream” molecules as potential markers of breast cancer. **IUBMB Life**, v. 68, n. 10, p. 817–822, 2016.

HUŠEK, Petr. *Chloroformates in gas chromatography as general purpose derivatizing agents*. **Journal of Chromatography B: Biomedical Applications**. [S.l.]: Elsevier. , out. 1998

HUSEK, Petr; SIMEK, Petr. Alkyl Chloroformates in Sample Derivatization Strategies for GC Analysis. Review on a Decade Use of the Reagents as Esterifying Agents. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 2, n. 1, p. 23–43, 2006. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1573-4129&volume=2&issue=1&spage=23>.

IBAMA. *Relatórios de comercialização de agrotóxicos - Boletim 22*. . Brasília: [s.n.], 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>.

ICH. *ICH Q2(R2) Guideline on validation of analytical procedures*. . Amsterdam: [s.n.], 2024. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline>.

IGNÁCIO, Amanda da Cunha; GUERRA, Andressa Maria dos Reis; DE SOUZA-SILVA, Thaiany Goulart; CARMO, Mariana Araújo Vieira Do; PAULA, Hudsara Aparecida de Almeida. Effects of glyphosate exposure on intestinal microbiota, metabolism and microstructure: a systematic review. **Food & Function**, v. 15, n. 15, p. 7757–7781, 29 jul. 2024. Disponível em: <https://pubs-rsc-org.ez27.periodicos.capes.gov.br/en/content/articlehtml/2024/fo/d4fo00660g>. Acesso em: 28 ago. 2024.

ITO, Kenichi; TANAKA, Kiyotaka; NISHIBE, Yukinobu; HASEGAWA, Junichi; UENO, Hiroshi. GABA-synthesizing enzyme, GAD67, from dermal fibroblasts: Evidence for a new skin function. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1770, n. 2, p. 291–296, 1 fev. 2007. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030441650600290X>. Acesso em: 10 set. 2024.

IWAHASHI, Naoyuki; INAI, Yoko; MINAKATA, Shiho; SAKURAI, Sho; MANABE, Shino; ITO, Yukishige; INO, Kazuhiko; IHARA, Yoshito. C-Mannosyl tryptophan increases in the plasma of patients with ovarian cancer. **Oncology Letters**, 2019.

JALILI, Vahid; BARKHORDARI, Abdullah; NOROUZIAN BAGHANI, Abbas. The role of microextraction techniques in occupational exposure assessment. A review. **Microchemical Journal**, v. 150, p. 104086, nov. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X19310197>.

JELLALI, Rachid; GILARD, Françoise; PANDOLFI, Vittoria; LEGENDRE, Audrey; FLEURY, Marie-José; PAULLIER, Patrick; LEGALLAIS, Cécile; LECLERC, Eric. Metabolomics-on-a-chip approach to study hepatotoxicity of DDT, permethrin and their mixtures. **Journal of Applied Toxicology**, v. 38, n. 8, p. 1121–1134, ago. 2018.

JEONG, Ga-Yeong; KIM, Jun-Ho; HONG, Yong-seok; KIM, Pil-Gon; EOM, In-Yong. Volatile organic compounds sampling and analysis using needle trap device. **Journal of Chromatography Open**, v. 5, p. 100112, maio 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2772391723000361>.

JOHNSON, Mark A.; VIDONI, Sara; DURIGON, Romina; PEARCE, Sarah F.; RORBACH, Joanna; HE, Jiuya; BREA-CALVO, Gloria; MINCZUK, Michal; REYES, Aurelio; HOLT, Ian J.; SPINAZZOLA, Antonella. Amino acid starvation has opposite effects on mitochondrial and cytosolic protein synthesis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, 2014.

JOVEN, Jane Marie O.; GADIAN, Joven T.; PEREZ, Marshiela A.; CAINGLES, Jen G.; MANSALAYNON, Agustin P.; IDO, Alexander L.; ARAZO, Renato O. Optimized ultrasonic-assisted oil extraction and biodiesel production from the seeds of *Maesopsis eminii*. **Industrial Crops and Products**, v. 155, n. April, p. 112772, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112772>.

KAIKITI, Chrystalla; STYLIANOU, Marinos; AGAPIOU, Agapios. TD-GC/MS analysis of indoor air pollutants (VOCs, PM) in hair salons. **Chemosphere**, v. 294, p. 133691, maio 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653522001849>.

KAKAVANDI, Babak; RAFIEMANESH, Hossein; GIANNAKIS, Stefanos; BEHESHTAEEN, Fatemeh; SAMOILI, Sofia; HASHEMI, Masoumeh; ABDI, Fatemeh. Establishing the relationship between Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) exposure and male infertility: A systematic review. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 250, p. 114485, jan. 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651322013252>.

KASPAR, Hannelore; DETTMER, Katja; GRONWALD, Wolfram; OEFNER, Peter J. Advances in amino acid analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, n. 2, p. 445–452, jan. 2009.

KAUR, Prabhjit; CHANDEL, Madhu; KUMAR, Subodh; KUMAR, Neeraj; SINGH, Bikram; KAUR, Satwinderjeet. Modulatory role of alizarin from *Rubia cordifolia* L. against genotoxicity of mutagens. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 320–325, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.10.019>.

KEGG. *Alanine, aspartate and glutamate metabolism - reference pathway*. Disponível em: <https://www.kegg.jp/pathway/map00250+C00334>. Acesso em: 10 set. 2024a.

KEGG. *Arachidonic acid*. Disponível em: <https://www.kegg.jp/entry/C00219>. Acesso em: 28

ago. 2024b.

KEGG. *Arginine and proline metabolism - reference pathway*. Disponível em: <https://www.kegg.jp/pathway/map00330>. Acesso em: 28 ago. 2024c.

KEGG. *Fatty acid biosynthesis - reference pathway*. Disponível em: <https://www.kegg.jp/pathway/map00061+C01530>. Acesso em: 28 ago. 2024d.

KEGG. *Glutathione metabolism - reference pathway*. Disponível em: <https://www.kegg.jp/pathway/map00480+C00051>. Acesso em: 29 ago. 2024e.

KEGG. *Necroptosis - reference pathway*. Disponível em: <https://www.kegg.jp/pathway/map04217+C00219>. Acesso em: 29 ago. 2024f.

KHAN, Amjad P.; RAJENDIRAN, Thekkelnaycke M.; ATEEQ, Bushra; ASANGANI, Irfan A.; ATHANIKAR, Jyoti N.; YOCUM, Anastasia K.; MEHRA, Rohit; SIDDIQUI, Javed; PALAPATTU, Ganesh; WEI, John T.; MICHAILIDIS, George; SREEKUMAR, Arun; CHINNAIYAN, Arul M. The role of sarcosine metabolism in prostate cancer progression. **Neoplasia (United States)**, v. 15, n. 5, p. 491–501, maio 2013.

KIM, Sooah; LEE, Do Yup; WOHLGEMUTH, Gert; PARK, Hyong Seok; FIEHN, Oliver; KIM, Kyoung Heon. Evaluation and optimization of metabolome sample preparation methods for *Saccharomyces cerevisiae*. **Analytical Chemistry**, v. 85, n. 4, p. 2169–2176, 2013.

KIRKHORN, S. R.; SCHENKER, M. B. Current health effects of agricultural work: respiratory disease, cancer, reproductive effects, musculoskeletal injuries, and pesticide-related illnesses. **Journal of agricultural safety and health**, v. 8, n. 2, p. 199–214, maio 2002.

KLIK, Andreas; ROSNER, Josef. Long-term experience with conservation tillage practices in Austria: Impacts on soil erosion processes. **Soil and Tillage Research**, v. 203, p. 104669, set. 2020.

KOUNO, Yousuke; ANRAKU, Makoto; YAMASAKI, Keishi; OKAYAMA, Yoshiro; IOHARA, Daisuke; ISHIMA, Yu; MARUYAMA, Toru; KRAGH-HANSEN, Ulrich; HIRAYAMA, Fumitoshi; OTAGIRI, Masaki. N-acetyl-l-methionine is a superior protectant of human serum albumin against photo-oxidation and reactive oxygen species compared to N-acetyl-l-tryptophan. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1840, n. 9, p. 2806–2812, 1 set. 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304416514001470>. Acesso em: 28 ago. 2024.

KRAUSE, Jannike; HAANGE, Sven-Bastiaan; SCHÄPE, Stephanie S.; ENGELMANN, Beatrice; ROLLE-KAMPCZYK, Ulrike; FRITZ-WALLACE, Katarina; WANG, Zhipeng; JEHLICH, Nico; TÜRKOWSKY, Dominique; SCHUBERT, Kristin; PÖPPE, Judith; BOTE, Katrin; RÖSLER, Uwe; HERBERTH, Gunda; VON BERGEN, Martin. The

glyphosate formulation Roundup® LB plus influences the global metabolome of pig gut microbiota in vitro. **Science of The Total Environment**, v. 745, p. 140932, 25 nov. 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969720344612>. Acesso em: 12 set. 2024.

KRAUSE, Marcelo Rodrigo; FERREIRA DE ARAUJO, Fernanda; FERREIRA MOREIRA, Karoliny; OLIVEIRA DE ARAÚJO, Nicolás; PAULO DE JESUS TELLO, Jean; NAYANA DE SOUSA SANTOS, Mirelle; LUIZ FINGER, Fernando. Carbohydrate metabolism dynamic in chlorpropham- and 1,4-dimethylnaphthalene-treated potatoes and its effect on the browning of French fries. **Food Chemistry**, v. 429, n. July 2022, p. 136718, 15 dez. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136718>.

KULSING, Chadin; NOLVACHAI, Yada; MARRIOTT, Philip J. Concepts, selectivity options and experimental design approaches in multidimensional and comprehensive two-dimensional gas chromatography. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 130, p. 115995, 1 set. 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993620302247>. Acesso em: 13 jan. 2024.

LAMBA, Ruchi; SARKAR, Sudipta; KUMAR, Surendra. Solid acid catalyst supported synthesis and fuel properties of ethyl decanoate. **Fuel**, v. 222, n. February, p. 98–104, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.02.131>.

LEGGETT, Carmine S.; DOLL, Mark A.; SALAZAR-GONZÁLEZ, Raúl A.; HABIL, Mariam R.; TRENT, John O.; HEIN, David W. Identification and characterization of potent, selective, and efficacious inhibitors of human arylamine N-acetyltransferase 1. **Archives of Toxicology**, v. 96, n. 2, p. 511–524, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03194-x>.

LEÓN, V.M.; LLORCA-PÓRCEL, J.; ÁLVAREZ, B.; COBOLLO, M.A.; MUÑOZ, S.; VALOR, I. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 558, n. 1–2, p. 261–266, fev. 2006. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267005018507>.

LI, Jian-Rong; WANG, Feng-Kang; HE, Chi; HUANG, Cenyang; XIAO, Hang. Catalytic total oxidation of toluene over carbon-supported Cu Co oxide catalysts derived from Cu-based metal organic framework. **Powder Technology**, v. 363, p. 95–106, mar. 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0032591019311659>.

LI, Ming Hui; XU, Hua Dong; LIU, Yan; CHEN, Ting; JIANG, Lei; FU, Yong Hong; WANG, Jun Song. Multi-tissue metabolic responses of goldfish (: *Carassius auratus*) exposed to glyphosate-based herbicide. **Toxicology Research**, v. 5, n. 4, p. 1039–1052, 2016.

LI, Nan; ZHANG, Haoran; ZHU, Shuhan; LIAO, Hong; HU, Jianlin; TANG, Keqin; FENG, Weihang; ZHANG, Ruhan; SHI, Chong; XU, Hongmei; CHEN, Lei; LI, Jiandong. Secondary PM2.5 dominates aerosol pollution in the Yangtze River Delta region: Environmental and

health effects of the Clean air Plan. **Environment International**, v. 171, p. 107725, jan. 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412022006523>.

LI, Yu-Wei; MA, Wan-Li. Photocatalytic oxidation technology for indoor air pollutants elimination: A review. **Chemosphere**, v. 280, p. 130667, out. 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653521011383>.

LIU, Tiantian; XU, Yaya; HU, Shaohua; FENG, Shuyun; ZHANG, Hong; ZHU, Xiaodong; WANG, Chunxia. Alanine, a potential amino acid biomarker of pediatric sepsis: a pilot study in PICU. **Amino Acids**, v. 56, n. 1, p. 1–12, 1 dez. 2024. Disponível em: <https://link-springer-com.ez27.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s00726-024-03408-3>. Acesso em: 16 dez. 2024.

LIU, Xiwen; HU, Qingkun; TONG, Yuanjun; LI, Nan; OUYANG, Sai; YANG, Huangsheng; XU, Jianqiao; OUYANG, Gangfeng. Sample bottle coated with sorbent as a novel solid-phase extraction device for rapid on-site detection of BTEX in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 1152, p. 338226, abr. 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267021000520>.

LIU, Zaiyou; PHILLIPS, John B. Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography using an On-Column Thermal Modulator Interface. **Journal of Chromatographic Science**, v. 29, n. 6, p. 227–231, 1 jun. 1991. Disponível em: <https://academic.oup.com/chromsci/article-lookup/doi/10.1093/chromsci/29.6.227>.

LOOMIS, Dana; GUYTON, Kathryn; GROSSE, Yann; EL GHISSASI, Fatiha; BOUVARD, Véronique; BENBRAHIM-TALLAA, Lamia; GUHA, Neela; MATTOCK, Heidi; STRAIF, Kurt. Carcinogenicity of lindane, DDT, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **The Lancet Oncology**, v. 16, n. 8, p. 891–892, ago. 2015.

LUO, Dan; ZHOU, Tingting; TAO, Yun; FENG, Yaqian; SHEN, Xiaoli; MEI, Surong. Exposure to organochlorine pesticides and non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis of observational studies. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 25768, set. 2016.

LYU, Xiaopu; GUO, Hai; WANG, Yu; ZHANG, Fan; NIE, Kun; DANG, Juan; LIANG, Zhirong; DONG, Shuhao; ZEREN, Yangzong; ZHOU, Beining; GAO, Wei; ZHAO, Shizhen; ZHANG, Gan. Hazardous volatile organic compounds in ambient air of China. **Chemosphere**, v. 246, p. 125731, maio 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653519329728>.

MA, Shengtao; CHEN, Haojia; YUE, Congcong; LIU, Ranran; TANG, Jian; LIN, Meiqing; LI, Guiying; YANG, Yan; YU, Yingxin; AN, Taicheng. Atmospheric occurrences of nitrated and hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons from typical e-waste dismantling sites. **Environmental Pollution**, v. 308, n. June, p. 119713, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119713>. Acesso em: 10 jan. 2024.

- MACHADO, Mauro C.S.; LOYOLA, Josiane; QUITERIO, Simone L.; DA ROCHA, Gisele O.; DE ANDRADED, Jailson B.; ARBILLA, Graciela. Particle-associated polycyclic aromatic hydrocarbons and their dry deposition fluxes from a Bus-Station in the Rio de Janeiro Metropolitan area, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 9, p. 1565–1573, 2009.
- MADAJ, R; SOBIECKA, E.; KALINOWSKA, H. Lindane, kepone and pentachlorobenzene: chloropesticides banned by Stockholm convention. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 15, n. 2, p. 471–480, fev. 2018.
- MAEDA, Jun; HIGASHIYAMA, Masahiko; IMAIZUMI, Akira; NAKAYAMA, Tomio; YAMAMOTO, Hiroshi; DAIMON, Takashi; YAMAKADO, Minoru; IMAMURA, Fumio; KODAMA, Ken. Possibility of multivariate function composed of plasma amino acid profiles as a novel screening index for non-small cell lung cancer: a case control study. **BMC Cancer**, v. 10, n. 1, p. 690, 2010.
- MAGNUSSON, B.; ÖRNEMARK, U. (Org.). **Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics**. 2. ed. [S.l.]: Eurachem, 2014. Disponível em: <http://www.eurachem.org>.
- MAGRÌ, Davide; VERONESI, Marina; SÁNCHEZ-MORENO, Paola; TOLARDO, Valentina; BANDIERA, Tiziano; POMPA, Pier Paolo; ATHANASSIOU, Athanassia; FRAGOULI, Despina. PET nanoplastics interactions with water contaminants and their impact on human cells. **Environmental Pollution**, v. 271, 2021.
- MAJEWSKI, Michael S; CAPEL, Paul D. **Pesticides in the atmosphere: distribution, trends, and governing factors**. 1. ed. Chelsea, MI; Boca Raton, FL: Ann Arbor Press, Inc.; CRC Press, 1996. v. 1.
- MANAHAN, Stanley E. **Fundamentals of Environmental Chemistry: Organic Air Pollutants and Photochemical Smog**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2001.
- MARKET RESEARCH FUTURE. *Glyphosate Market*. Disponível em: [https://www.marketresearchfuture.com/reports/glyphosate-market-5740#:~:text=Glyphosate Market Overview,period \(2024 - 2032\)](https://www.marketresearchfuture.com/reports/glyphosate-market-5740#:~:text=Glyphosate Market Overview,period (2024 - 2032).). Acesso em: 8 dez. 2024.
- MARROCCO, Ilaria; ALTIERI, Fabio; PELUSO, Ilaria. Measurement and Clinical Significance of Biomarkers of Oxidative Stress in Humans. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, n. 1, 18 jan. 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2017/6501046>.
- MARSEE, Kevin; WOODRUFF, Tracey J.; AXELRAD, Daniel A.; CALAFAT, Antonia M.; SWAN, Shanna H. Estimated daily phthalate exposures in a population of mothers of male infants exhibiting reduced anogenital distance. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 6, p. 805–809, jun. 2006. Disponível em: <https://ehp-niehs->

nih.ez27.periodicos.capes.gov.br/doi/10.1289/ehp.8663. Acesso em: 2 jan. 2024.

MARTÍNEZ, Ana; HERNÁNDEZ, Alejandro; MORAGA, Carlos; TEJERO, Paula; CÓRDOBA, María de Guía; MARTÍN, Alberto. Detection of volatile organic compounds associated with mechanical damage in apple cv. 'Golden Delicious' by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and GC-MS analysis. **LWT**, v. 172, p. 114213, dez. 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643822011483>.

MARTINI, Claudia N.; GABRIELLI, Matías; VILA, María del C. A commercial formulation of glyphosate inhibits proliferation and differentiation to adipocytes and induces apoptosis in 3T3-L1 fibroblasts. **Toxicology in Vitro**, v. 26, n. 6, p. 1007–1013, 1 set. 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0887233312001063>. Acesso em: 29 ago. 2024.

MARTINS-GOMES, Carlos; SILVA, Tânia L.; ANDREANI, Tatiana; SILVA, Amélia M. *Glyphosate vs. Glyphosate-Based Herbicides Exposure: A Review on Their Toxicity*. **Journal of Xenobiotics**. [S.l.]: Multidisciplinary Digital Publishing Institute. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2039-4713/12/1/3/htm>. Acesso em: 27 nov. 2024. , 17 jan. 2022

MARWOOD, Christopher A.; SMITH, Ralph E.H.; SOLOMON, Keith R.; CHARLTON, Murray N.; GREENBERG, Bruce M. Intact and photomodified polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit photosynthesis in natural assemblages of Lake Erie phytoplankton exposed to solar radiation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 44, n. 3, p. 322–327, 1999.

MAZUR, Christopher S.; MARCHITTI, Satori A.; ZASTRE, Jason. P-glycoprotein inhibition by the agricultural pesticide propiconazole and its hydroxylated metabolites: Implications for pesticide–drug interactions. **Toxicology Letters**, v. 232, n. 1, p. 37–45, jan. 2015.

MENEZES, Helvécio Costa; DE LOURDES CARDEAL, Zenilda. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from ambient air particulate matter using a cold fiber solid phase microextraction gas chromatography–mass spectrometry method. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 21, p. 3300–3305, maio 2011.

MESNAGE, R.; BERNAY, B.; SÉRALINI, G. E. Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. **Toxicology**, v. 313, n. 2–3, p. 122–128, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2012.09.006>.

MESNAGE, R.; TEIXEIRA, Maxime; MANDRIOLI, Daniele; FALCIONI, Laura; DUCARMON, Quinten Raymond; ZWITTINK, Romy Daniëlle; MAZZACUVA, Francesca; CALDWELL, Anna; HALKET, John; AMIEL, Caroline; PANOFF, Jean-Michel; BELPOGGI, Fiorella; ANTONIOU, Michael Nicolas. Use of Shotgun Metagenomics and Metabolomics to Evaluate the Impact of Glyphosate or Roundup MON 52276 on the Gut Microbiota and Serum Metabolome of Sprague-Dawley Rats. **Environmental Health Perspectives**, v. 129, n. 1, p. 1–15, jan. 2021. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/EHP6990>.



- MESNAGE, Robin; ANTONIOU, Michael N. Molecular toxicity study on glyphosate, Roundup MON 52276 and a low-dose pesticide mixture administered to adult Female rats for 90 days. **All Life**, v. 15, n. 1, p. 1273–1275, 31 dez. 2022. Disponível em: <https://www-tandfonline-com.ez27.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1080/26895293.2022.2156626>. Acesso em: 12 set. 2024.
- MESNAGE, Robin; BENBROOK, Charles; ANTONIOU, Michael N. Insight into the confusion over surfactant co-formulants in glyphosate-based herbicides. **Food and Chemical Toxicology**, v. 128, p. 137–145, 1 jun. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691519301814>. Acesso em: 18 ago. 2024.
- MINK, Pamela J.; MANDEL, Jack S.; SCEURMAN, Bonnielin K.; LUNDIN, Jessica I. Epidemiologic studies of glyphosate and cancer: A review. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 63, n. 3, p. 440–452, 1 ago. 2012. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0273230012000943>. Acesso em: 28 ago. 2024.
- MIYAZAKI, T.; OKADA, K.; YAMASHITA, T.; MIYAZAKI, M. Two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry-based serum metabolic fingerprints of neonatal calves before and after first colostrum ingestion. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4354–4364, 1 jun. 2017.
- MODA, Haruna Musa; ANANG, Daniel Mensah; MOSES, Newton; MANJO, Felix Mandoli; JOSHUA, Victoria Ibukun; CHRISTOPHER, Nwadike; DOKA, Paulina; DANJIN, Mela. Pesticide Safety Awareness among Rural Farmers in Dadinkowa, Gombe State, Nigeria. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 21, 2022.
- MOHANDOSS, Sonaimuthu; STALIN, Thambusamy. A new fluorescent PET sensor probe for Co<sup>2+</sup> ion detection: computational, logic device and living cell imaging applications. **RSC Advances**, v. 7, n. 27, p. 16581–16593, 2017.
- MONSANTO. *ROUNDUP ORIGINAL DL*. [S.l: s.n.], 2023.
- MURRELL, Kyra A.; DORMAN, Frank L. A comparison of liquid-liquid extraction and stir bar sorptive extraction for multiclass organic contaminants in wastewater by comprehensive two-dimensional gas chromatography time of flight mass spectrometry. **Talanta**, v. 221, p. 121481, jan. 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914020307724>.
- MYKHAILENKO, Olha; IVANAUSKAS, Liudas; BEZRUK, Ivan; LESYK, Roman; GEORGIYANTS, Victoriya. Comparative Investigation of Amino Acids Content in the Dry Extracts of *Juno bucharica*, *Gladiolus Hybrid Zefir*, *Iris Hungarica*, *Iris Variegata* and *Crocus Sativus* Raw Materials of Ukrainian Flora. **Scientia Pharmaceutica**, v. 88, n. 1, p. 8, 2020.
- NAGY, Károly; TESSEMA, Roba Argaw; BUDNIK, Lygia Therese; ÁDÁM, Balázs. Comparative cyto- and genotoxicity assessment of glyphosate and glyphosate-based

herbicides in human peripheral white blood cells. **Environmental Research**, v. 179, n. October, p. 108851, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108851>.

NASCIMENTO, Madson M.; DA ROCHA, Gisele O.; DE ANDRADE, Jailson B. Pesticides in fine airborne particles: from a green analysis method to atmospheric characterization and risk assessment. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 2267, 23 maio 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-02518-1>.

NASCIMENTO, Madson M.; DA ROCHA, Gisele O.; DE ANDRADE, Jailson B. Pesticides in the atmospheric environment: an overview on their determination methodologies. **Analytical Methods**, v. 10, n. 37, p. 4484–4504, set. 2018. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C8AY01327F>.

NAUMOSKA, Katerina; JUG, Urška; METLIČAR, Valentina; VOVK, Irena. Oleamide, a bioactive compound, unwittingly introduced into the human body through some plastic food/beverages and medicine containers. **Foods**, v. 9, n. 5, 2020.

NIE, Jing; TENG, Yuan-Jie; LI, Zu-Guang; LIU, Wen-Han; LEE, Maw-Rong. Magnetic nanoparticles used in headspace extraction coupled with DSI-GC-IT/MS for analysis of VOCs in dry Traditional Chinese Medicine. **Chinese Chemical Letters**, v. 27, n. 1, p. 178–184, jan. 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1001841715003575>.

NISHINO, Noriko; AREY, Janet; ATKINSON, Roger. Yields of Glyoxal and Ring-Cleavage Co-Products from the OH Radical-Initiated Reactions of Naphthalene and Selected Alkyl naphthalenes. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n. 22, p. 8554–8560, 15 nov. 2009. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es902018v>.

NISHIUMI, Shin; SHINOHARA, Masakazu; IKEDA, Atsuki; YOSHIE, Tomoo; HATANO, Naoya; KAKUYAMA, Saori; MIZUNO, Shigeto; SANUKI, Tsuyoshi; KUTSUMI, Hiromu; FUKUSAKI, Eiichiro; AZUMA, Takeshi; TAKENAWA, Tadaomi; YOSHIDA, Masaru. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for pancreatic cancer. **Metabolomics**, v. 6, n. 4, p. 518–528, dez. 2010.

NOBLE, Christopher A.; VANDERPOOL, Robert W.; PETERS, Thomas M.; MCELROY, Frank F.; GEMMILL, David B.; WIENER, Russell W. Federal Reference and Equivalent Methods for Measuring Fine Particulate Matter. **Aerosol Science and Technology**, v. 34, n. 5, p. 457–464, jan. 2001.

OEC TREND EXPLORER. *Importers of Pesticides (2022)*. Disponível em: <https://oec.world/en/profile/hs/pesticides?yearSelector1=2022>. Acesso em: 3 jan. 2025.

OUYANG, Gangfeng; JIANG, Ruifen (Org.). **Solid Phase Microextraction**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2017.

PALANISWAMY, Saranya; ABASS, Khaled; RYSÄ, Jaana; ODLAND, Jon Øyvind; GRIMALT, Joan O.; RAUTIO, Arja; JÄRVELIN, Marjo Riitta. Non-occupational exposure to pesticides and health markers in general population in Northern Finland: Differences between sexes. **Environment International**, v. 156, n. March, 2021.

PANG, Zhiqiang; LU, Yao; ZHOU, Guangyan; HUI, Fiona; XU, Lei; VIAU, Charles; SPIGELMAN, Aliya F; MACDONALD, Patrick E; WISHART, David S; LI, Shuzhao; XIA, Jianguo. MetaboAnalyst 6.0: towards a unified platform for metabolomics data processing, analysis and interpretation. **Nucleic Acids Research**, n. April, p. 398–406, 2024.

PASIKANTI, Kishore Kumar; ESUVARANATHAN, Kesavan; HO, Paul C.; MAHENDRAN, Ratha; KAMARAJ, Revathi; WU, Qing Hui; CHIONG, Edmund; CHAN, Eric Chun Yong. Noninvasive Urinary Metabonomic Diagnosis of Human Bladder Cancer. **Journal of Proteome Research**, v. 9, n. 6, p. 2988–2995, 4 jun. 2010. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/pr901173v>.

PASIKANTI, Kishore Kumar; NORASMARA, Juwita; CAI, Shirong; MAHENDRAN, Ratha; ESUVARANATHAN, Kesavan; HO, Paul C.; CHAN, Eric Chun Yong. Metabolic footprinting of tumorigenic and nontumorigenic uroepithelial cells using two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 398, n. 3, p. 1285–1293, 5 out. 2010. Disponível em: <https://link-springer-com.ez27.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s00216-010-4055-3>. Acesso em: 31 mar. 2023.

PATERSON, C.A.; SHARPE, R.A.; TAYLOR, T.; MORRISSEY, K. Indoor PM2.5, VOCs and asthma outcomes: A systematic review in adults and their home environments. **Environmental Research**, v. 202, p. 111631, 1 nov. 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013935121009257>. Acesso em: 8 jan. 2024.

PATHAK, A.K.; VIPHAVAKIT, C. A review on all-optical fiber-based VOC sensors: Heading towards the development of promising technology. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 338, p. 113455, maio 2022. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924424722000930>.

PAUTOVA, Alisa; KHESINA, Zoya; GETSINA, Maria; SOBOLEV, Pavel; REVELSKY, Alexander; BELOBORODOVA, Natalia. Determination of Tryptophan Metabolites in Serum and Cerebrospinal Fluid Samples Using Microextraction by Packed Sorbent, Silylation and GC–MS Detection. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3258, jul. 2020.

PAWLISZYN, J. Theory of Solid-Phase Microextraction. **Journal of Chromatographic Science**, v. 38, n. 7, p. 270–278, jul. 2000.

PEDERSEN, Daniel U.; DURANT, John L.; PENMAN, Bruce W.; CRESPI, Charles L.; HEMOND, Harold F.; LAFLEUR, Arthur L.; CASS, Glen R. Human-Cell Mutagens in Respirable Airborne Particles in the Northeastern United States. 1. Mutagenicity of Fractionated Samples. **Environmental Science & Technology**, v. 38, n. 3, p. 682–689, 1 fev.

2004. Disponível em: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>. Acesso em: 11 set. 2022.

PERSISTENCE MARKET RESEARCH. *Glyphosate Market*. Disponível em: <https://www.persistencemarketresearch.com/market-research/glyphosate-market.asp>. Acesso em: 9 dez. 2024.

PETERSEN, Iben Lykke; TOMASI, Giorgio; SØRENSEN, Hilmer; BOLL, Esther S.; HANSEN, Hans Christian Bruun; CHRISTENSEN, Jan H. The use of environmental metabolomics to determine glyphosate level of exposure in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 3071–3077, 1 out. 2011.

POLLO, Breno Jorge; TEIXEIRA, Carlos Alberto; BELINATO, Joao Raul; FURLAN, Mayra Fontes; CUNHA, Isabela Cristina de Matos; VAZ, Caroline Rocha; VOLPATO, Gustavo Veronezi; AUGUSTO, Fabio. Chemometrics, Comprehensive Two-Dimensional gas chromatography and “omics” sciences: Basic tools and recent applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 134, p. 116111, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116111>. Acesso em: 27 jul. 2023.

POURASIL, Roudabeh Sadat Moazeni; CRISTALE, Joyce; LACORTE, Silvia; TAULER, Romà. Non-targeted Gas Chromatography Orbitrap Mass Spectrometry qualitative and quantitative analysis of semi-volatile organic compounds in indoor dust using the Regions of Interest Multivariate Curve Resolution chemometrics procedure. **Journal of Chromatography A**, v. 1668, p. 462907, abr. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462907>. Acesso em: 3 jan. 2024.

PREBIHALO, Sarah E.; BERRIER, Kelsey L.; FREYE, Chris E.; BAHAGHIGHAT, H. Daniel; MOORE, Nicholas R.; PINKERTON, David K.; SYNOVEC, Robert E. Multidimensional Gas Chromatography: Advances in Instrumentation, Chemometrics, and Applications. **Analytical Chemistry**, v. 90, n. 1, p. 505–532, jan. 2018.

PUBCHEM. *National Center for Biotechnology Information*. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Acesso em: 13 nov. 2024.

PUBCHEM. *Tolueno*. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1140>. Acesso em: 1 dez. 2022.

PURCARO, Giorgia; REES, Christiaan A; WIELAND-ALTER, Wendy F; SCHNEIDER, Mark J; WANG, Xi; STEFANUTO, Pierre Hugues; WRIGHT, Peter F; ENELOW, Richard I; HILL, Jane E. Volatile fingerprinting of human respiratory viruses from cell culture. **Journal of Breath Research**, v. 12, n. 2, p. 026015, 1 mar. 2018. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1752-7163/aa9eef>.

RAMIREZ HABERKON, Nancy B.; APARICIO, Virginia C.; MENDEZ, Mariano J. First evidence of glyphosate and aminomethylphosphonic acid (AMPA) in the respirable dust (PM10) emitted from unpaved rural roads of Argentina. **Science of the Total Environment**,

v. 773, p. 145055, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145055>.

RAMOS, Lourdes; BRINKMAN, Udo A.Th.; SEMARD, Gaëlle; ADAHCHOUR, Mohamed. **Comprehensive Two Dimensional Gas Chromatography**. 1. ed. Madrid: Elsevier, 2009. v. 55.

REICHENBACH, Stephen E.; TIAN, Xue; BOATENG, Akwasi A.; MULLEN, Charles A.; CORDERO, Chiara; TAO, Qingping. Reliable Peak Selection for Multisample Analysis with Comprehensive Two-Dimensional Chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 85, n. 10, p. 4974–4981, 21 maio 2013. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac303773v>.

REN, Jiawen; YU, Yongquan; WANG, Yucheng; DONG, Yu; SHEN, Xiaobing. Association Between Urinary Glyphosate Exposure and Cognitive Impairment in Older Adults from NHANES 2013-2014. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 97, n. 2, p. 609–620, 16 jan. 2024. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.3233/JAD-230782>.

REN, Lingling; KANG, Shi-Zhao; ZHANG, Hui-Min; WAN, Li-Jun; PAN, Ge-Bo; ZHU, Chuan-Feng; BAI, Chun-Li. Investigation of ITO surface modified by NPB and arachidic acid LB films. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 257–258, p. 433–437, maio 2005. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775704007976>.

RICHARD, Sophie; MOSLEMI, Safa; SIPAHUTAR, Herbert; BENACHOUR, Nora; SERALINI, Gilles-Eric. Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 6, p. 716–720, jun. 2005. Disponível em: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.7728>.

RICHMOND, Martha E. Glyphosate: A review of its global use, environmental impact, and potential health effects on humans and other species. **Journal of Environmental Studies and Sciences**, v. 8, n. 4, p. 416–434, 28 dez. 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13412-018-0517-2>. Acesso em: 7 dez. 2024.

RISS, Terry L; MORAVEC, Richard A; NILES, Andrew L; DUELLMAN, Sarah; BENINK, Hélène A; WORZELLA, Tracy J; MINOR, Lisa. **Cell Viability Assays**. [S.l: s.n.], 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23805433>.

ROBERTS, Eugene.  $\gamma$ -aminobutyric acid and nervous system function—A perspective. **Biochemical Pharmacology**, v. 23, n. 19, p. 2637–2649, out. 1974. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006295274900331>.

RODRIGUES, Michele; MARINHO, Jéssica Pauline Nunes; ARANTES FERNANDES VIEIRA, Luísa; GOMES, Dawidson Assis; SOUSA, Edésia Martins Barros De. Internalized Hydroxyapatite Nanoparticles Conjugated with a Modified Form of Curcumin Functionalized with Folic Acid Promote Bone Tumor Cell Necrosis. **ACS Applied Nano Materials**, v. 7, n. 18, p. 21304–21318, 27 set. 2024. Disponível em:

<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsanm.4c02467>.

RODRIGUES, Samantha. **Desenvolvimento de método de cromatografia a gás bidimensional para abordagem metabolômica em células derivadas da pele humana expostas ao material particulado atmosférico e avaliação de citotoxicidade**. 2023. 121 f. UFMG, 2023.

RODRIGUES, Samantha; MENEZES, Helvécio C.; GOMES, Dawidson A.; CARDEAL, Zenilda L. Impact of exposure to atmospheric particulate matter in human skin-derived fibroblast cells: A metabolomics approach for the class of amino acids based on GC×GC-Q-TOFMS/MS. **Journal of Hazardous Materials**, v. 461, n. September 2023, p. 132606, jan. 2024. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389423018897>.

ROMA, Dardo; CECCHINI, Maria Eugenia; TONINI, María Paula; CAPELLA, Virginia; AIASSA, Delia; RODRIGUEZ, Nancy; MAÑAS, Fernando. Toxicity assessment and DNA repair kinetics in HEK293 cells exposed to environmentally relevant concentrations of Glyphosate (Roundup® Control Max). **Toxicology Research**, v. 12, n. 5, p. 970–978, 29 out. 2023. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1093/toxres/tfad089>. Acesso em: 28 ago. 2024.

RUBINO, Federico M.; PITTON, Marco; DI FABIO, Daniela; MERONI, Giuseppe; SANTANIELLO, Enzo; CANEVA, Enrico; PAPPINI, Marco; COLOMBI, Antonio. Measurement of S -methylcysteine and S -methyl-mercaptopuric acid in human urine by alkyl-chloroformate extractive derivatization and isotope-dilution gas chromatography–mass spectrometry. **Biomedical Chromatography**, v. 25, n. 3, p. 330–343, 15 mar. 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bmc.1451>. Acesso em: 28 ago. 2024.

SABARWAL, Akash; KUMAR, Kunal; SINGH, Rana P. Hazardous effects of chemical pesticides on human health–Cancer and other associated disorders. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 63, p. 103–114, out. 2018.

SAHOO, Banishree; CHAUDHURI, Surabhi. Lindane removal in contaminated soil by defined microbial consortia and evaluation of its effectiveness by bioassays and cytotoxicity studies. **International Microbiology**, v. 25, n. 2, p. 365–378, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10123-022-00232-1>.

SALINAS, Daniela A.; MARCHENA, Candelaria Leal; PIERELLA, Liliana B.; PECCHI, Gina. Catalytic oxidation of 2-(methylthio)-benzothiazole on alkaline earth titanates, ATiO<sub>3</sub> (A = Ca, Sr, Ba). **Molecular Catalysis**, v. 438, p. 76–85, set. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcat.2017.05.019>.

SALVADOR, Ângelo C.; BAPTISTA, Inês; BARROS, António S.; GOMES, Newton C.M.; CUNHA, Ângela; ALMEIDA, Adelaide; ROCHA, Silvia M. Can Volatile Organic Metabolites Be Used to Simultaneously Assess Microbial and Mite Contamination Level in Cereal Grains and Coffee Beans? **PLoS ONE**, v. 8, n. 4, p. e59338, 16 abr. 2013. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0059338>. Acesso em:

14 jan. 2024.

SANSONE, Anna; TOLIK, Evanthia; LOUKA, Maria; SUNDA, Valentina; DEPLANO, Simone; MELCHIORRE, Michele; ANAGNOSTOPOULOS, Dimitrios; CHATGILIALOGLU, Chrysostomos; FORMISANO, Cesare; DI MICCO, Rosa; FARAONE MENNELLA, Maria Rosaria; FERRERI, Carla. Hexadecenoic Fatty Acid Isomers in Human Blood Lipids and Their Relevance for the Interpretation of Lipidomic Profiles. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0152378, 5 abr. 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0152378>. Acesso em: 28 ago. 2024.

SANTOS, Patricia; DEL NOGAL SÁNCHEZ, Miguel; PÉREZ PAVÓN, José Luis; MORENO CORDERO, Bernardo. Non-separative method based on a single quadrupole mass spectrometer for the semi-quantitative determination of amino acids in saliva samples. A preliminary study. **Talanta**, v. 208, p. 120381, fev. 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914019310148>.

SARAFRAZ-YAZDI, A.; AMIRI, A.H.; ES'HAGHI, Z. BTEX determination in water matrices using HF-LPME with gas chromatography–flame ionization detector. **Chemosphere**, v. 71, n. 4, p. 671–676, mar. 2008. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653507013586>.

SAWICKI, Krzysztof; CZAJKA, Magdalena; MATYSIAK-KUCHAREK, Magdalena; KRUSZEWSKI, Marcin; SKAWIŃSKI, Waldemar; BRZÓSKA, Kamil; KAPKA-SKRZYPCZAK, Lucyna. Chlorpyrifos stimulates expression of vitamin D3 receptor in skin cells irradiated with UVB. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 154, n. October 2018, p. 17–22, fev. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048357518305212>.

SAWICKI, Krzysztof; CZAJKA, Magdalena; MATYSIAK-KUCHAREK, Magdalena; KURZEPA, Jacek; WOJTYŁA-BUCIORA, Paulina; ZYGO, Karol; KRUSZEWSKI, Marcin; KAPKA-SKRZYPCZAK, Lucyna. Chlorpyrifos alters expression of enzymes involved in vitamin D3 synthesis in skin cells. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 174, n. February, p. 104812, maio 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048357521000432>.

SCHMEKEL, Birgitta; WINQUIST, Fredrik; VIKSTRÖM, Anders. Analysis of breath samples for lung cancer survival. **Analytica Chimica Acta**, v. 840, p. 82–86, ago. 2014. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267014006424>.

SCHNEIDER, Caroline A; RASBAND, Wayne S; ELICEIRI, Kevin W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671–675, 28 jul. 2012. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nmeth.2089>.

SCHÖNBRUNN, Ernst; ESCHENBURG, Susanne; SHUTTLEWORTH, Wendy A.; SCHLOSS, John V.; AMRHEIN, Nikolaus; EVANS, J N; KABSCH, Wolfgang. Interaction

of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 4, p. 1376–80, 13 fev. 2001. Disponível em: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.98.4.1376>.

SCHUHMACHER, J.; MALER-BORST, W.; WELLMAN, H. N. Liver and Kidney Imaging with Ga-68-Labeled Dihydroxyanthraquinones. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 21, n. 10, p. 983–987, 1980.

SETYANINGSIH, Widiastuti; MAJCHRZAK, Tomasz; DYMERSKI, Tomasz; NAMIEŚNIK, Jacek; PALMA, Miguel. Key-marker volatile compounds in aromatic rice (*Oryza sativa*) grains: An HS-SPME extraction method combined with GC×GC-TOFMS. **Molecules**, v. 24, n. 22, p. 4180, 18 nov. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/22/4180/htm>. Acesso em: 14 jan. 2024.

SKARTLAND, Liv Kjersti; MJØS, Svein A; GRUNG, Bjørn. Experimental designs for modeling retention patterns and separation efficiency in analysis of fatty acid methyl esters by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 38, p. 6823–6831, set. 2011. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967311011162>. Acesso em: 13 jan. 2024.

SMITH, Martyn T. Quinones as mutagens, carcinogens, and anticancer agents: Introduction and overview. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 16, n. 5, p. 665–672, 1985.

SNOW, Nicholas H. **Basic Multidimensional Gas Chromatography**. 1st. ed. London: Separation Science and Technology, 2020. Disponível em: <https://shop.elsevier.com/books/basic-multidimensional-gas-chromatography/snow/978-0-12-813745-1>.

SOCHA, Edyta; KOBĄ, Marcin; KOŚLIŃSKI, Piotr. Amino acid profiling as a method of discovering biomarkers for diagnosis of neurodegenerative diseases. **Amino Acids**, v. 51, n. 3, p. 367–371, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00726-019-02705-6>.

SONG, Ho-Yeon; KIM, Young-Hee; SEOK, Su-Jin; GIL, Hyo-Wook; HONG, Sae-Yong. In Vitro Cytotoxic Effect of Glyphosate Mixture Containing Surfactants. **Journal of Korean Medical Science**, v. 27, n. 7, p. 711, 2012. Disponível em: <https://jkms.org/DOIx.php?id=10.3346/jkms.2012.27.7.711>.

SONZOGNI, Laurène; FERLAZZO, Mélanie L.; GRANZOTTO, Adeline; FERVERS, Béatrice; CHARLET, Laurent; FORAY, Nicolas. DNA Double-Strand Breaks Induced in Human Cells by 6 Current Pesticides: Intercomparisons and Influence of the ATM Protein. **Biomolecules**, v. 12, n. 2, p. 250, 3 fev. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/12/2/250>.



SPARLING, Donald W. Organochlorine Pesticides. **Ecotoxicology Essentials**, p. 69–107, jan. 2016.

SPENCER, W. F.; FARMER, W. J.; CLIATH, M. M. Pesticide volatilization. **Residue Reviews**, v. Vol. 49, p. 1–40, 1973.

SREEKUMAR, Arun; POISSON, Laila M.; RAJENDIRAN, Thekkelnaycke M.; KHAN, Amjad P.; CAO, Qi; YU, Jindan; LAXMAN, Bharathi; MEHRA, Rohit; LONIGRO, Robert J.; LI, Yong; NYATI, Mukesh K.; AHSAN, Aarif; KALYANA-SUNDARAM, Shanker; HAN, Bo; CAO, Xuhong; BYUN, Jaeman; OMENN, Gilbert S.; GHOSH, Debashis; PENNATHUR, Subramaniam; ALEXANDER, Danny C.; BERGER, Alvin; SHUSTER, Jeffrey R.; WEI, John T.; VARAMBALLY, Sooryanarayana; BEECHER, Christopher; CHINNAIYAN, Arul M. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. **Nature**, v. 457, n. 7231, p. 910–914, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature07762>.

STEFANUTO, Pierre Hugues; PERRAULT, Katelynn A; DUBOIS, Lena M; L'HOMME, Benjamin; ALLEN, Catherine; LOUGHNANE, Caitriona; OCHIAI, Nobuo; FOCANT, Jean-Franç François. Advanced method optimization for volatile aroma profiling of beer using two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1507, p. 45–52, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.05.064>. Acesso em: 13 jan. 2024.

STEINBRECHER, Rainer; SMIASTEK, Gerhard; KÖBLE, Renate; SEUFERT, Günther; THELOKE, Jochen; HAUFF, Karin; CICCIOI, Paolo; VAUTARD, Robert; CURCI, Gabriele. Intra- and inter-annual variability of VOC emissions from natural and semi-natural vegetation in Europe and neighbouring countries. **Atmospheric Environment**, v. 43, n. 7, p. 1380–1391, 2009.

SUN, Yunmei; LIAO, Yunli; XIONG, Nating; HE, Xing; ZHANG, Huihua; CHEN, Xiaomin; XIAO, Guohui; WANG, Zhaoqin; RAO, Weiqiao; ZHANG, Guoliang. Amino acid profiling as a screening and prognostic biomarker in active tuberculosis patients. **Clinica Chimica Acta**, v. 548, n. August, p. 117523, ago. 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000989812300325X>.

SUNG, Bo Kyung; KIM, Moo Key; LEE, Wang Hyu; LEE, Dong Heon; LEE, Hoi Seon. Growth responses of *Cassia obtusifolia* toward human intestinal bacteria. **Fitoterapia**, v. 75, n. 5, p. 505–509, 2004.

SUZUKI, Makoto; NISHIUMI, Shin; MATSUBARA, Atsuki; AZUMA, Takeshi; YOSHIDA, Masaru. Metabolome analysis for discovering biomarkers of gastroenterological cancer. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 966, p. 59–69, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.02.042>.

SZYMAŃSKA, Ewa; SACCENTI, Edoardo; SMILDE, Age K.; WESTERHUIS, Johan A.

Double-check: Validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. **Metabolomics**, v. 8, p. 3–16, 2012.

TAJAI, Preechaya; KONGUTHAITHIP, Giatgong; CHAIKHAENG, Thanyaphisit; JAIKANG, Churdsak. Glyphosate-based herbicide metabolic profiles in human urine samples through proton nuclear magnetic resonance analysis. **ADMET and DMPK**, v. 12, n. 6, p. 957–970, 10 dez. 2024. Disponível em: <https://pub.iapchem.org/ojs/index.php/admet/article/view/2476>.

TANG, Caiming; HUANG, Qiuxin; ZHU, Yizhe; LIANG, Yutao; ZENG, Yanhong; LUO, Xiaojun; MAI, Bixian; PENG, Xianzhi. Nontarget analysis and characterization of alkylamides in electrical product plastics by gas chromatography-positive chemical ionization quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry and quasi-molecular ion screening and anchoring algorithm. **Journal of Chromatography A**, v. 1682, p. 463466, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463466>.

THERMOFISHER. *How balanced salt solutions affect your cell culture*. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/cell-culture/mammalian-cell-culture/reagents/balanced-salt-solutions>. Acesso em: 20 ago. 2024.

TIAN, Kun; WANG, Yu-xiang; LI, Li-xia; LIU, Yan-qiang. Neuronal death/apoptosis induced by intracellular zinc deficiency associated with changes in amino-acid neurotransmitters and glutamate receptor subtypes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 179, p. 54–59, 2018.

TILLAKARATNE, Niranjala J. K.; ERLANDER, Mark G.; COLLARD, Michael W.; GREIF, Karen F.; TOBIN, Allan J. Glutamate Decarboxylases in Nonneural Cells of Rat Testis and Oviduct: Differential Expression of GAD 65 and GAD 67. **Journal of Neurochemistry**, v. 58, n. 2, p. 618–627, 5 fev. 1992. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-4159.1992.tb09763.x>.

TIRABASSI, T; COSTA, C P; RUI, K. Influence of dry deposition velocity to the ground in the dispersion of the air pollutants. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 489, n. 1, p. 012003, 1 abr. 2020. Disponível em: <https://iopscience-iop.ez27.periodicos.capes.gov.br/article/10.1088/1755-1315/489/1/012003>. Acesso em: 3 jan. 2024.

TRIPURANTHAKAM, S; DUXBURY, CL; BABU, TS; GREENBERG, BM. Development of a Mitochondrial Respiratory Electron Transport Bioindicator for Assessment of Aromatic Hydrocarbon Toxicity. **Environmental Toxicology and Risk Assessment: Standardization of Biomarkers for Endocrine Disruption and Environmental Assessment: 8th Volume**. [S.l.]: ASTM International 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, 1999. p. 350–361. Disponível em: <https://asmedigitalcollection.asme.org/astm-ebooks/book/2011/chapter/27872555/Development-of-a-Mitochondrial-Respiratory>.

TROŠT, Kajetan; AHONEN, Linda; SUVITAIVAL, Tommi; CHRISTIANSEN, Nina;

NIELSEN, Trine; THIELE, Maja; JACOBSEN, Suganya; KRAG, Aleksander; ROSSING, Peter; HANSEN, Torben; DRAGSTED, Lars Ove; LEGIDO-QUIGLEY, Cristina. Describing the fecal metabolome in cryogenically collected samples from healthy participants. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

TUERSUNTUOHETI, Tuohetisayipu; SONG, Wei; HAN, Jian Xun; SUN, Zhao Zeng; YANG, Bai Chong; PAN, Fei; ZHANG, Min; ZHANG, Ya Li; ZHANG, Bei Bei. Identification of volatile extractables from plastic infusion bags and prediction their CYP enzymes inhibition potential by Silico methods. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 50, n. 11, p. 100152, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cjac.2022.100152>.

TUSH, Daniel; LOFTIN, Keith A.; MEYER, Michael T. Characterization of polyoxyethylene tallow amine surfactants in technical mixtures and glyphosate formulations using ultra-high performance liquid chromatography and triple quadrupole mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1319, p. 80–87, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.032>.

U.S. EPA. *Provisional Guidance for Quantitative Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)*. . Washington, DC: [s.n.], 1993.

UHLIROVA, Dagmar; STANKOVA, Martina; DOCEKALOVA, Michaela; HOSNEDLOVA, Bozena; KEPINSKA, Marta; RUTTKAY-NEDECKY, Branislav; RUZICKA, Josef; FERNANDEZ, Carlos; MILNEROWICZ, Halina; KIZEK, Rene. A Rapid Method for the Detection of Sarcosine Using SPIONs/Au/CS/SOX/NPs for Prostate Cancer Sensing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 12, p. 3722, 2018.

VALE, Allister; LOTTI, Marcello. Organophosphorus and carbamate insecticide poisoning. **Occupational Neurology**. [S.l.]: Elsevier, 2015. v. 131. p. 149–168.

VALENZUELA, Eduard F.; MENEZES, Helvécio C.; CARDEAL, Zenilda L. New passive sampling device for effective monitoring of pesticides in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 1054, p. 26–37, abr. 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267018314521>.

VALLE, A. L.; MELLO, F. C.C.; ALVES-BALVEDI, R. P.; RODRIGUES, L. P.; GOULART, L. R. Glyphosate detection: methods, needs and challenges. **Environmental Chemistry Letters**, v. 17, n. 1, p. 291–317, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0789-5>.

VAN DEN DOOL, H.; DEC. KRATZ, P. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, n. C, p. 463–471, 1 jan. 1963. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002196730180947X>. Acesso em: 12 set. 2022.

VAN HARKAMP, Dewi; GARRELFs, Sander F.; OOSTERVELD, Michiel J. S.;

GROOTHOFF, Jaap W.; VAN GOUDOEVER, Johannes B.; SCHIERBEEK, Henk. Development and Validation of a New Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Method for the Measurement of Enrichment of Glyoxylate Metabolism Analytes in Hyperoxaluria Patients Using a Stable Isotope Procedure. **Analytical Chemistry**, v. 92, n. 2, p. 1826–1832, 21 jan. 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.9b03670>.

VILLAS-BÔAS, Silas G.; NIELSEN, Jens; SMEDSGAARD, Jorn; HANSEN, Michael A. E.; ROESSNER-TUNALI, Ute. **Metabolome Analysis: An Introduction**. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2007.

VILLAS-BÔAS, Silas Granato; DELICADO, Daniel Gutierrez; ÅKESSON, Mats; NIELSEN, Jens. Simultaneous analysis of amino and nonamino organic acids as methyl chloroformate derivatives using gas chromatography–mass spectrometry. **Analytical Biochemistry**, v. 322, n. 1, p. 134–138, nov. 2003. Disponível em: [www.elsevier.com/locate/yabio](http://www.elsevier.com/locate/yabio). Acesso em: 30 jan. 2024.

VYVIURSKA, Olga; KOLJANČIĆ, Nemanja; GOMES, Adriano A; ŠPÁNIK, Ivan. Optimization of enantiomer separation in flow-modulated comprehensive two-dimensional gas chromatography by response surface methodology coupled to artificial neural networks: Wine analysis case study. **Journal of Chromatography A**, v. 1675, p. 463189, jul. 2022. Disponível em: [www.elsevier.com/locate/chroma](http://www.elsevier.com/locate/chroma). Acesso em: 13 jan. 2024.

WANG, Bo; HABERMEHL, Calypso; JIANG, Lin. Metabolomic analysis of honey bee (*Apis mellifera* L.) response to glyphosate exposure. **Molecular Omics**, v. 18, n. 7, p. 635–642, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/D2MO00046F>.

WANG, Xu De; SU, Guang Yue; ZHAO, Chen; QU, Fan Zhi; WANG, Peng; ZHAO, Yu Qing. Anticancer activity and potential mechanisms of 1C, a ginseng saponin derivative, on prostate cancer cells. **Journal of Ginseng Research**, v. 42, n. 2, p. 133–143, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2016.12.014>.

WANG, Jing; LIU, Shao Min; LONG, Jun; LEI, De An; GAO, Feng. Derivatization Method for the Determination of Amino Acids in Tobacco by Gas Chromatography–mass Spectrometry. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 75, n. 8, p. 1046–1053, 31 ago. 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1134/S1061934820080171>.

WANG, Xiaojing; LU, Qirong; GUO, Jingchao; ARES, Irma; MARTÍNEZ, Marta; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, María-Rosa; WANG, Xu; ANADÓN, Arturo; MARTÍNEZ, María-Aránzazu. Oxidative Stress and Metabolism: A Mechanistic Insight for Glyphosate Toxicology. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 62, n. 1, p. 617–639, 6 jan. 2022. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-pharmtox-020821-111552>.

WANG, Yuye; SUN, Yu; WANG, Yu; JIA, Shuhong; QIAO, Yanan; ZHOU, Zhi; SHAO, Wen; ZHANG, Xiangfei; GUO, Jing; SONG, Xincheng; NIU, Xiaoqian; PENG, Dantao.

Urine metabolomics phenotyping and urinary biomarker exploratory in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 15, p. 1–10, 2023.

WANG, Zanxin; WEI, Wei; ZHENG, Fangyuan. Effects of industrial air pollution on the technical efficiency of agricultural production: Evidence from China. **Environmental Impact Assessment Review**, v. 83, p. 106407, jul. 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195925519301829>.

WHO. *Glyphosate and AMPA in Drinking-water*. . Geneva: [s.n.], nov. 2005.

WHO; FAO. *Preventing suicide by phasing out highly hazardous pesticides*. . Genebra: [s.n.], 2024.

WILKINS, Jordan; SAKRIKAR, Dhananjay; PETTERSON, Xuan Mai; LANZA, Ian R.; TRUSHINA, Eugenia. A comprehensive protocol for multiplatform metabolomics analysis in patient-derived skin fibroblasts. **Metabolomics**, v. 15, n. 6, p. 1–9, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11306-019-1544-z>.

WINSTONE, Joanna K.; PATHAK, Khyatiben V.; WINSLOW, Wendy; PIRAS, Ignazio S.; WHITE, Jennifer; SHARMA, Ritin; HUENTELMAN, Matthew J.; PIRROTTE, Patrick; VELAZQUEZ, Ramon. Glyphosate infiltrates the brain and increases pro-inflammatory cytokine TNF $\alpha$ : implications for neurodegenerative disorders. **Journal of Neuroinflammation**, v. 19, n. 1, p. 1–14, 1 dez. 2022. Disponível em: <https://jneuroinflammation-biomedcentral-com.ez27.periodicos.capes.gov.br/articles/10.1186/s12974-022-02544-5>. Acesso em: 28 ago. 2024.

WISE, Barry M.; GALLAGHER, Neal B.; BRO, Rasmus; SHAVER, Jeremy M.; WINDIG, Willem; KOCH, R. Scott. *Chemometrics Tutorial for PLS\_Toolbox and Solo*. . Wenatchee: Eigenvector Research. Disponível em: [www.eigenvector.com](http://www.eigenvector.com). , 2006

WISHART, David S; GUO, Anchi; OLER, Eponine; WANG, Fei; ANJUM, Afia; PETERS, Harrison; DIZON, Raynard; SAYEEDA, Zinat; TIAN, Siyang; LEE, Brian L; BERJANSKII, Mark; MAH, Robert; YAMAMOTO, Mai; JOVEL, Juan; TORRES-CALZADA, Claudia; HIEBERT-GIESBRECHT, Mickel; LUI, Vicki W; VARSHAVI, Dorna; VARSHAVI, Dorsa; ALLEN, Dana; ARNDT, David; KHETARPAL, Nitya; SIVAKUMARAN, Aadhavya; HARFORD, Karxena; SANFORD, Selena; YEE, Kristen; CAO, Xuan; BUDINSKI, Zachary; LIIGAND, Jaanus; ZHANG, Lun; ZHENG, Jiamin; MANDAL, Rupasri; KARU, Naama; DAMBROVA, Maija; SCHIÖTH, Helgi B; GREINER, Russell; GAUTAM, Vasuk. HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022. **Nucleic Acids Research**, v. 50, n. D1, p. D622–D631, 7 jan. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1062>. Acesso em: 14 ago. 2024.

WU, Yi-Jan; CHANG, Shu-Sen; CHEN, Hsien-Yi; TSAI, Kai-Fan; LEE, Wen-Chin; WANG, I-Kuan; LEE, Chern-Horng; CHEN, Chao-Yu; LIU, Shou-Hsuan; WENG, Cheng-Hao; HUANG, Wen-Hung; HSU, Ching-Wei; YEN, Tzung-Hai. Human Poisoning with

Chlorpyrifos and Cypermethrin Pesticide Mixture: Assessment of Clinical Outcome of Cases Admitted in a Tertiary Care Hospital in Taiwan. **International Journal of General Medicine**, v. Volume 16, p. 4795–4804, out. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJGM.S432861>. Acesso em: 11 mar. 2025.

XU, Chang-Hua; CHEN, Guo-Sheng; XIONG, Zhen-Hai; FAN, Yu-Xia; WANG, Xi-Chang; LIU, Yuan. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 12–29, jun. 2016.

XU, Ye; WU, Xiangyi; ZHANG, Yuanyuan; YU, Yunru; GAN, Jingjing; TAN, Qian. Engineered artificial skins: Current construction strategies and applications. **Engineered Regeneration**, v. 4, n. 4, p. 438–450, 1 dez. 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S266613812300049X>. Acesso em: 13 dez. 2024.

YANG, Dan-Lei; ZHANG, Zhen-Ning; LIU, Hai; YANG, Zi-Yue; LIU, Mi-Mi; ZHENG, Qin-Xiang; CHEN, Wei; XIANG, Ping. Indoor air pollution and human ocular diseases: Associated contaminants and underlying pathological mechanisms. **Chemosphere**, v. 311, p. 137037, jan. 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653522035305>.

YANG, Xiaoyu; WANG, Jiateng; WANG, Hecong; LI, Xueying; HE, Congfen; LIU, Lei. Metabolomics study of fibroblasts damaged by UVB and BaP. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 1 dez. 2021. Disponível em: [/pmc/articles/PMC8160258/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/348160258/). Acesso em: 9 abr. 2023.

ZHANG, QiuLan; LIU, Xin; GAO, MengTing; LI, Xin; WANG, YiFei; CHANG, YueYue; ZHANG, XueMeng; HUO, ZongLi; ZHANG, Li; SHAN, JinJun; ZHANG, Feng; ZHU, BaoLi; YAO, WeiFeng. The study of human serum metabolome on the health effects of glyphosate and early warning of potential damage. **Chemosphere**, O melhor artigo relacionado ao meu trabalho de doutorado., v. 298, n. November 2021, p. 134308, jul. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134308>.

ZHANG, Zhi Hao; CHEN, Hua; VAZIRI, Nosratola D.; MAO, Jia Rong; ZHANG, Li; BAI, Xu; ZHAO, Ying Yong. Metabolomic Signatures of Chronic Kidney Disease of Diverse Etiologies in the Rats and Humans. **Journal of Proteome Research**, v. 15, n. 10, p. 3802–3812, 7 out. 2016. Disponível em: <https://pubs-acsc-org.ez27.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1021/acs.jproteome.6b00583>. Acesso em: 28 ago. 2024.

ZHAO, Jingbo; ZHANG, Yanjie; WANG, Ting; SUN, Luna; YANG, Zhiwen; LIN, Yingchao; CHEN, Yunyue; MAO, Hongjun. Characterization of PM2.5-bound polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives (nitro-and oxy-PAHs) emissions from two ship engines under different operating conditions. **Chemosphere**, v. 225, p. 43–52, jun. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.022>. Acesso em: 8 jan. 2024.

ZHAO, Yongbing; CHEN, Bailu; HU, Shiyu; YANG, Liyu; LI, Jiawei; LI, Rongqiang; ZHANG, RuoYi; LI, Jian. Protective Effect of Resveratrol on Paraoxon-Induced Damage and

Apoptosis of Normal Skin Fibroblast. **Current Topics in Nutraceutical Research**, v. 22, n. 2, p. 818–823, 7 nov. 2023. Disponível em: <https://www.nchpjournals.com/Manuscript?id=2715>.

ZHOU, Changqing; GAO, Liying; FLAWS, Jodi A. Prenatal exposure to an environmentally relevant phthalate mixture disrupts reproduction in F1 female mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 318, p. 49–57, 1 mar. 2017.

ZHOU, Sangyu; HAN, Man; REN, Yaolin; YANG, Xu; DUAN, Liju; ZENG, Yan; LI, Jinqun. Dibutyl phthalate aggravated asthma-like symptoms through oxidative stress and increasing calcitonin gene-related peptide release. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 199, p. 110740, 1 ago. 2020.

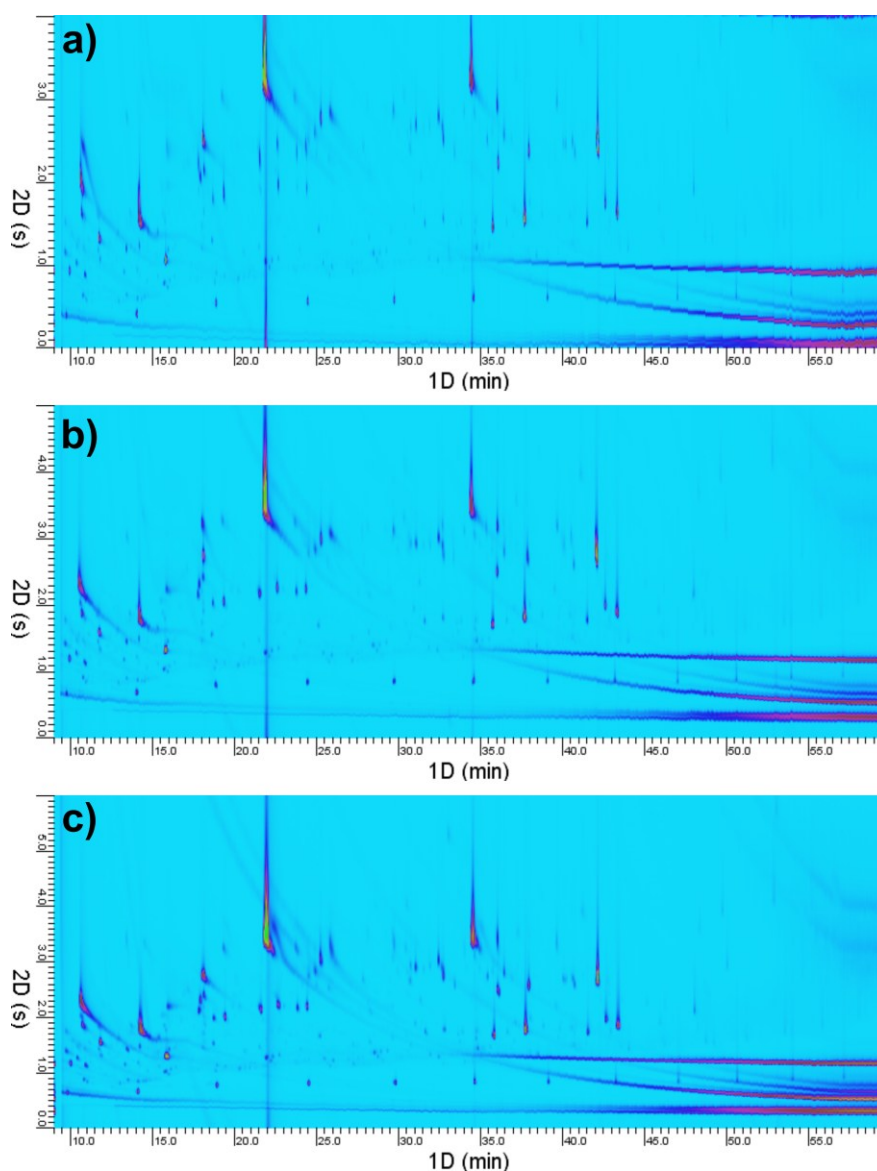
ZOPE, Dhananjay D.; PATNEKAR, Shridhar G.; KANETKAR, Vinod R. Octanol-based aroma chemicals, Part 4. A simple synthesis of dihydrojasnone. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 22, n. 3, p. 214–216, 11 maio 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.1786>.

ZOU, Mingyang; LI, Dexin; WANG, Luxi; LI, Ling; XIE, Shu; LIU, Yu; XIA, Wei; SUN, Caihong; WU, Lijie. Identification of Amino Acid Dysregulation as a Potential Biomarker for Autism Spectrum Disorder in China. **Neurotoxicity Research**, v. 38, n. 4, p. 992–1000, 2020.

ZOU, Yun; STEFANUTO, Pierre Hugues; MAIMONE, Mariarosa; JANSSEN, Marcel; FOCANT, Jean François. Unraveling the Complex Olefin Isomer Mixture Using Two-Dimensional Gas Chromatography-Photoionization-Time of Flight Mass Spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1645, p. 462103, 24 maio 2021.

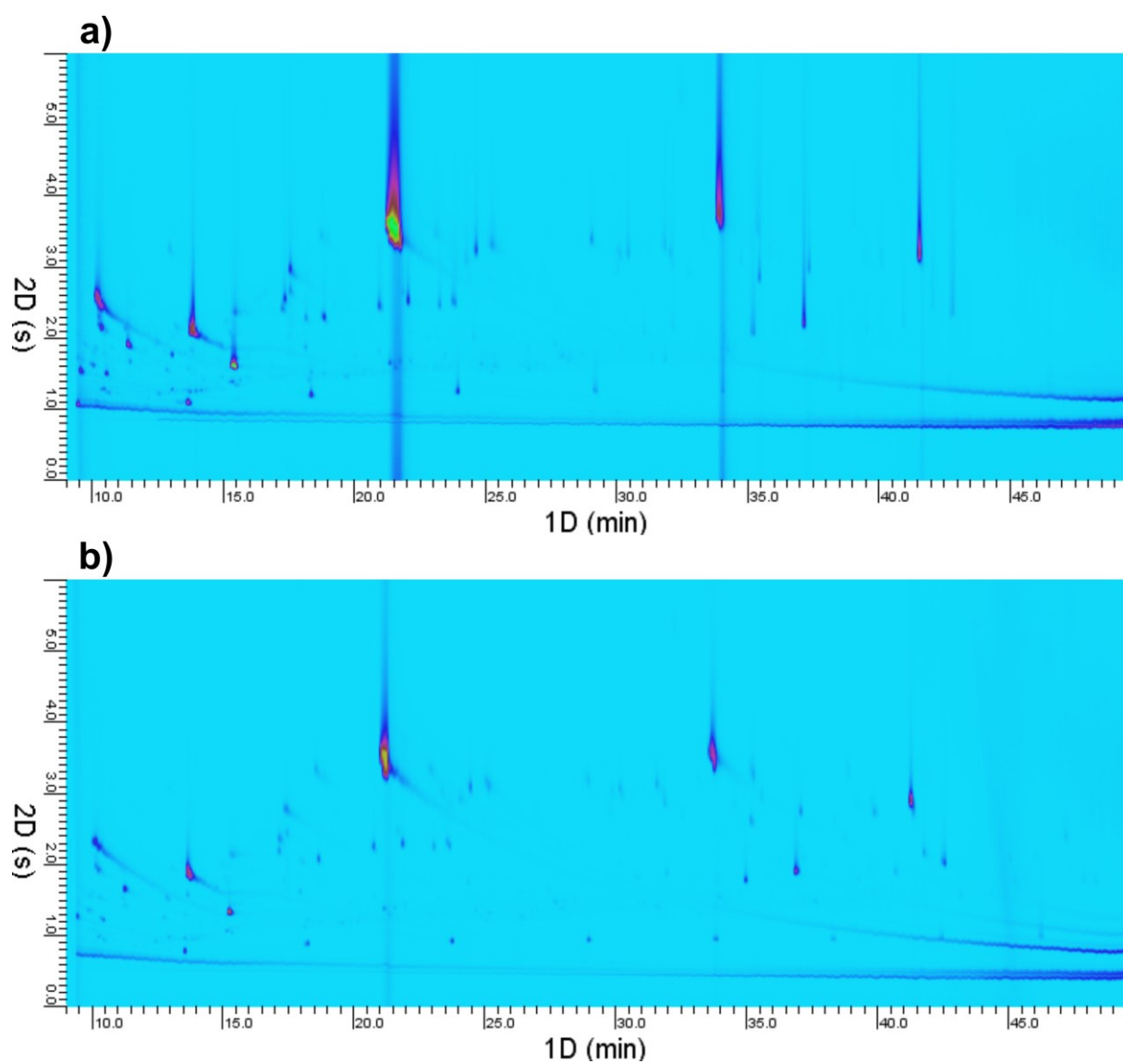
ZULUAGA, Martha; MELCHOR, Jhon Jairo; TABARES-VILLA, Fredy Alexander; TABORDA, Gonzalo; SEPÚLVEDA-ARIAS, Juan Carlos. Metabolite Profiling to Monitor Organochlorine Pesticide Exposure in HepG2 Cell Culture. **Chromatographia**, v. 79, n. 17–18, p. 1061–1068, set. 2016.

## APÊNDICES

**APÊNDICE 1 – Estudo de potenciais biomarcadores da exposição de fibroblastos de pele humana ao glifosato (Roundup®), usando metabolômica *untargeted* e *targeted*****a) Otimização do método GC×GC**

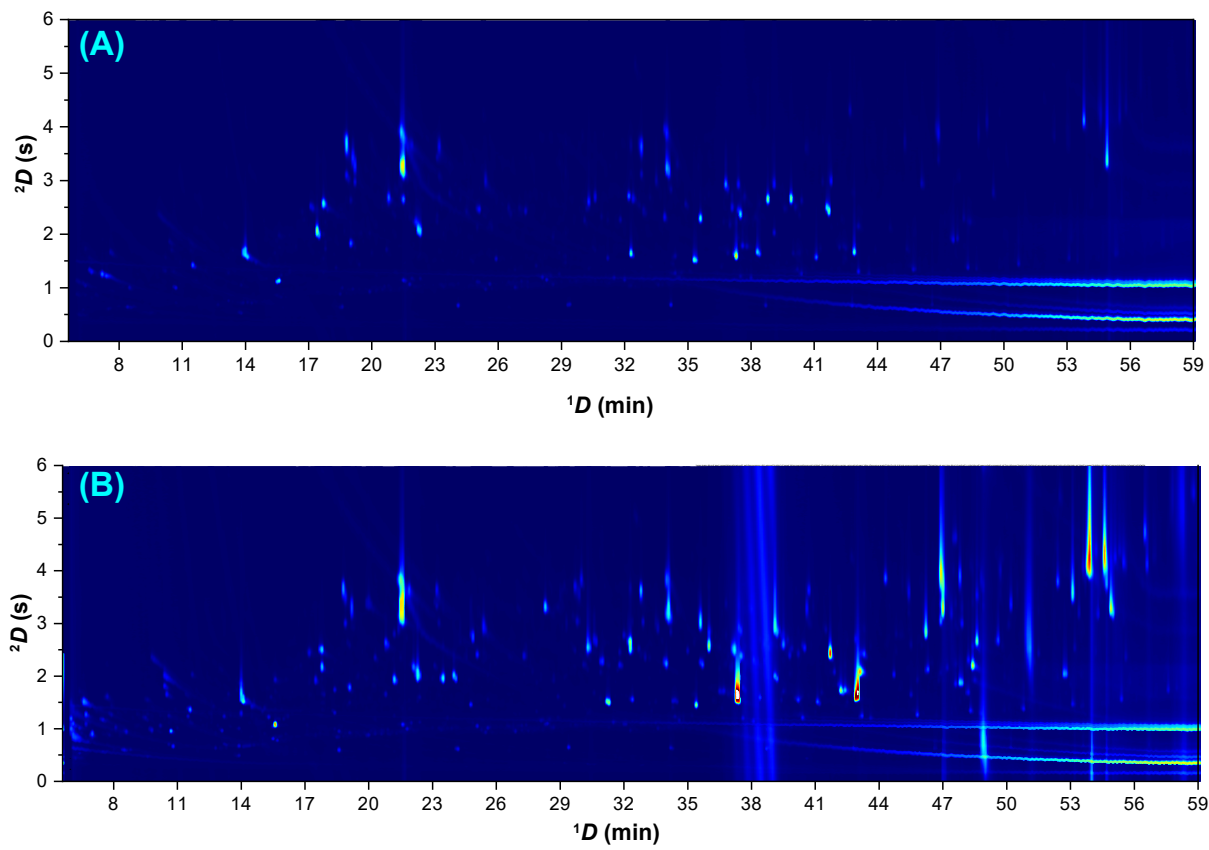
**Figura A1** - Diagramas de cores dos extratos celulares derivatizados com PCF/PrOH usando diferentes períodos de modulação: a)  $P_M = 4$  s, b)  $P_M = 5$  s e c)  $P_M = 6$  s.





**Figura A2** - Diagramas de cores dos extratos celulares derivatizados com PCF/PrOH usando diferentes tempos de janto quente: a) 0,3 s; b) 0,8 s; c) 1,0 s e d) 1,2 s.

b) Liofilização



**Figura A3** - Diagrama de cores de extratos de células controle (não expostas ao GLYP-R), não submetidos à liofilização (A) e submetidos (B).

c) Solução tampão NETN

**Tabela A1** - Composição da solução tampão NETN (NaCl, EDTA, Tris-base, Nonidet P-40), pH 8,0.

| Componente                             |
|----------------------------------------|
| NaCl (150,0 mmol L <sup>-1</sup> )     |
| EDTA (1,0 mmol L <sup>-1</sup> )       |
| Tris-base (20,0 mmol L <sup>-1</sup> ) |
| Nonidet P-40 (0,5 %)                   |

### d) Identificação dos metabólitos *untargeted*

**Tabela A2** - Nomes dos compostos identificados nas amostras de extratos celulares, identificação CAS, dados de retenção e de fragmentação *m/z*.

| #  | Composto (nome em inglês)                                       | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | <i>m/z</i> (padrão de fragmentação) |
|----|-----------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------------------------|
| 1  | 2(1H)-pyridinone                                                | 142-08-5    | 9,40                              | 1,17                            | 1145,83           | 64, 60, 95                          |
| 2  | Amine, dimethyl-2-phosphinoethyl-                               | 161944-90-7 | 9,40                              | 1,50                            | 1145,83           | 64, 58, 60                          |
| 3  | 2-Methyl-3-thiosemicarbazide                                    | 21185-13-7  | 9,50                              | 0,92                            | 1150,00           | 64, 60, 105                         |
| 4  | 3,4-Dihydroisoquinolin-7-ol, 1-[4-hydroxybenzyl]-6-methoxy-     | 47145-46-0  | 9,50                              | 0,51                            | 1150,00           | 282, 94, 283                        |
| 5  | N-[3-Methylaminopropyl]aziridine                                | -           | 9,70                              | 0,60                            | 1158,33           | 58, 72, 57                          |
| 6  | D-erythro-Pentose, 2-deoxy-                                     | 533-67-5    | 9,70                              | 1,05                            | 1158,33           | 60, 74, 62                          |
| 7  | 4,4'-Diisothiocyanatostilbene-2,2'-disulfonic acid              | 53005-05-3  | 9,80                              | 1,76                            | 1162,50           | 76, 67, 57                          |
| 8  | Pyridine, 4-ethenyl-                                            | 100-43-6    | 10,00                             | 1,56                            | 1170,83           | 105, 78, 77                         |
| 9  | Diethylcarbamoyl isopropoxy sulfide                             | -           | 10,10                             | 0,82                            | 1175,00           | 64, 60, 58                          |
| 10 | Methanethiol, N-(3-phenoxypropyl)amidino-, hydrogen thiosulfate | 40283-89-4  | 10,10                             | 1,13                            | 1175,00           | 64, 56, 72                          |
| 11 | Benzenemethanamine, N,α-dimethyl-                               | 32512-24-6  | 10,30                             | 0,94                            | 1183,33           | 64, 58, 57                          |
| 12 | 4H-Pyran-4-one                                                  | 108-97-4    | 10,40                             | 1,72                            | 1187,50           | 69, 70, 96                          |
| 13 | 1-(2-Hydroxyethylthio)-2-(2-vinylthioethoxy)ethane              | 114811-41-5 | 10,60                             | 1,27                            | 1195,83           | 87, 105, 59                         |
| 14 | 2-heptanone                                                     | 6483-50-7   | 10,70                             | 0,74                            | 1200,00           | 58, 72, 64                          |
| 15 | Propanoic acid, 3-chloro-, methyl ester                         | 6001-87-2   | 10,80                             | 1,23                            | 1204,00           | 87, 63, 73                          |
| 16 | Exo-Norborneol, methyl ether                                    | -           | 10,90                             | 0,62                            | 1208,00           | 94, 58, 72                          |
| 17 | Ethyl chloride                                                  | 75-00-3     | 11,00                             | 0,76                            | 1212,00           | 64, 60, 94                          |
| 18 | Boric acid                                                      | 10043-35-3  | 11,10                             | 1,81                            | 1216,00           | 62, 61, 105                         |
| 19 | Aziridine, 2-hexyl-                                             | 13906-89-3  | 11,10                             | 0,94                            | 1216,00           | 56, 57, 70                          |
| 20 | Diethyl sulfide                                                 | 352-93-2    | 11,10                             | 1,64                            | 1216,00           | 75, 62, 90                          |
| 21 | N-methyltaurine                                                 | 107-68-6    | 11,20                             | 0,74                            | 1220,00           | 64, 60, 94                          |
| 22 | 2-Hydroxy-2-(5-methylfuran-2-yl)1-phenylethanone                | -           | 11,30                             | 1,33                            | 1224,00           | 105, 78, 110                        |
| 23 | 2-(2-(Dimethylamino)-ethyl)-pyridine                            | 6304-27-4   | 11,30                             | 1,46                            | 1224,00           | 58, 106, 78                         |
| 24 | Ethane, hexachloro-                                             | 67-72-1     | 11,40                             | 1,09                            | 1228,00           | 201, 117, 119                       |
| 25 | D-arabinose                                                     | -           | 11,50                             | 1,44                            | 1232,00           | 73, 91, 133                         |
| 26 | Aminomethanesulfonic acid                                       | 13881-91-9  | 11,50                             | 0,72                            | 1232,00           | 64, 60, 94                          |
| 27 | Trans-β-Terpinyol benzoate                                      | 93836-54-5  | 11,60                             | 1,27                            | 1236,00           | 92, 94, 128                         |
| 28 | Dodecane, 1-methoxy-                                            | 3482-63-1   | 11,90                             | 1,01                            | 1248,00           | 58, 56, 57                          |
| 29 | Propanedioic acid, methyl,ethyl ester                           | 6186-89-6   | 12,10                             | 1,35                            | 1256,00           | 101, 119, 102                       |
| 30 | N-[3-[N-Aziridyl]propyl]-2-[2-pyridyl]ethylamine                | -           | 12,30                             | 1,58                            | 1264,00           | 105, 107, 79                        |
| 31 | Pyridine, 4-(1,1-dimethylethyl)-                                | 3978-81-2   | 12,40                             | 1,11                            | 1268,00           | 120, 135, 92                        |
| 32 | 3-[N-[3-Diethylaminopropyl]-1-cyclopentenylamino]propionitrile  | -           | 12,70                             | 0,68                            | 1280,00           | 58, 72, 94                          |
| 33 | 2H-Pyran-3,4,5-triol, tetrahydro-2-methoxy-6-methyl-            | 14009-07-5  | 12,70                             | 0,94                            | 1280,00           | 58, 74, 60                          |
| 34 | 1-methylhistidine                                               | 615-10-1    | 12,80                             | 1,27                            | 1284,00           | 96, 112, 95                         |
| 35 | Thiocarbamic acid, N,N-diethyl-S-(diethylamino)-                | 70151-21-2  | 12,80                             | 0,82                            | 1284,00           | 58, 64, 60                          |
| 36 | 3-aminopyridine                                                 | 462-08-8    | 12,90                             | 0,53                            | 1288,00           | 94, 268, 74                         |
| 37 | 2-hydrazinopyridine                                             | 4930-98-7   | 13,00                             | 1,60                            | 1292,00           | 79, 109, 66                         |

| #  | Composto (nome em inglês)                                                                                    | Número CAS   | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 38 | 1,4-dithiane                                                                                                 | 505-29-3     | 13,00                             | 0,94                            | 1292,00           | 58, 64, 57                   |
| 39 | Methyl 3-methoxyamino-propanoate                                                                             | 78191-05-6   | 13,10                             | 1,05                            | 1296,00           | 60, 74, 70                   |
| 40 | Benzenamine, N,N-diethyl-3-methoxy-                                                                          | -            | 13,20                             | 1,29                            | 1300,00           | 164, 136, 108                |
| 41 | Propanal                                                                                                     | 123-38-6     | 13,20                             | 1,40                            | 1300,00           | 58, 57, 208                  |
| 42 | 1-[4-(Furan-2-carbonyl)piperazin-1-yl]-2-phenylethane-1,2-dione                                              | 1389334-25-1 | 13,20                             | 1,46                            | 1300,00           | 208, 95, 105                 |
| 43 | N,N'-Tetramethylenebis[s-3-aminopropylthiosulfuric acid]                                                     | 35871-61-5   | 13,50                             | 1,13                            | 1312,50           | 64, 56, 72                   |
| 44 | Chlorozotocin                                                                                                | 54749-90-5   | 13,50                             | 0,88                            | 1312,50           | 63, 56, 70                   |
| 45 | N-Nitroso-2,4,4-trimethyloxazolidine                                                                         | 96228-15-8   | 13,50                             | 1,01                            | 1312,50           | 56, 70, 57                   |
| 46 | 1,4-oxathiane                                                                                                | 15980-15-1   | 13,60                             | 1,58                            | 1316,67           | 104, 61, 74                  |
| 47 | D-chiro-Inositol, 3-O-(2-amino-4-((carboxyiminomethyl)amino)-2,3,4,6-tetradecoxy-α-D-arabino-hexopyranosyl)- | 6980-18-3    | 13,60                             | 1,31                            | 1316,67           | 73, 60, 91                   |
| 48 | Tris-(hydroxymethyl)-phosphine oxide                                                                         | 1067-12-5    | 13,80                             | 1,85                            | 1325,00           | 110, 62, 105                 |
| 49 | Phenyl acetate                                                                                               | 96862-55-4   | 13,80                             | 0,55                            | 1325,00           | 342, 74, 430                 |
| 50 | Thiourea, dimethylaminomethyl                                                                                | 109858-55-1  | 14,00                             | 1,31                            | 1333,33           | 58, 60, 102                  |
| 51 | Linoleic acid                                                                                                | 110568-60-0  | 14,00                             | 1,70                            | 1333,33           | 96, 95, 78                   |
| 52 | Borane-methyl sulfide complex                                                                                | 13292-87-0   | 14,00                             | 2,01                            | 1333,33           | 62, 95, 61                   |
| 53 | Isopropyl hexadecanoate                                                                                      | -            | 14,10                             | 1,58                            | 1337,50           | 95, 144, 78                  |
| 54 | Methylα-d-rhamnopyranoside                                                                                   | 1128-40-1    | 14,10                             | 1,01                            | 1337,50           | 89, 74, 62                   |
| 55 | 1,3-Propanediamine, N,N-diethyl-N'-methyl-                                                                   | 5459-95-0    | 14,10                             | 0,74                            | 1337,50           | 58, 72, 86                   |
| 56 | Benzenemethanamine, N,N,4-trimethyl-                                                                         | 4052-88-4    | 14,30                             | 1,40                            | 1345,83           | 58, 149, 148                 |
| 57 | 4-Cycloocten-1-amine, N-methyl-                                                                              | 38278-15-8   | 14,40                             | 0,92                            | 1350,00           | 56, 70, 84                   |
| 58 | N-Hydroxy-N-phenyl-2-furamide                                                                                | 7630-14-0    | 14,50                             | 1,50                            | 1354,17           | 95, 118, 78                  |
| 59 | 1,2-Ethanediamine, N-phenyl-                                                                                 | 1664-40-0    | 14,80                             | 1,83                            | 1366,67           | 136, 106, 62                 |
| 60 | 2-Pyridinepropanamide, N-phenyl-                                                                             | 20745-52-2   | 14,80                             | 1,72                            | 1366,67           | 134, 135, 106                |
| 61 | Thiosulfuric acid (H2S2O3), S-(2-(cyclopropylamino)-2-iminoethyl) ester                                      | 40283-52-1   | 15,00                             | 1,17                            | 1375,00           | 56, 94, 99                   |
| 62 | 1-Amino-2-methylpyridinium iodide                                                                            | 7583-90-6    | 15,00                             | 1,27                            | 1375,00           | 92, 94, 93                   |
| 63 | Ethanamine, N-pentylidene-                                                                                   | 10599-76-5   | 15,10                             | 0,96                            | 1379,17           | 56, 71, 84                   |
| 64 | 1,3,6-Trimethyl-5-[3-(2-acetylamino-2-methoxycarbonylethyl)-1H-indol-2-yl]-1,3-dihydropyrimidin-2,4-dione    | 123760-39-4  | 15,10                             | 0,53                            | 1379,17           | 64, 282, 148                 |
| 65 | 2,1,3-benzothiadiazole                                                                                       | 273-13-2     | 15,10                             | 2,07                            | 1379,17           | 136, 109, 70                 |
| 66 | 2-Methyl-3-pyridin-2-yl-butan-2-ol                                                                           | -            | 15,60                             | 1,99                            | 1400,00           | 107, 106, 124                |
| 67 | N-Acetyl-L-methionine                                                                                        | -            | 15,60                             | 1,13                            | 1400,00           | 56, 74, 71                   |
| 68 | Propoxyphene                                                                                                 | 469-62-5     | 15,60                             | 1,35                            | 1400,00           | 58, 208, 132                 |
| 69 | 3-methoxybenzylamine                                                                                         | 5071-96-5    | 15,60                             | 1,62                            | 1400,00           | 62, 79, 105                  |
| 70 | Ketone, 11-bromotricyclo[8,2,2,2(4,7)]hexadeca-4,6,10,12,13,15-hexaen-5-yl methyl                            | 18931-44-7   | 15,70                             | 0,62                            | 1403,33           | 74, 328, 254                 |
| 71 | 2-Methoxy-6-methyl-cyclohexa-2,5-dienecarboxamide                                                            | -            | 15,80                             | 1,79                            | 1406,67           | 92, 108, 80                  |
| 72 | Propanedioic acid, dipropyl ester                                                                            | 1117-19-7    | 16,10                             | 1,40                            | 1416,67           | 87, 105, 129                 |
| 73 | Cyclopentyl-methyl-amine, N-acetyl-                                                                          | 1119501-92-6 | 16,10                             | 0,96                            | 1416,67           | 74, 56, 282                  |
| 74 | Quinoline, 2,6-dimethyl-                                                                                     | 877-43-0     | 16,10                             | 2,01                            | 1416,67           | 157, 142, 156                |
| 75 | 4,4'-Bis(dimethylamino)benzhydrol                                                                            | 119-58-4     | 16,20                             | 5,31                            | 1420,00           | 254, 255, 332                |
| 76 | Dl-Alanyl-dl-methionine                                                                                      | 1999-43-5    | 16,40                             | 1,03                            | 1426,67           | 62, 146, 58                  |

| #   | Composto (nome em inglês)                                                                                                                                        | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 77  | 3-(4-Pyridyl)acrylaldehyde                                                                                                                                       | 26505-36-2  | 16,50                             | 2,17                            | 1430,00           | 133, 105, 104                |
| 78  | 1,7-Dioxa-4,10-dithiacyclododecane                                                                                                                               | 294-95-1    | 16,50                             | 3,22                            | 1430,00           | 87, 149, 86                  |
| 79  | (2R,3S)-3,4-Dimercaptobutane-1,2-diol                                                                                                                            | 3483-12-3   | 16,50                             | 2,03                            | 1430,00           | 62, 61, 105                  |
| 80  | Benzonitrile, 4,5-dimethoxy-2-[(4-pyridinylmethyl)amino]-                                                                                                        | -           | 16,60                             | 4,33                            | 1433,33           | 254, 255, 332                |
| 81  | 1,3-Propanediamine, N-(1-methylethyl)-                                                                                                                           | 3360-16-5   | 16,60                             | 0,76                            | 1433,33           | 58, 72, 86                   |
| 82  | 2,5-Dimethoxyphenyl isocyanate                                                                                                                                   | 56309-62-7  | 16,60                             | 1,29                            | 1433,33           | 164, 136, 108                |
| 83  | Benzoic acid, 4-ethenyl-, 4-[[[(methylsulfonyl)amino]methyl]phenyl ester                                                                                         | -           | 16,70                             | 1,54                            | 1436,67           | 131, 89, 103                 |
| 84  | Hydrosulfide, [4-(3-pyridinyl)-5-(4-pyridinyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl]-                                                                                           | -           | 16,70                             | 4,00                            | 1436,67           | 254, 255, 332                |
| 85  | 1,3-Propanediamine, N,N'-bis(3-aminopropyl)-                                                                                                                     | 4605-14-5   | 16,80                             | 0,74                            | 1440,00           | 58, 70, 72                   |
| 86  | Quinoline, 6-methyl-                                                                                                                                             | 91-62-3     | 16,80                             | 1,72                            | 1440,00           | 143, 142, 117                |
| 87  | 1-Butanamine, N-(2-furanylmethylene)-3-methyl-                                                                                                                   | 52074-26-7  | 16,90                             | 2,17                            | 1443,33           | 109, 92, 108                 |
| 88  | Carbamic acid, butyl-, ethyl ester                                                                                                                               | 591-62-8    | 16,90                             | 1,31                            | 1443,33           | 102, 58, 62                  |
| 89  | Ethanamine, 2,2-dimethoxy-N-methyl-                                                                                                                              | 122-07-6    | 17,20                             | 1,07                            | 1453,33           | 75, 88, 56                   |
| 90  | 2,4-quinolinediol                                                                                                                                                | 86-95-3     | 17,20                             | 2,50                            | 1453,33           | 62, 74, 161                  |
| 91  | 1-(2,3-Dimethyl-phenyl)-3-pyridin-2-yl-thiourea                                                                                                                  | -           | 17,40                             | 2,38                            | 1460,00           | 95, 94, 130                  |
| 92  | L-alanine                                                                                                                                                        | -           | 17,40                             | 1,68                            | 1460,00           | 131, 89, 71                  |
| 93  | D-Homo-24-nor-17-oxachola-1,14,20,22-tetraene-3,16-dione, 7-(acetyloxy)-21,23-epoxy-4,4,8-trimethyl-, (5 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,13 $\alpha$ ,17 $\alpha\alpha$ )- | 21963-95-1  | 17,40                             | 4,27                            | 1460,00           | 95, 328, 157                 |
| 94  | Tetrazole, 5-(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)-                                                                                                                         | 297763-48-5 | 17,40                             | 3,24                            | 1460,00           | 95, 164, 67                  |
| 95  | Acetylthiosemicarbazide                                                                                                                                          | 2302-88-7   | 17,60                             | 1,40                            | 1466,67           | 73, 133, 91                  |
| 96  | Butanamide, 3-propionylhydrazono-N-(2-ethylphenyl)-                                                                                                              | -           | 17,70                             | 1,15                            | 1470,00           | 56, 106, 62                  |
| 97  | 2-Oxopropionic acid, dimethylhydrazone, methyl ester                                                                                                             | 24642-10-2  | 17,70                             | 3,14                            | 1470,00           | 144, 58, 85                  |
| 98  | Paromomycin                                                                                                                                                      | 7542-37-2   | 17,70                             | 1,29                            | 1470,00           | 58, 92, 94                   |
| 99  | Methanesulphonamide, N-(2-pentyl)-N-methyl-                                                                                                                      | -           | 17,90                             | 1,07                            | 1476,67           | 136, 138, 56                 |
| 100 | 4-pyridazinamine                                                                                                                                                 | 20744-39-2  | 17,90                             | 1,50                            | 1476,67           | 95, 118, 78                  |
| 101 | Acetamide, N,N'-ethylenebis(N-nitro-                                                                                                                             | 922-89-4    | 18,10                             | 1,21                            | 1483,33           | 254, 72, 84                  |
| 102 | Piperazine, 1-(2-chloroethyl)-4-(2-methoxyphenyl)-                                                                                                               | 43091-72-1  | 18,20                             | 1,05                            | 1486,67           | 254, 56, 190                 |
| 103 | Sarcosine                                                                                                                                                        | -           | 18,30                             | 2,15                            | 1490,00           | 131, 89, 117                 |
| 104 | N-t-Butyl-N'-[1,1-dimethyl-2-thiosulfatoethyl]-1,3-propanediamine                                                                                                | -           | 18,40                             | 1,19                            | 1493,33           | 64, 56, 58                   |
| 105 | L-asparagine                                                                                                                                                     | -           | 18,40                             | 1,81                            | 1493,33           | 115, 174, 88                 |
| 106 | D-Streptamine, O-6-amino-6-deoxy- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-(1-4)-O-(3-deoxy-4-C-methyl-3-(methylamino)- $\beta$ -L-arabinopyranosyl-(1-6))-2-deoxy-            | 36889-15-3  | 18,40                             | 2,34                            | 1493,33           | 58, 78, 144                  |
| 107 | 4H-1-Benzopyran-4-one, 3-hydroxy-5,7-dimethoxy-2-(4-methoxyphenyl)-                                                                                              | 1098-92-6   | 18,60                             | 0,64                            | 1500,00           | 282, 74, 148                 |
| 108 | N,N'-Pentamethylenebis[s-3-aminopropyl thiosulfuric acid]                                                                                                        | 35871-54-6  | 18,60                             | 1,13                            | 1500,00           | 62, 56, 70                   |

| #   | Composto (nome em inglês)                                                          | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 109 | 1,3-Disilacyclobutane, 1,1,3,3-tetramethyl-                                        | 1627-98-1   | 18,70                             | 2,32                            | 1503,13           | 129, 144, 58                 |
| 110 | Triethylsilanol                                                                    | 597-52-4    | 18,80                             | 3,71                            | 1506,25           | 75, 103, 74                  |
| 111 | 1,3-Diazatricyclo[3,3,1,1<3,7>]decane                                              | 281-29-8    | 18,90                             | 1,58                            | 1509,38           | 96, 68, 95                   |
| 112 | 1-(1-Azacyclopropyl)decane                                                         | 46237-34-7  | 18,90                             | 0,88                            | 1509,38           | 56, 70, 84                   |
| 113 | Acetamide, 2-chloro-N-propyl-N-dodecyl-                                            | -           | 19,00                             | 0,70                            | 1512,50           | 254, 255, 332                |
| 114 | Pyridine, 2-ethyl-                                                                 | 100-71-0    | 19,00                             | 1,97                            | 1512,50           | 107, 106, 124                |
| 115 | Phosphorothioic acid, S-ester with trimethylenediiminodipropylthiol (2:1)          | 35871-70-6  | 19,00                             | 1,13                            | 1512,50           | 56, 74, 89                   |
| 116 | N-[Dimethylaminomethyl]aziridine                                                   | 3974-91-2   | 19,10                             | 0,84                            | 1515,63           | 58, 72, 86                   |
| 117 | Tris(dimethylamino)borane                                                          | 4375-83-1   | 19,10                             | 2,63                            | 1515,63           | 99, 185, 56                  |
| 118 | 1,3,4-Thiadiazol, 2-amino-5-(m-nitrophenyl)-                                       | 833-47-6    | 19,40                             | 0,59                            | 1525,00           | 222, 254, 74                 |
| 119 | 1,8-dimethyl-3,6-diazahomoadamantan-9-spiro-2'-oxirane                             | 160777-78-6 | 19,50                             | 1,33                            | 1528,13           | 208, 110, 58                 |
| 120 | Quinoline, 5,8-dimethyl-                                                           | 2623-50-9   | 19,50                             | 2,01                            | 1528,13           | 157, 142, 82                 |
| 121 | 3-Methyl-4-[3-[1-[2-pyridyl]ethylidene]hydrazino]carbothioamidobenzoic acid        | -           | 19,60                             | 2,20                            | 1531,25           | 134, 151, 328                |
| 122 | 2-Cyano-3-methyl-2-(O-methylbenzyl)butanoic acid                                   | 29277-53-0  | 19,70                             | 2,52                            | 1534,38           | 105, 106, 92                 |
| 123 | 1H-[1,2]-Dithiolo[3,4-c]quinoline-1-thione, 4,5-dihydro-5-(2-furoyl)-4,4-dimethyl- | 301655-36-7 | 19,90                             | 1,40                            | 1540,63           | 95, 78, 282                  |
| 124 | Ala-Ala-Ala, N,N',N"-trimethyl-N-(n-propyloxycarbonyl)-, n-propyl ester (isomer 2) | -           | 20,10                             | 1,56                            | 1546,88           | 95, 78, 144                  |
| 125 | Methyl-6-deoxy-6-fluoro-2,3,4-tri-O-methylβD-galactopyranoside                     | 2248-90-0   | 20,10                             | 2,44                            | 1546,88           | 88, 101, 62                  |
| 126 | Cyclohexanone, 4R-acetamido-2,3-cis-epoxy-                                         | -           | 20,20                             | 1,25                            | 1550,00           | 56, 58, 70                   |
| 127 | Propionic acid, picolinyl ester                                                    | -           | 20,20                             | 2,28                            | 1550,00           | 92, 109, 80                  |
| 128 | 2-[3-Cyclohexylaminopropylamino]ethylthiophosphate                                 | 62220-14-8  | 20,20                             | 1,07                            | 1550,00           | 70, 58, 56                   |
| 129 | Bromacetamide, N-tetradecyl-                                                       | -           | 20,30                             | 0,72                            | 1553,13           | 254, 72, 58                  |
| 130 | Acetic acid, nonyl ester                                                           | 143-13-5    | 20,50                             | 1,11                            | 1559,38           | 56, 70, 84                   |
| 131 | 4-Cyanobenzoic acid, 2-octyl ester                                                 | -           | 20,60                             | 1,68                            | 1562,50           | 130, 112, 101                |
| 132 | (4-Dimethylaminomethyl-1H-pyrrol-3-ylmethyl)dimethylamine                          | -           | 20,80                             | 2,38                            | 1568,75           | 94, 159, 73                  |
| 133 | [3-(4-Fluorophenyl)-4,5-dihydro-1,2-oxazol-5-yl]acetic acid                        | -           | 20,80                             | 3,16                            | 1568,75           | 164, 95, 159                 |
| 134 | 1-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-ethanone                                         | 90-24-4     | 20,90                             | 2,65                            | 1571,88           | 95, 181, 196                 |
| 135 | L-glutamine                                                                        | -           | 21,10                             | 2,57                            | 1578,13           | 144, 58, 85                  |
| 136 | Glycine, 2-cyclohexyl-N-(but-3-yn-1-yl)oxycarbonyl-, hexadecyl ester               | -           | 21,20                             | 1,31                            | 1581,25           | 208, 95, 58                  |
| 137 | Glycine                                                                            | -           | 21,20                             | 2,20                            | 1581,25           | 117, 75, 103                 |
| 138 | 3-Buten-2-one, 4-(2,2,6,7-tetramethyl-7-azabicyclo[4,1,0]heptan-1-yl)-             | 102635-60-9 | 21,20                             | 1,72                            | 1581,25           | 178, 208, 136                |
| 139 | 1-Decanol, 2-methyl-                                                               | 18675-24-6  | 21,20                             | 1,42                            | 1581,25           | 56, 70, 95                   |

| #   | Composto (nome em inglês)                                       | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|-----------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 140 | 2,5-pyrrolidinedione, 1-[(2-furanylcarbonyl)oxy]-               | -           | 21,40                             | 1,01                            | 1587,50           | 95, 58, 56                   |
| 141 | L-proline                                                       | -           | 21,50                             | 2,65                            | 1590,63           | 157, 71, 115                 |
| 142 | 1-(9-Allyl-9-azabicyclo[3,3,1]non-3-yl)-3-m-tolylurea           | -           | 21,60                             | 1,60                            | 1593,75           | 96, 62, 133                  |
| 143 | Thiophosphinic acid, di-tert-butyl-, hydrazide                  | -           | 21,60                             | 1,29                            | 1593,75           | 208, 95, 58                  |
| 144 | Eicosapentaenoyl ethanolamide                                   | 109001-03-8 | 21,60                             | 2,15                            | 1593,75           | 62, 77, 61                   |
| 145 | Spermine                                                        | 71-44-3     | 21,60                             | 1,13                            | 1593,75           | 56, 70, 84                   |
| 146 | Carbonic acid, monoamide, N-octyl-, butyl ester                 | -           | 21,70                             | 1,38                            | 1596,88           | 62, 74, 61                   |
| 147 | 3-hexanamine                                                    | 16751-58-9  | 21,70                             | 0,84                            | 1596,88           | 58, 72, 86                   |
| 148 | Z,Z,Z,Z-19-Oxoicosa-5,8,11,14-tetraenoic acid, methyl ester     | -           | 21,80                             | 2,30                            | 1600,00           | 92, 128, 78                  |
| 149 | L-methylselenocysteine                                          | 7148-07-4   | 22,10                             | 2,26                            | 1609,38           | 136, 108, 137                |
| 150 | 1H-Isoindole-1,3(2H)-dione, 4-nitro-                            | 603-62-3    | 22,20                             | 3,67                            | 1612,50           | 75, 103, 74                  |
| 151 | 1,2-Propanediol, 3-methoxy-                                     | 623-39-2    | 22,30                             | 3,06                            | 1615,63           | 75, 61, 74                   |
| 152 | Adenine                                                         | -           | 22,40                             | 1,85                            | 1618,75           | 192, 193, 207                |
| 153 | N-Isopropyl-1-piperazineacetamide                               | 39890-42-1  | 22,40                             | 2,65                            | 1618,75           | 99, 185, 56                  |
| 154 | Amine, bis(2-phosphinoethyl)-                                   | 207689-12-1 | 22,60                             | 3,34                            | 1625,00           | 90, 103, 62                  |
| 155 | 2-Butene-1,4-diamine, N,N'-diethyl-Dibenzo[a,i]biphenylene,     | 112-21-0    | 22,90                             | 2,03                            | 1634,38           | 82, 56, 97                   |
| 156 | 5,6,6a,6b,7,8,12b,12c-octahydro-2,11-dimethoxy-                 | 77646-15-2  | 23,00                             | 1,87                            | 1637,50           | 160, 132, 161                |
| 157 | 1-Hexene, 3-methyl-6-phenyl-4-(1-phenylethoxy)-                 | -           | 23,10                             | 2,52                            | 1640,63           | 105, 106, 92                 |
| 158 | Acetamide, 2-thiophenyl-N-propyl-N-dodecyl-                     | -           | 23,10                             | 3,22                            | 1640,63           | 254, 127, 153                |
| 159 | 3,7-Dimethylenebicyclo[3,3,1]nonane                             | 770-14-9    | 23,10                             | 1,52                            | 1640,63           | 92, 106, 148                 |
| 160 | 2-Methyl-5-aminobenzoxazole                                     | 5676-60-8   | 23,20                             | 2,26                            | 1643,75           | 148, 95, 92                  |
| 161 | L-valine                                                        | -           | 23,40                             | 3,08                            | 1650,00           | 117, 159, 99                 |
| 162 | 3,5-Heptanedione, 2,2,6,6-tetramethyl-                          | 1118-71-4   | 23,40                             | 3,69                            | 1650,00           | 127, 57, 85                  |
| 163 | Propenone, 1-(4-bromophenyl)-3-(5-chloro-2-benzothiazolylthio)- | 277325-91-4 | 23,40                             | 1,64                            | 1650,00           | 226, 228, 58                 |
| 164 | L-leucine                                                       | -           | 23,50                             | 2,01                            | 1653,13           | 173, 87, 117                 |
| 165 | 1-Propene, 2-chloro-                                            | 557-98-2    | 23,50                             | 2,61                            | 1653,13           | 76, 78, 120                  |
| 166 | 1,1,2-Trimethyl-1-silacyclobutane                               | 30681-90-4  | 23,60                             | 0,96                            | 1656,25           | 58, 72, 86                   |
| 167 | Deoxyspergualin                                                 | -           | 23,70                             | 1,52                            | 1659,38           | 58, 56, 70                   |
| 168 | (2R,4as,5S,8as)-2,5-Dipentyldecahydroquinoline                  | 220024-74-8 | 23,70                             | 1,29                            | 1659,38           | 208, 56, 209                 |
| 169 | (2-Hexyloxy-ethoxy)-acetyl chloride                             | -           | 23,80                             | 1,97                            | 1662,50           | 56, 58, 159                  |
| 170 | Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-                           | 55282-12-7  | 23,80                             | 3,30                            | 1662,50           | 85, 127, 57                  |
| 171 | 3-Oxo-2-n-pentyl-4,4-dimethylpentanoic acid, methyl ester       | -           | 24,00                             | 2,83                            | 1668,75           | 57, 85, 101                  |
| 172 | L-isoleucine                                                    | -           | 24,00                             | 2,05                            | 1668,75           | 131, 173, 75                 |
| 173 | 2-Diethylamino-N-methyl-2-phenyl-acetamide                      | -           | 24,10                             | 1,72                            | 1671,88           | 162, 163, 134                |
| 174 | L-serine                                                        | -           | 24,20                             | 2,67                            | 1675,00           | 254, 102, 61                 |
| 175 | 2,8-Dimethyl-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-2-benzazonine             | 77581-10-3  | 24,20                             | 1,85                            | 1675,00           | 58, 132, 144                 |
| 176 | L-threonine                                                     | -           | 24,30                             | 2,38                            | 1678,13           | 102, 75, 144                 |
| 177 | Fluridone                                                       | 59756-60-4  | 24,30                             | 4,68                            | 1678,13           | 328, 157, 406                |

| #   | Composto (nome em inglês)                                                                             | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 178 | 7,16-Dimethyl-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazacyclooctadecane-2,6,17-trione                              | 87989-13-7  | 24,40                             | 1,83                            | 1681,25           | 58, 144, 146                 |
| 179 | 3-Methyl-2-butenic acid, allyl ester                                                                  | 51552-26-2  | 24,50                             | 2,36                            | 1684,38           | 83, 82, 94                   |
| 180 | 3-Bromo-1,2-propanediol                                                                               | 4704-77-2   | 24,60                             | 2,83                            | 1687,50           | 61, 123, 74                  |
| 181 | 1,3,5-Trithiane, 2,2,4,4,6,6-hexamethyl-                                                              | 828-26-2    | 24,60                             | 0,64                            | 1687,50           | 74, 222, 148                 |
| 182 | 2-([2-(Butane-1-sulfonyl)ethyl]sulfanyl)ethanol                                                       | -           | 24,90                             | 3,24                            | 1696,88           | 76, 62, 61                   |
| 183 | 2-Aminoethylethyl sulfide                                                                             | 36489-03-9  | 24,90                             | 3,84                            | 1696,88           | 62, 61, 76                   |
| 184 | 6-Nonenal, 3,7-dimethyl-                                                                              | -           | 25,10                             | 2,46                            | 1703,03           | 83, 133, 175                 |
| 185 | Phenol, 5-methoxy-2-(methoxymethyl)-                                                                  | 62849-09-6  | 25,50                             | 2,22                            | 1715,15           | 136, 108, 137                |
| 186 | L-norvaline                                                                                           | -           | 25,70                             | 2,07                            | 1721,21           | 159, 73, 117                 |
| 187 | 2-Furoic acid, 4-methoxy-2-methylbutyl ester                                                          | -           | 26,00                             | 0,94                            | 1730,30           | 58, 95, 72                   |
| 188 | Butanedioic acid, 2,3-dihydroxy- [R-(R*,R*)]-, dimethyl ester                                         | 608-68-4    | 26,00                             | 2,24                            | 1730,30           | 90, 58, 136                  |
| 189 | 6-(1-Methylethyl)-4,4,6-trimethyltetrahydro-1,3-oxazin-2-thione                                       | -           | 26,10                             | 1,38                            | 1733,33           | 61, 62, 56                   |
| 190 | Sulfur diimide, dimethyl-1H-Indene-2-carboxylic acid, 2,3-dihydro-1-oxo-2-(3-oxobutyl)-, methyl ester | 13849-02-0  | 26,10                             | 2,79                            | 1733,33           | 61, 62, 76                   |
| 191 |                                                                                                       | -           | 26,30                             | 2,52                            | 1739,39           | 190, 328, 157                |
| 192 | Tetrahydropyrrole-2,5-dione, N-methyl-3-[2-nitro-5-methoxyphenyl]-                                    | -           | 26,40                             | 2,01                            | 1742,42           | 218, 136, 146                |
| 193 | Phosphine oxide, di-t-butylpropyl-                                                                    | 142132-67-0 | 26,40                             | 1,52                            | 1742,42           | 92, 106, 120                 |
| 194 | Pyridine, 2,2'-(1,2-ethanediyl)bis-Acetic acid, 10-dimethylaminomethyl-13-methyl-3-oxo-               | 4916-40-9   | 26,50                             | 3,43                            | 1745,46           | 106, 78, 183                 |
| 195 | 2,3,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl ester            | -           | 26,60                             | 2,46                            | 1748,49           | 115, 91, 133                 |
| 196 | Ethanol, 2-(1-methylethoxy)-, acetate                                                                 | 19234-20-9  | 26,60                             | 3,63                            | 1748,49           | 87, 86, 74                   |
| 197 | Butanenitrile, 4-(methylthio)-                                                                        | 59121-24-3  | 26,60                             | 2,67                            | 1748,49           | 61, 62, 115                  |
| 198 | N-(2,6-Dimethylphenyl)-2-(tetrahydro-1H-pyrrolizin-7a(5H)-yl)acetamide                                | 88069-67-4  | 26,60                             | 1,70                            | 1748,49           | 110, 106, 120                |
| 199 | L-Alanine, N-acetyl-                                                                                  | 97-69-8     | 26,70                             | 3,06                            | 1751,52           | 87, 86, 74                   |
| 200 | Boric acid (H3BO3), tris(1-methylethyl) ester                                                         | 5419-55-6   | 26,80                             | 2,03                            | 1754,55           | 173, 87, 117                 |
| 201 | 1H-Cyclobuta[c]pentalen-5-one, 2,2a,4a,5,6,7-hexahydro-2,2,4a-trimethyl                               | 81532-22-1  | 26,80                             | 1,52                            | 1754,55           | 92, 134, 106                 |
| 202 | Butanamide, N,N-diethyl-3-oxo-                                                                        | 2235-46-3   | 26,90                             | 1,15                            | 1757,58           | 58, 72, 70                   |
| 203 | Propanamide, 2,3-dichloro-                                                                            | 7728-98-5   | 26,90                             | 2,59                            | 1757,58           | 61, 62, 76                   |
| 204 | 5-undecanone                                                                                          | 33083-83-9  | 27,20                             | 2,75                            | 1766,67           | 113, 85, 58                  |
| 205 | 2-(3-Pentyl)pyridine                                                                                  | 7399-50-0   | 27,20                             | 1,68                            | 1766,67           | 107, 106, 120                |
| 206 | 3,4-Dihydro-4-hydroxy-3-imino-1,2,4-benzotriazine-1-oxide                                             | -           | 27,40                             | 2,44                            | 1772,73           | 178, 136, 61                 |
| 207 | 4-(3-Pentyl)pyridine                                                                                  | 35182-51-5  | 27,50                             | 1,58                            | 1775,76           | 92, 120, 106                 |
| 208 | N-[3-Hexylaminopropyl]aziridine                                                                       | -           | 27,60                             | 1,13                            | 1778,79           | 58, 56, 70                   |
| 209 | Dasycarpidan-8(16H)-ethanol, 3,18-didehydro-1-(hydroxymethyl)-, (2,xi,4,xi)-                          | 55724-45-3  | 27,80                             | 2,11                            | 1784,85           | 328, 122, 192                |



| #   | Composto (nome em inglês)                                                | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|--------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 210 | Ethylamine, 1-methyl-2-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-                       | -           | 27,90                             | 2,42                            | 1787,88           | 96, 182, 95                  |
| 211 | 1,6-Dimethyl- 3-ethylnaphthalene                                         | -           | 28,00                             | 2,56                            | 1790,91           | 184, 164, 182                |
| 212 | 2-Propenoic acid, 2,3-dicyano-3-[4-(dimethylamino)phenyl]-, methyl ester | 100867-73-0 | 28,10                             | 2,69                            | 1793,94           | 254, 196, 255                |
| 213 | Salicylhydroxamic acid                                                   | 89-73-6     | 28,10                             | 3,30                            | 1793,94           | 121, 328, 93                 |
| 214 | Carbonic acid, monoamide, N-decyl-, propyl ester                         | -           | 28,20                             | 1,50                            | 1796,97           | 62, 74, 202                  |
| 215 | Succinic acid, 2-chloropropyl undecyl ester                              | -           | 28,20                             | 3,75                            | 1796,97           | 179, 101, 113                |
| 216 | Hexyl acetate                                                            | 55591-37-2  | 28,20                             | 1,23                            | 1796,97           | 208, 56, 70                  |
| 217 | 4,4,6-Trimethyl-2-[p-bromophenylamino]-4H-1,3-thiazine                   | 85298-51-7  | 28,20                             | 3,67                            | 1796,97           | 101, 113, 57                 |
| 218 | Benzaldehyde, 3,4-methylenedioxy-2-nitro-, thiosemicarbazone             | -           | 28,30                             | 3,10                            | 1800,00           | 157, 328, 61                 |
| 219 | Pyrazole-3-carboxylic acid, 5-nitro-                                     | 198348-89-9 | 28,30                             | 2,81                            | 1800,00           | 157, 71, 115                 |
| 220 | L-Alpha-amino-epsilon-caprolactam                                        | 21568-87-6  | 28,50                             | 2,46                            | 1806,25           | 83, 175, 133                 |
| 221 | Diethyl L-glutamate, N-(n-propyloxycarbonyl)-                            | -           | 28,60                             | 3,43                            | 1809,38           | 84, 57, 170                  |
| 222 | Acetamide, 2-[(4,5-dihydro-2-thiazolyl)thio]-N-(4-quinoliny)-            | -           | 28,70                             | 2,36                            | 1812,50           | 90, 160, 144                 |
| 223 | 5-Oxotetrahydrofuran-2-carboxylic acid, ethyl ester                      | 1126-51-8   | 28,70                             | 4,21                            | 1812,50           | 85, 171, 86                  |
| 224 | 4-decylaniline                                                           | 37529-30-9  | 28,70                             | 1,64                            | 1812,50           | 106, 92, 107                 |
| 225 | 7-tridecanone                                                            | 462-18-0    | 28,80                             | 2,98                            | 1815,63           | 113, 85, 111                 |
| 226 | 10-Formamido-10,11-dihydro-2,3-dimethoxydibenz(b,f)oxepin                | 19172-33-9  | 28,90                             | 2,46                            | 1818,75           | 254, 85, 113                 |
| 227 | 3-Hexanamine, 3-ethyl-                                                   | 56667-17-5  | 29,00                             | 1,09                            | 1821,88           | 58, 57, 72                   |
| 228 | 2-Acetamido-2-deoxy-α-D-glucopyranose                                    | 10036-64-3  | 29,10                             | 2,15                            | 1825,00           | 143, 101, 61                 |
| 229 | Benzenamine, 4-(4-pyridinylmethyl)-                                      | -           | 29,20                             | 3,39                            | 1828,13           | 106, 78, 183                 |
| 230 | Glycyl-L-histidyl-L-lysine acetate                                       | 72957-37-0  | 29,20                             | 2,34                            | 1828,13           | 254, 150, 83                 |
| 231 | 2,2'-(Ethane-1,2-diylbis(oxy))bis(ethane-2,1-diyl) diheptanoate          | -           | 29,30                             | 2,71                            | 1831,25           | 113, 85, 328                 |
| 232 | Pentanoic acid, 2-(2-hydroxy-2-methyl-4-phenylbut-3-ynyl)amino-4-methyl- | -           | 29,30                             | 1,56                            | 1831,25           | 75, 88, 144                  |
| 233 | 1,3-Dioxan-4-one, 6-methyl-2-phenyl-, (2R-cis)-                          | 112463-28-2 | 29,30                             | 3,10                            | 1831,25           | 106, 105, 78                 |
| 234 | 1-Methyl-d3-2-(3-pyridyl)-pyrrolidine                                    | 69980-24-1  | 29,30                             | 3,59                            | 1831,25           | 87, 86, 136                  |
| 235 | 3-(Acetyl)oxy-7,8,4'-trimethoxyflavone                                   | -           | 29,60                             | 2,57                            | 1840,63           | 328, 157, 406                |
| 236 | 1-(4-bromophenyl)-2-(piperazin-1-yl)propan-1-one                         | -           | 29,80                             | 2,77                            | 1846,88           | 113, 85, 58                  |
| 237 | 4,4-Dimethyl-6-semicarbazonoheptanoic acid                               | 16769-45-2  | 29,90                             | 2,50                            | 1850,00           | 115, 133, 91                 |
| 238 | Naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-                             | 483-78-3    | 29,90                             | 3,34                            | 1850,00           | 136, 168, 183                |
| 239 | Hexanedioic acid, 3-methoxy-, dimethyl ester                             | -           | 30,10                             | 2,01                            | 1856,25           | 131, 173, 75                 |
| 240 | 2-(Diethyl-phosphinoyl)-acetamide                                        | 13298-22-1  | 30,10                             | 1,58                            | 1856,25           | 92, 134, 120                 |
| 241 | L-Homocystine, N,N'-bis(dimethylaminomethylene)-, dimethyl ester         | -           | 30,20                             | 3,26                            | 1859,38           | 85, 143, 203                 |

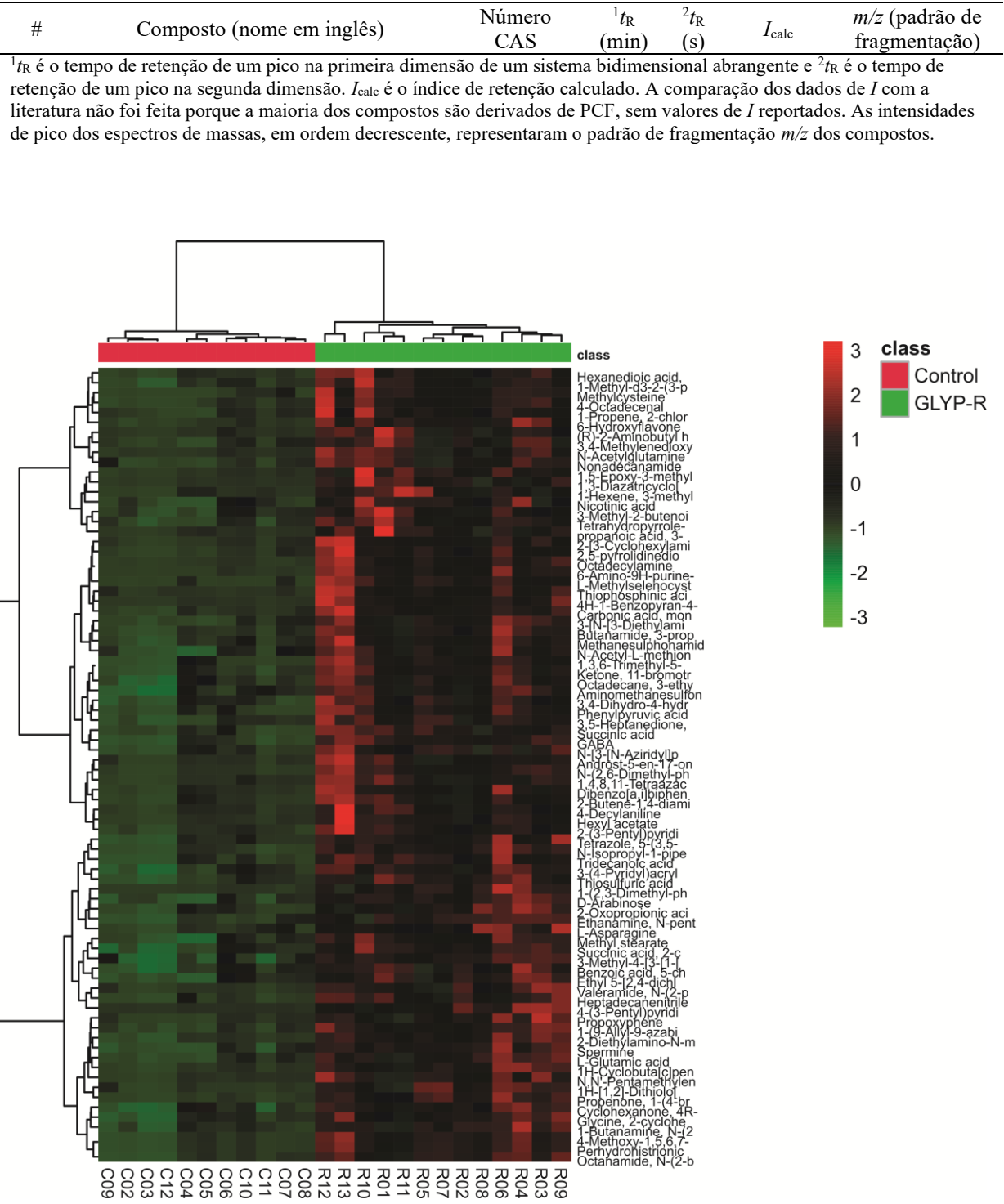
| #   | Composto (nome em inglês)                                                                                                                 | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 242 | 3-(Anthraniloylhydrazono)-N-(2-ethylphenyl)butyramide                                                                                     | 350039-69-9 | 30,20                             | 1,72                            | 1859,38           | 120, 106, 92                 |
| 243 | N-butyl-3-methoxyaniline                                                                                                                  | -           | 30,40                             | 3,08                            | 1865,63           | 180, 136, 108                |
| 244 | Phenylpyruvic acid                                                                                                                        | 21564-17-0  | 30,40                             | 2,56                            | 1865,63           | 180, 136, 108                |
| 245 | (5S,8R,8as)-8-(But-3-en-1-yl)-5-((Z)-pent-2-en-4-yn-1-yl)octahydroindolizine                                                              | -           | 30,70                             | 2,46                            | 1875,00           | 178, 179, 92                 |
| 246 | Ethyl acetoacetate 2-Nitroacetylhydrazone                                                                                                 | -           | 30,70                             | 3,10                            | 1875,00           | 150, 178, 136                |
| 247 | GABA                                                                                                                                      | -           | 30,70                             | 2,11                            | 1875,00           | 131, 87, 85                  |
| 248 | 2,2'-dinitrobibenzyl                                                                                                                      | 16968-19-7  | 30,70                             | 3,49                            | 1875,00           | 102, 120, 136                |
| 249 | 6-benzothiazolamine                                                                                                                       | 533-30-2    | 30,70                             | 2,71                            | 1875,00           | 150, 151, 58                 |
| 250 | 4-Methyl-2-phenylpyridine 1-oxide                                                                                                         | 80635-42-3  | 30,80                             | 3,96                            | 1878,13           | 185, 184, 182                |
| 251 | 5,5'-Ethylenebis(4-phenyl-2-thiazolamine)                                                                                                 | 102077-35-0 | 31,00                             | 2,71                            | 1884,38           | 189, 103, 61                 |
| 252 | Pyrimidine-2(1H)-thione, 4-(2-thienyl)-                                                                                                   | 175202-75-2 | 31,00                             | 2,34                            | 1884,38           | 136, 194, 108                |
| 253 | Propanoic acid, 2,3-dichloro-                                                                                                             | 565-64-0    | 31,20                             | 1,72                            | 1890,63           | 62, 61, 106                  |
| 254 | Pyridine-2-carboxamidine, 1-oxide                                                                                                         | -           | 31,40                             | 3,02                            | 1896,88           | 78, 79, 105                  |
| 255 | Acridine                                                                                                                                  | 260-94-6    | 31,50                             | 3,82                            | 1900,00           | 179, 177, 77                 |
| 256 | 4-octadecenal                                                                                                                             | 56554-98-4  | 31,50                             | 1,21                            | 1900,00           | 208, 56, 70                  |
| 257 | 4,5,6,7-Tetrahydrobenzo[b]thiophene-3-carbonitrile, 2-amino-6-methyl-                                                                     | 42225-04-7  | 31,60                             | 2,30                            | 1903,33           | 150, 192, 168                |
| 258 | L-methionine                                                                                                                              | -           | 31,70                             | 2,77                            | 1906,67           | 102, 62, 204                 |
| 259 | Pyridine, 3-propyl-                                                                                                                       | 4673-31-8   | 31,70                             | 3,36                            | 1906,67           | 121, 92, 207                 |
| 260 | L-Aspartic acid                                                                                                                           | -           | 31,90                             | 2,54                            | 1913,33           | 217, 131, 89                 |
| 261 | 1,3-Benzenediol, 5-(dimethylamino)-                                                                                                       | 40248-00-8  | 31,90                             | 3,80                            | 1913,33           | 152, 153, 78                 |
| 262 | 5-octadecenal                                                                                                                             | 56554-88-2  | 31,90                             | 1,46                            | 1913,33           | 82, 56, 70                   |
| 263 | P-Tetradecylaniline                                                                                                                       | 91323-12-5  | 32,00                             | 1,68                            | 1916,67           | 106, 92, 107                 |
| 264 | Carbamic acid, N-(4-acetylphenyl)-, (3-tetrahydrothienyl) ester                                                                           | -           | 32,30                             | 3,34                            | 1926,67           | 86, 87, 104                  |
| 265 | 1,5-Epoxy-3-methylcyclooctane-2,6-diol, diacetate                                                                                         | -           | 32,40                             | 3,71                            | 1930,00           | 136, 83, 82                  |
| 266 | 4-hydroxyproline                                                                                                                          | -           | 32,40                             | 2,26                            | 1930,00           | 230, 75, 88                  |
| 267 | Thiourea, N-(1,1-dimethylethyl)-N'-phenyl-                                                                                                | 14327-04-9  | 32,40                             | 3,08                            | 1930,00           | 208, 106, 62                 |
| 268 | 2-(Benzothiazol-2-ylsulfanyl)-N-(4-isopropyl-phenyl)-acetamide                                                                            | -           | 32,50                             | 2,65                            | 1933,33           | 208, 209, 148                |
| 269 | Carbonic acid, monoamide, N-dodecyl-, butyl ester                                                                                         | -           | 32,60                             | 1,46                            | 1936,67           | 61, 62, 58                   |
| 270 | Ethanamine, 1-(2-benzodioxanyl)-N-(2-benzodioxanylmethyl)-                                                                                | -           | 32,60                             | 2,01                            | 1936,67           | 192, 58, 193                 |
| 271 | [1,4,5]oxadithiepane                                                                                                                      | 3886-40-6   | 32,60                             | 3,71                            | 1936,67           | 90, 136, 137                 |
| 272 | (1H)Pyrrole-3-carbonitrile, 2-methyl-                                                                                                     | 26187-27-9  | 32,70                             | 3,04                            | 1940,00           | 106, 105, 192                |
| 273 | Oxiraneoctanoic acid, 3-octyl-, cis-                                                                                                      | 24560-98-3  | 32,80                             | 3,65                            | 1943,33           | 83, 82, 186                  |
| 274 | N,N'-Trimethylenebis[s-3-aminopropylthiosulfuric acid] Benzoic acid, 5-chloro-3-[[[(2-chloroacetyl)amino]methyl]-2-hydroxy-, methyl ester | 35871-60-4  | 32,90                             | 1,95                            | 1946,67           | 90, 56, 58                   |
| 275 | N-[3-[N-Aziridyl]propyl]-3-dimethylaminopropylamine                                                                                       | -           | 33,00                             | 2,40                            | 1950,00           | 182, 214, 242                |
| 276 | N-[3-[N-Aziridyl]propyl]-3-dimethylaminopropylamine                                                                                       | -           | 33,10                             | 1,13                            | 1953,33           | 58, 72, 86                   |
| 277 | Acetamide, N-[2-(2-piperidiny)ethyl]-                                                                                                     | -           | 33,20                             | 3,71                            | 1956,67           | 84, 170, 57                  |

| #   | Composto (nome em inglês)                                                               | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 278 | Androst-5-en-17-one, 3,16-bis(acetyloxy)-, (3 $\beta$ ,16 $\beta$ )-                    | 16597-57-2  | 33,20                             | 1,76                            | 1956,67           | 328, 120, 157                |
| 279 | Nonadecanamide                                                                          | 58185-32-3  | 33,20                             | 1,54                            | 1956,67           | 96, 56, 82                   |
| 280 | Diethyl L-glutamate, N-(isopropylloxycarbonyl)-                                         | -           | 33,30                             | 3,57                            | 1960,00           | 84, 170, 57                  |
| 281 | Valeramide, N-(2-phenylethyl)-N-hexadecyl-                                              | -           | 33,40                             | 1,58                            | 1963,33           | 254, 92, 82                  |
| 282 | 3-Benzylloxycarbonyl-3-hydroxypentanedioic acid, dimethyl ester                         | -           | 33,50                             | 2,28                            | 1966,67           | 143, 101, 133                |
| 283 | N-(2,6-Dimethyl-phenyl)-2-phenylcarbamoylmethylsulfanyl-acetamide                       | 350612-28-1 | 33,50                             | 1,74                            | 1966,67           | 120, 328, 106                |
| 284 | 6-Amino-9H-purine-9-propanoic acid (6-Amino-9H-purine-9-PA)                             | 51468-09-8  | 34,00                             | 2,30                            | 1983,33           | 136, 222, 108                |
| 285 | 6-Methoxy-2'-nitroaurone                                                                | 77764-80-8  | 34,00                             | 2,73                            | 1983,33           | 150, 151, 58                 |
| 286 | Acetamide, N-methyl-N-[4-[4-[2-hydroxyethyl]-1-hexahydropyrazinyl]-                     | -           | 34,50                             | 2,01                            | 2000,00           | 74, 89, 56                   |
| 287 | Trimethoquinol                                                                          | -           | 34,50                             | 2,71                            | 2000,00           | 164, 136, 165                |
| 288 | 2,6-dimethoxybenzonitrile                                                               | 16932-49-3  | 34,50                             | 3,16                            | 2000,00           | 163, 89, 92                  |
| 289 | Cyclopropanecarboxylic acid, 1-cyano-2-formyl-, ethyl ester, cis-2,2'-Bis[(3-           | 125700-82-5 | 34,60                             | 2,26                            | 2003,33           | 121, 139, 110                |
| 290 | dimethylaminopropyl)aminocarbonyl]diphenyl disulfide                                    | 32276-24-7  | 34,70                             | 2,01                            | 2006,67           | 136, 58, 56                  |
| 291 | N'-[1-[4-Chlorophenyl]-1H-tetrazol-5-yl]-N,N-diethyl-1,3-propanediamine                 | -           | 34,90                             | 1,19                            | 2013,33           | 208, 58, 72                  |
| 292 | Ethyl 5-[2,4-dichlorophenyl]pyrazole-3-carboxylate                                      | -           | 35,00                             | 2,54                            | 2016,67           | 182, 284, 184                |
| 293 | 1-eicosene                                                                              | 3452-07-1   | 35,00                             | 1,95                            | 2016,67           | 136, 97, 58                  |
| 294 | Diethylmalonic acid, ethyl 4-methylpent-2-yl ester                                      | -           | 35,10                             | 2,79                            | 2020,00           | 85, 143, 145                 |
| 295 | 1-(4-Fluoro-phenyl)-2-methyl-4,5-dioxo-pyrrolidine-2-carboxylic acid ethyl ester        | -           | 35,20                             | 2,26                            | 2023,33           | 206, 136, 207                |
| 296 | 4,cis-5-Dihydroxy-2-phenyl-cis-6-(tetrahydro-2-pyranyloxymethyl)-perhydro-1,2-oxazine   | -           | 35,30                             | 3,12                            | 2026,67           | 106, 171, 105                |
| 297 | Acetic acid benzo[1,2,5]thiadiazol-4-yl ester                                           | 1753-22-6   | 35,30                             | 3,71                            | 2026,67           | 152, 124, 97                 |
| 298 | L-Glutamic acid                                                                         | -           | 35,40                             | 2,03                            | 2030,00           | 85, 143, 171                 |
| 299 | L-phenylalanine                                                                         | -           | 35,60                             | 2,71                            | 2036,67           | 149, 92, 75                  |
| 300 | Methyl stearate                                                                         | -           | 35,70                             | 2,26                            | 2040,00           | 306, 75, 88                  |
| 301 | 13-Hexyloxacyclotridecan-2-one                                                          | 673-02-9    | 35,70                             | 3,67                            | 2040,00           | 83, 82, 81                   |
| 302 | DL-Leu-DL-Val, N-(methoxycarbonyl)-, methyl ester (isomer 2)                            | -           | 35,80                             | 1,62                            | 2043,33           | 56, 75, 88                   |
| 303 | Fumaric acid, monoamide, N,N-dimethyl-, 4-chloro-2-methylphenyl ester                   | -           | 36,00                             | 5,05                            | 2050,00           | 126, 78, 98                  |
| 304 | 1H-Pyrimidine-2,4-dione, 1-(2,3-dihydroxypropyl)-                                       | -           | 36,20                             | 3,10                            | 2056,67           | 83, 82, 186                  |
| 305 | Hydrazinecarboxamide, 2-(6-ethoxydihydro-2-methyl-2H-pyran-3(4H)-ylidene)-, (2R-trans)- | 51642-57-0  | 36,20                             | 3,63                            | 2056,67           | 83, 82, 186                  |

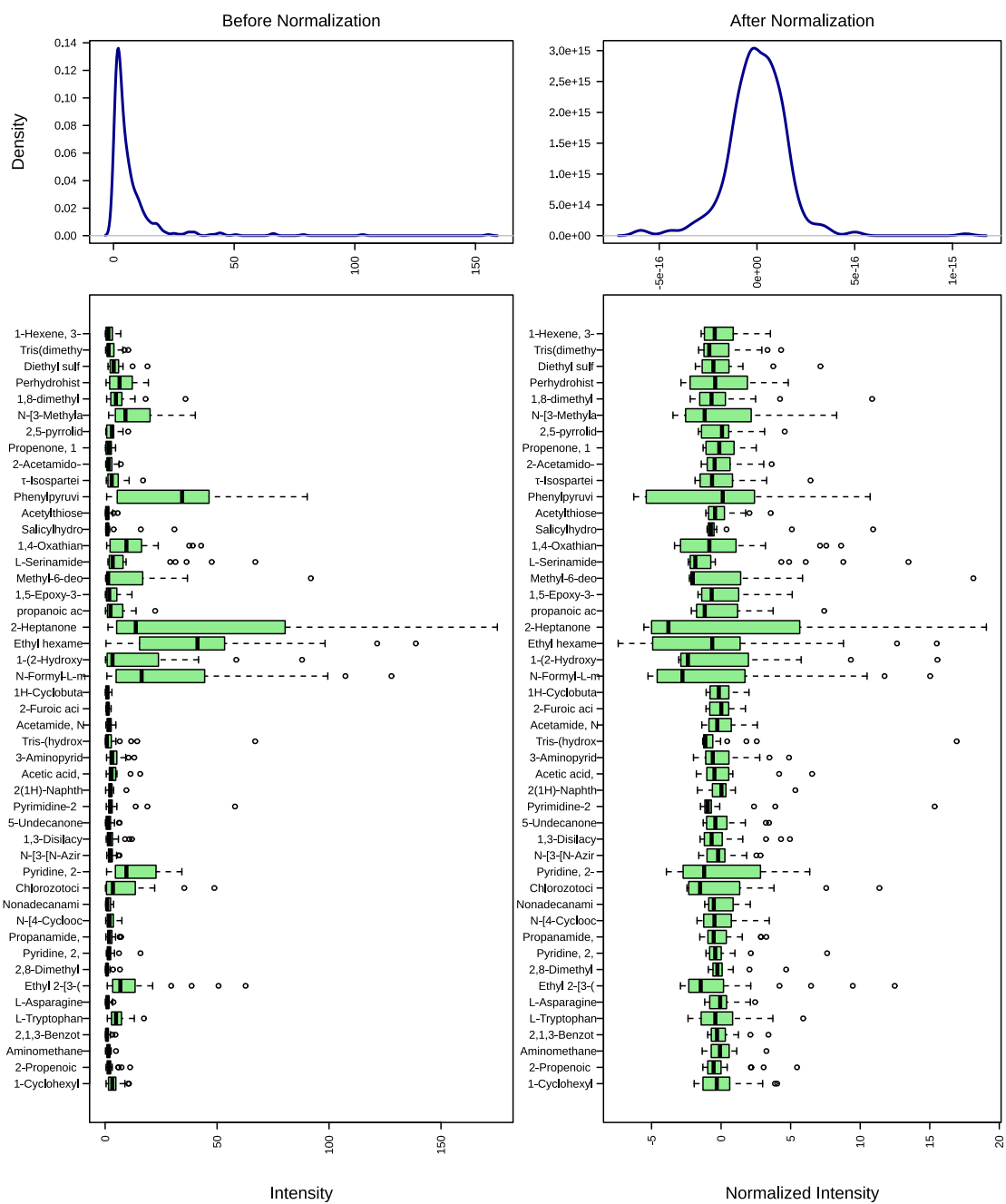
| #   | Composto (nome em inglês)                                                                            | Número CAS | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 306 | 1H-2-Pyrrolecarbaldehyde, 3,4-dimethyl-5-[(3,4,5-trimethyl-1H-2-pyrrolyl)methyl]                     | -          | 36,50                             | 2,15                            | 2066,67           | 122, 108, 244                |
| 307 | 2-Methyl-3[(E)-3-phenylprop-2-enyl]-perhydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-1,4-dion                           | -          | 36,60                             | 1,52                            | 2070,00           | 56, 75, 70                   |
| 308 | (R)-2-Aminobutyl hydrogen sulfate                                                                    | 42163-16-6 | 36,60                             | 1,74                            | 2070,00           | 64, 56, 136                  |
| 309 | 3,4-methylenedioxybenzaldehyde (3,4-mdb)                                                             | -          | 36,90                             | 2,93                            | 2080,00           | 150, 96, 300                 |
| 310 | 2-piperidinemethanamine                                                                              | 22990-77-8 | 37,00                             | 1,42                            | 2083,33           | 56, 84, 83                   |
| 311 | Sophoramine                                                                                          | 6882-66-2  | 37,10                             | 2,15                            | 2086,67           | 244, 122, 136                |
| 312 | Weberine, 5-desmethoxy-                                                                              | 4838-93-1  | 37,20                             | 2,50                            | 2090,00           | 236, 194, 237                |
| 313 | Nicotinic acid                                                                                       | 20609-14-7 | 37,40                             | 2,30                            | 2096,67           | 136, 222, 108                |
| 314 | 2-(Butylamino)ethanethiol                                                                            | 5842-00-2  | 37,40                             | 3,92                            | 2096,67           | 87, 86, 90                   |
| 315 | 1,4-Oxathian-2-one, 6-methyl-                                                                        | 7670-39-5  | 37,50                             | 3,22                            | 2100,00           | 87, 86, 90                   |
| 316 | Succinic acid                                                                                        | 22663-55-4 | 37,60                             | 2,87                            | 2103,45           | 148, 250, 164                |
| 317 | N-Pentanol, 5-[2-methyl-1-cycloazapropyl]-                                                           | -          | 37,70                             | 1,46                            | 2106,90           | 56, 71, 70                   |
| 318 | Benzenemethanamine, N,N-dimethyl-4-nitro-                                                            | 15184-96-0 | 37,70                             | 2,26                            | 2106,90           | 90, 136, 108                 |
| 319 | N-Nonane, 1-[1-cycloazapropyl]-                                                                      | 14924-95-9 | 37,80                             | 1,27                            | 2110,35           | 56, 70, 98                   |
| 320 | Ethyl hexamethylenedicarbamate                                                                       | 3066-65-7  | 37,90                             | 1,58                            | 2113,79           | 74, 89, 102                  |
| 321 | Malonic acid                                                                                         | -          | 38,40                             | 2,54                            | 2131,04           | 182, 284, 184                |
| 322 | 1,2-Ethanediamine, N,N'-dimethyl-N,N'-bis(1-methylethyl)-                                            | 54966-00-6 | 38,40                             | 2,93                            | 2131,04           | 87, 86, 88                   |
| 323 | Ethanamine, 1,N-dimethyl-N-(n-tetradecanyl)-2-hydroxy-2-phenyl-                                      | -          | 38,70                             | 1,07                            | 2141,38           | 254, 58, 356                 |
| 324 | N-Formyl-L-methionine                                                                                | -          | 38,80                             | 1,52                            | 2144,83           | 61, 62, 257                  |
| 325 | 9-(2',2'-Dimethylpropanoilhydrazono)-3,6-dichloro-2,7-bis-[2-(diethylamino)-ethoxy]fluorene          | -          | 38,90                             | 3,57                            | 2148,28           | 149, 92, 83                  |
| 326 | Benzidine                                                                                            | 92-87-5    | 38,90                             | 3,30                            | 2148,28           | 184, 92, 149                 |
| 327 | Ethyl 2-[3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1H-1,2,4-triazol-5-yl]acetate                                    | -          | 39,00                             | 2,28                            | 2151,72           | 306, 220, 148                |
| 328 | 2-O-Tolyl-benzo[d]isothiazol-3-one                                                                   | -          | 39,20                             | 3,78                            | 2158,62           | 224, 136, 108                |
| 329 | Heptadecanenitrile                                                                                   | 5399-02-0  | 39,30                             | 1,56                            | 2162,07           | 96, 56, 82                   |
| 330 | 1,3,5-Triazine-2,4-diamine, 6-(4-tert-butylphenyl)-                                                  | 59386-76-4 | 39,40                             | 2,77                            | 2165,52           | 228, 144, 136                |
| 331 | 6-hydroxyflavone                                                                                     | 6665-83-4  | 39,50                             | 2,63                            | 2168,97           | 136, 238, 86                 |
| 332 | 3-(3-Chlorophenyl)-N-(2-methoxyphenylmethyl)-1,2-oxazole-5-carboxamide                               | -          | 39,60                             | 1,81                            | 2172,41           | 136, 404, 198                |
| 333 | N-acetylglutamine                                                                                    | -          | 39,60                             | 2,32                            | 2172,41           | 113, 140, 158                |
| 334 | L-Serinamide, 1-methyl-5-oxo-L-prolyl-N,1-dimethyl-L-histidyl-N,1-L-tryptophyl-N,N,N2,O-tetramethyl- | 77572-76-0 | 39,60                             | 2,48                            | 2172,41           | 96, 113, 97                  |
| 335 | Memantine                                                                                            | 19982-08-2 | 39,90                             | 2,17                            | 2182,76           | 122, 108, 164                |
| 336 | N-[4-Cyclooctylaminobutyl]aziridine                                                                  | -          | 40,00                             | 1,40                            | 2186,21           | 70, 56, 84                   |
| 337 | 3-Oxazolepropanamide, N-(2-fluorophenyl)tetrahydro-4-hydroxy-4,5,5-trimethyl-2-oxo-                  | -          | 40,20                             | 2,50                            | 2193,10           | 136, 96, 111                 |
| 338 | Furan-2-carboxamide, N-butyl-N-methyl-                                                               | -          | 40,20                             | 3,32                            | 2193,10           | 95, 181, 96                  |

| #   | Composto (nome em inglês)                                                                                                        | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 339 | Methylamine, N-(1-methylheptylidene)-                                                                                            | 18641-72-0  | 40,30                             | 1,48                            | 2196,55           | 56, 71, 70                   |
| 340 | (4-Ethoxyphenyl)ethylamine                                                                                                       | 65570-13-0  | 40,40                             | 2,20                            | 2200,00           | 136, 150, 108                |
| 341 | Carbonic acid, monoamide, N-tetradecyl-, propyl ester                                                                            | -           | 40,70                             | 1,62                            | 2211,11           | 62, 74, 61                   |
| 342 | Isobutyric acid, α-[2,4,5-trimethylphenyloxy]-                                                                                   | 86550-00-7  | 40,80                             | 2,93                            | 2214,82           | 136, 222, 108                |
| 343 | A-Hydroxystearic acid                                                                                                            | 1330-70-7   | 41,40                             | 2,57                            | 2237,04           | 136, 356, 111                |
| 344 | 1-(4-Methoxybenzyl)biguanidine                                                                                                   | 38164-13-5  | 41,40                             | 3,49                            | 2237,04           | 356, 136, 134                |
| 345 | Propanoic acid, 3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-, 2-(3,4-dimethylphenyl)hydrazide                                           | -           | 41,50                             | 2,93                            | 2240,74           | 252, 136, 74                 |
| 346 | P-[Chlorophenyl]maleic anhydride                                                                                                 | 3152-15-6   | 42,20                             | 2,03                            | 2266,67           | 136, 74, 86                  |
| 347 | 5-Isoxazolidinecarboxylic acid, 2-[2,3:5,6-bis-O-(1-methylethylidene)-α-D-mannofuranosyl]-3,5-dimethyl-, methyl ester, (3S-cis)- | 64018-58-2  | 42,20                             | 2,67                            | 2266,67           | 96, 328, 100                 |
| 348 | 1,4,7,10-Benzotetraoxacyclododecin, 2,3,5,6,8,9-hexahydro-                                                                       | 14174-08-4  | 42,50                             | 2,96                            | 2277,78           | 224, 136, 108                |
| 349 | N-[2-[1-Piperazyl]ethyl]-N'-[2-thiophosphatoethyl]-1,3-propanamine                                                               | 62220-23-9  | 42,50                             | 2,05                            | 2277,78           | 56, 99, 116                  |
| 350 | N-[12-Aminododecyl]aziridine                                                                                                     | -           | 42,70                             | 1,44                            | 2285,19           | 58, 70, 56                   |
| 351 | 1-Methyl-8-propyl-3,6-diazahomoadamantan-9-ol                                                                                    | 138023-30-0 | 42,90                             | 2,87                            | 2292,59           | 136, 224, 90                 |
| 352 | Methylcysteine                                                                                                                   | -           | 43,00                             | 1,66                            | 2296,30           | 62, 74, 56                   |
| 353 | 1,8-Diazacyclotetradecane-2,9-dione                                                                                              | 5776-79-4   | 43,00                             | 2,50                            | 2296,30           | 96, 97, 86                   |
| 354 | 12-Hydroxystearic acid                                                                                                           | 106-14-9    | 43,20                             | 3,75                            | 2303,85           | 60, 73, 83                   |
| 355 | 4,5-Dimethoxy-2-biphenylcarboxylic acid                                                                                          | 162137-38-4 | 43,50                             | 3,69                            | 2315,39           | 258, 136, 259                |
| 356 | 3-Hydroxy-dl-kynurenine                                                                                                          | 2147-61-7   | 43,80                             | 2,63                            | 2326,92           | 250, 162, 206                |
| 357 | Carbonic acid, monoamide, N-ethyl-, decyl ester                                                                                  | -           | 43,90                             | 2,26                            | 2330,77           | 90, 58, 56                   |
| 358 | Perhydrohistrionicotoxin, 2-depenty-, methoxyformate(ester)                                                                      | 82260-23-9  | 43,90                             | 1,13                            | 2330,77           | 208, 209, 97                 |
| 359 | 4H-1-Benzopyran-4-one, 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-6,7-dimethoxy-                                                                    | 24126-93-0  | 44,10                             | 1,21                            | 2338,46           | 342, 74, 58                  |
| 360 | 3-Pyridinecarboxylic acid, 4-hydroxy-9-Acetamido-1-(4-acetoxyphenylmethyl)-3,6-diazahomoadamantane                               | 609-70-1    | 44,10                             | 3,71                            | 2338,46           | 95, 181, 139                 |
| 361 | 147084-74-0                                                                                                                      | 147084-74-0 | 44,20                             | 2,54                            | 2342,31           | 136, 224, 82                 |
| 362 | Aminoacetamide, N-methyl-N-[4-(1-pyrrolidinyl)-2-butynyl]-                                                                       | 124045-52-9 | 44,50                             | 2,83                            | 2353,85           | 121, 56, 136                 |
| 363 | 3-Amino-3-(6,7,9,10,12,13-hexahydro-5,8,11,14-tetraoxa-benzocyclododecen-2-yl)- propionic acid                                   | -           | 44,80                             | 2,96                            | 2365,39           | 252, 136, 74                 |
| 364 | Succinic acid, 2-propyl propyl ester                                                                                             | -           | 45,00                             | 1,95                            | 2373,08           | 101, 208, 56                 |
| 365 | 1,8-Dimethyl-3,6-diazahomoadamantan-9-ol                                                                                         | -           | 45,10                             | 1,78                            | 2376,92           | 96, 56, 58                   |
| 366 | L-Ornithine, N,N'-bis(isopropylloxycarbonyl)-, methyl ester                                                                      | -           | 45,10                             | 2,46                            | 2376,92           | 328, 111, 96                 |
| 367 | Propanoic acid, 3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)-2-methyl-, 2-(2,4-dimethylphenyl)hydrazide                                           | -           | 45,20                             | 3,02                            | 2380,77           | 118, 252, 136                |
| 368 | Dicyclohexyl-4,4'-diol                                                                                                           | 20601-38-1  | 45,50                             | 2,20                            | 2392,31           | 80, 92, 81                   |

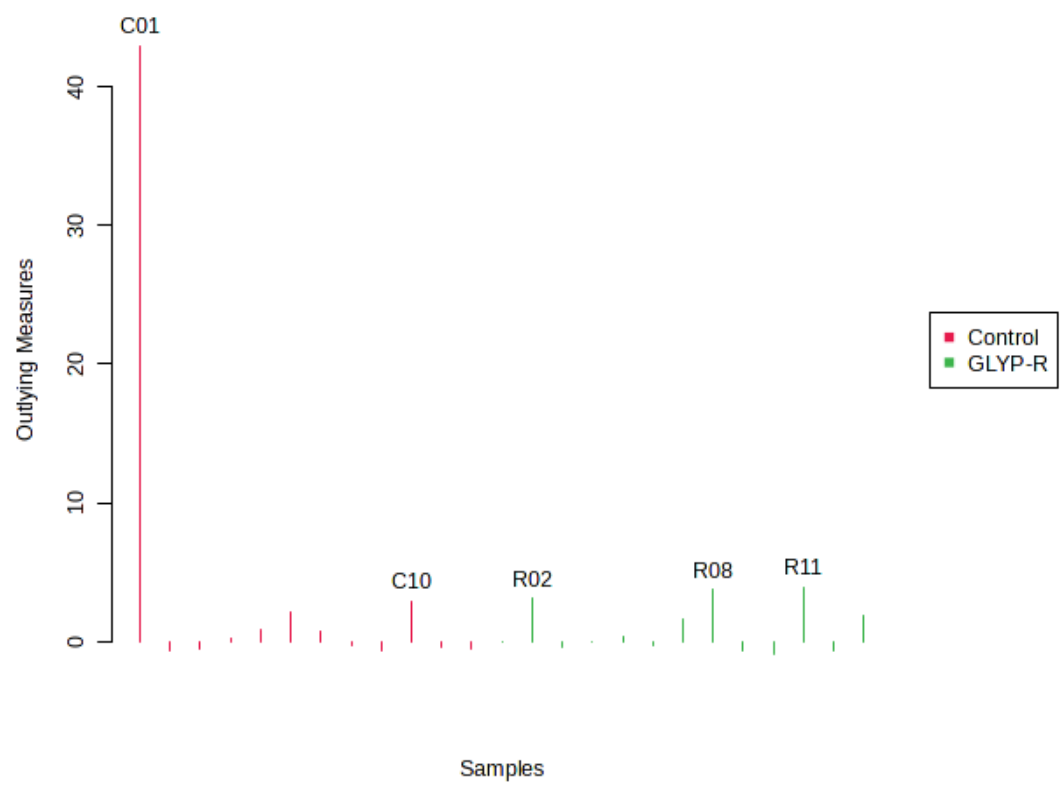
| #   | Composto (nome em inglês)                                                       | Número CAS  | <sup>1</sup> t <sub>R</sub> (min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub> (s) | I <sub>calc</sub> | m/z (padrão de fragmentação) |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------|------------------------------|
| 369 | Propionitrile, 3-di(3-dimethylaminopropyl)amino-                                | 64971-37-5  | 45,90                             | 1,56                            | 2407,69           | 70, 85, 240                  |
| 370 | 1,3,2-Dioxaborolan-4-one, 2-methyl-5-phenyl-                                    | 54518-06-8  | 46,30                             | 2,77                            | 2423,08           | 90, 62, 132                  |
| 371 | L-cysteine                                                                      | -           | 46,60                             | 2,46                            | 2434,62           | 75, 103, 163                 |
| 372 | Octadecylamine                                                                  | 2439-55-6   | 47,00                             | 1,25                            | 2450,00           | 58, 57, 282                  |
| 373 | T-Isosparteine                                                                  | 6838-37-5   | 47,30                             | 2,44                            | 2461,54           | 56, 70, 75                   |
| 374 | L-lysine                                                                        | -           | 47,70                             | 3,57                            | 2476,92           | 171, 129, 85                 |
| 375 | L-histidine                                                                     | -           | 49,60                             | 2,93                            | 2554,17           | 82, 137, 181                 |
| 376 | 4H-1-Benzopyran-4-one, 6-hydroxy-2-methyl-                                      | 22105-12-0  | 50,30                             | 3,06                            | 2583,33           | 282, 136, 176                |
| 377 | 6-Hydroxynicotinic acid                                                         | 54255-48-0  | 50,30                             | 3,92                            | 2583,33           | 268, 136, 134                |
| 378 | Arachidonoyl-N-methyl amide, N-(pentafluoropropionyl)-                          | -           | 50,60                             | 2,54                            | 2595,83           | 92, 80, 68                   |
| 379 | Thiosulfuric acid S-2-[[4-[[1-pyrrolidinyl]carbonyl]butyl]amino]ethyl ester     | -           | 51,00                             | 1,93                            | 2612,50           | 64, 56, 70                   |
| 380 | 1-Cyclohexyl-2-methyl-4-phenylimidazoline                                       | -           | 51,20                             | 1,95                            | 2620,83           | 131, 118, 132                |
| 381 | 2-(2-Naphthyl)-2-hydroxypropanoic acid                                          | 10441-53-9  | 51,20                             | 3,90                            | 2620,83           | 171, 129, 90                 |
| 382 | 9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)-                                         | 1937-62-8   | 51,70                             | 2,07                            | 2641,67           | 58, 208, 72                  |
| 383 | 1,4,8,11-Tetraazacyclotetradecane, 1,4,8,11-tetramethyl-                        | 41203-22-9  | 52,10                             | 1,37                            | 2658,33           | 58, 57, 72                   |
| 384 | L-tyrosine                                                                      | -           | 52,20                             | 3,88                            | 2662,50           | 108, 165, 207                |
| 385 | 9,10-Anthracenedione, 1-(methylamino)-4-[(4-methylphenyl)amino]-                | 128-85-8    | 52,20                             | 6,24                            | 2662,50           | 342, 74, 430                 |
| 386 | 2-Hydroxyethyl 2,4-dihydroxybenzoate                                            | 145073-32-1 | 52,20                             | 0,74                            | 2662,50           | 136, 404, 198                |
| 387 | 2(1H)-Naphthalenone, 3,4-dihydro-                                               | 530-93-8    | 52,20                             | 2,93                            | 2662,50           | 104, 280, 146                |
| 388 | Acetamide, N-[4-[2-(2-pyridinylamino)-4-thiazolyl]phenyl]-                      | -           | 53,60                             | 3,37                            | 2722,73           | 310, 90, 60                  |
| 389 | L-tryptophan                                                                    | -           | 53,90                             | 4,15                            | 2736,36           | 131, 132, 208                |
| 390 | Tridecanoic acid                                                                | 638-53-9    | 54,00                             | 2,83                            | 2740,91           | 60, 73, 56                   |
| 391 | N-[[6-Cyclooctylamino]hexyl]aziridine                                           | -           | 54,10                             | 1,89                            | 2745,46           | 58, 208, 72                  |
| 392 | N-Isopropyl-thiopropionamide                                                    | -           | 56,10                             | 2,11                            | 2836,36           | 131, 208, 118                |
| 393 | Octocrylene                                                                     | 6197-30-4   | 56,10                             | 4,08                            | 2836,36           | 249, 233, 205                |
| 394 | Pyrrolidine-3-carboxamide, 1-(4-butylphenyl)-5-oxo-N-(2-fluorophenyl)-          | -           | 56,60                             | 4,82                            | 2859,09           | 354, 90, 162                 |
| 395 | 4-Methoxy-1,5,6,7-tetramethylbicyclo(2,2,2)octan-2-one oxime                    | -           | 56,80                             | 1,97                            | 2868,18           | 208, 282, 58                 |
| 396 | Octanamide, N-(2-butyl)-N-methyl-                                               | -           | 57,00                             | 1,50                            | 2877,27           | 208, 58, 74                  |
| 397 | 3,4-Oxazolidinedicarboxylic acid, 2-(1-methylethyl)-, 3-methyl ester, (2R-cis)- | 104173-26-4 | 57,90                             | 4,33                            | -                 | 174, 56, 230                 |
| 398 | 1-(3-(Cyclohexylamino)propyl)guanidine                                          | -           | 58,30                             | 3,37                            | -                 | 60, 73, 56                   |
| 399 | 2-Piperazineacetic acid, 3-oxo-, ethyl ester                                    | 33422-35-4  | 59,00                             | 2,44                            | -                 | 186, 208, 58                 |
| 400 | 9H-Carbazole-1-carboxylic acid, 4-(1H-indol-3-yl)-, methyl ester                | 77828-60-5  | 59,20                             | 4,37                            | -                 | 118, 340, 60                 |



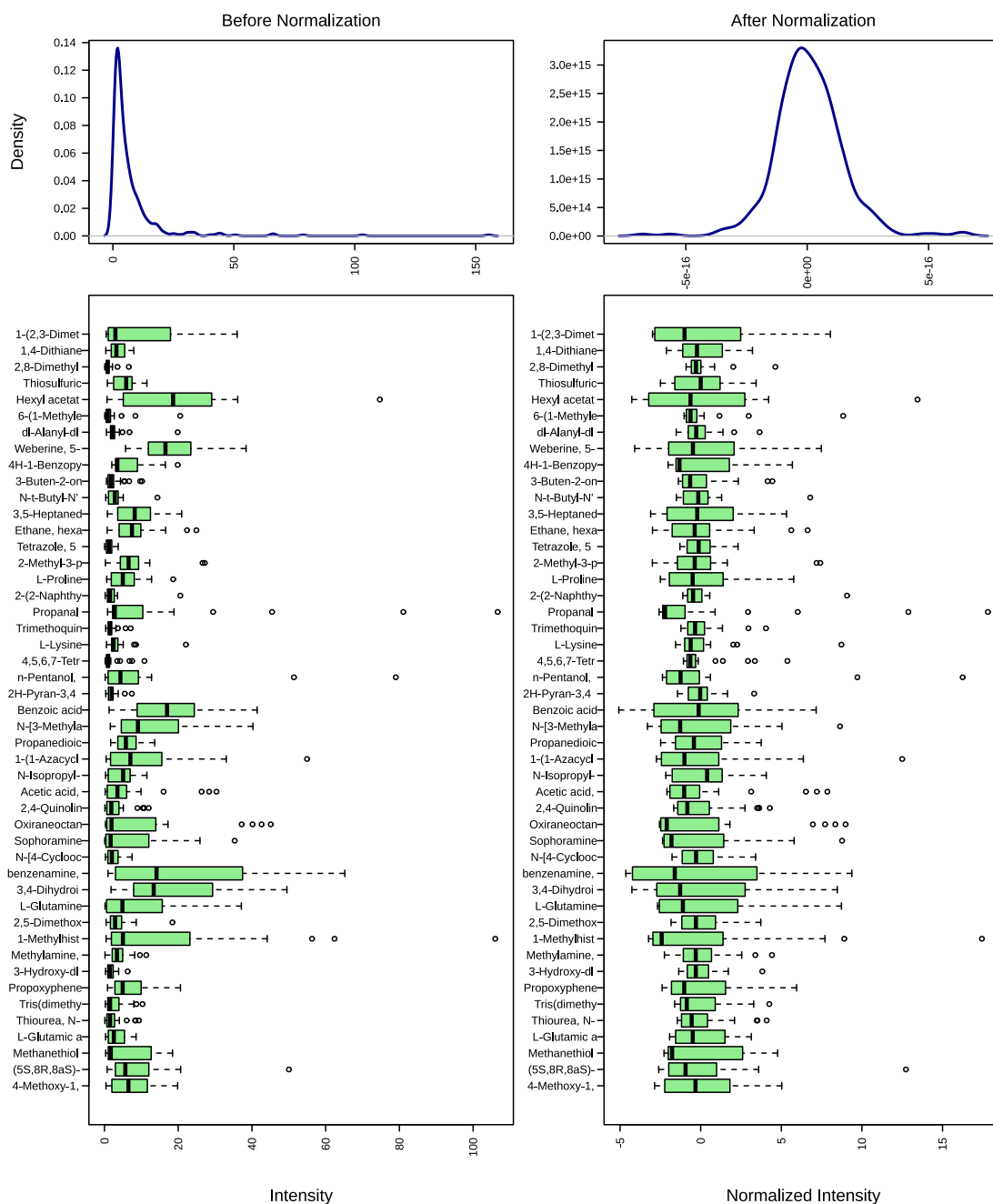
**Figura A4 - Heatmap** dos dados normalizados mostrando os 100 metabólitos mais intensos em células expostas e não expostas ao GLYP-R.

e) Normalização dos *features* e remoção de *outliers*Figura A5 - Normalização dos *features* antes dos tratamentos estatísticos.

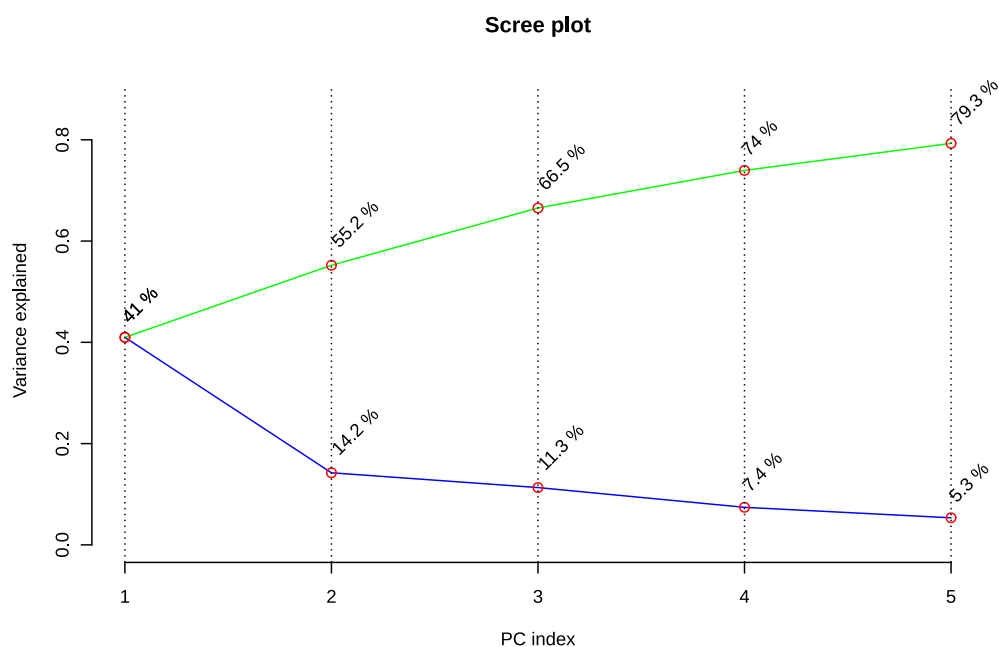




**Figura A6** - Avaliação de *outliers* usando a ferramenta Random Forest.



**Figura A7** - Normalização de *features* após a remoção de *outlier*, fornecendo melhor distribuição normal (curva gaussiana com formato mais similar ao de um “sino”).

f) *Análise PCA **untargeted***

**Figura A8** - Porcentagem de variância explicada de acordo com o número de PCs.

g) **Resultado do módulo Enrichment Analysis do MetaboAnalyst**

**Tabela A3** - Resultados da análise *untargeted* de enriquecimento (*enrichment*) de vias metabólicas.

| Conjunto de metabólitos                           | Total | Hits | Expect | <i>p</i> -valor |
|---------------------------------------------------|-------|------|--------|-----------------|
| Arginine and Proline Metabolism                   | 52    | 2    | 0,519  | 0,091           |
| Ketone Body Metabolism                            | 13    | 1    | 0,130  | 0,123           |
| Alpha Linolenic Acid and Linoleic Acid Metabolism | 17    | 1    | 0,170  | 0,158           |
| Spermidine and Spermine Biosynthesis              | 18    | 1    | 0,180  | 0,166           |
| Butyrate Metabolism                               | 19    | 1    | 0,190  | 0,175           |
| Mitochondrial Electron Transport Chain            | 19    | 1    | 0,190  | 0,175           |
| Carnitine Synthesis                               | 22    | 1    | 0,220  | 0,200           |
| Oxidation of Branched Chain Fatty Acids           | 26    | 1    | 0,259  | 0,232           |
| Phytanic Acid Peroxisomal Oxidation               | 26    | 1    | 0,259  | 0,232           |
| Phenylalanine and Tyrosine Metabolism             | 27    | 1    | 0,269  | 0,240           |
| Selenoamino Acid Metabolism                       | 27    | 1    | 0,269  | 0,240           |
| Citric Acid Cycle                                 | 32    | 1    | 0,319  | 0,278           |
| Nicotinate and Nicotinamide Metabolism            | 35    | 1    | 0,349  | 0,300           |
| Aspartate Metabolism                              | 35    | 1    | 0,349  | 0,300           |
| Fatty Acid Biosynthesis                           | 35    | 1    | 0,349  | 0,300           |
| Histidine Metabolism                              | 42    | 1    | 0,419  | 0,350           |

| Conjunto de metabólitos                    | Total | Hits | Expect | <i>p</i> -valor |
|--------------------------------------------|-------|------|--------|-----------------|
| Glutamate Metabolism                       | 48    | 1    | 0,479  | 0,389           |
| Warburg Effect                             | 57    | 1    | 0,569  | 0,445           |
| Valine, Leucine and Isoleucine Degradation | 59    | 1    | 0,589  | 0,456           |
| Purine Metabolism                          | 73    | 1    | 0,729  | 0,532           |

**Tabela A4** - Metabólitos usados nas análises de vias metabólicas e seus identificadores HMDB, PubChem e KEGG.

| Query                                      | MetaboAnalyst match name           | HMDB        | PubChem | KEGG   |
|--------------------------------------------|------------------------------------|-------------|---------|--------|
| Methylcysteine                             | Methylcysteine                     | HMDB0002108 | 24417   | C22040 |
| N-Acetyl-L-methionine                      | N-Acetyl-L-methionine              | HMDB0011745 | 448580  | C02712 |
| Methyl stearate                            | Methyl stearate                    | HMDB0034154 | 8201    | -      |
| Linoleic acid                              | Linoleic acid                      | HMDB0000673 | 5280450 | C01595 |
| 3,4-Methylenedioxybenzaldehyde             | 3,4-Methylenedioxybenzaldehyde     | HMDB0032612 | 8438    | C10812 |
| 2-Heptanone                                | 2-Heptanone                        | HMDB0003671 | 8051    | C08380 |
| Nicotinic acid                             | Nicotinic acid                     | HMDB0001488 | 938     | C00253 |
| 6-Amino-9H-purine-9-propanoic acid         | 6-Amino-9H-purine-9-propanoic acid | HMDB0029939 | 255450  | -      |
| Spermine                                   | Spermine                           | HMDB0001256 | 1103    | C00750 |
| L-Methylselenocysteine                     | Se-Methylselenocysteine            | HMDB0004113 | 147004  | C05689 |
| Phenylpyruvic acid                         | Phenylpyruvic acid                 | HMDB0000205 | 997     | C00166 |
| D-Arabinose                                | D-Arabinose                        | HMDB0029942 | 444173  | C00216 |
| N-Formyl-L-methionine                      | N-Formyl-L-methionine              | HMDB0001015 | 439750  | C03145 |
| Isopropyl hexadecanoate                    | Isopropyl hexadecanoate            | HMDB0035474 | 8907    | -      |
| Adenine                                    | Adenine                            | HMDB0000034 | 190     | C00147 |
| Hexyl acetate                              | Hexyl acetate                      | HMDB0029980 | 8908    | -      |
| Phenyl acetate                             | Phenyl acetate                     | HMDB0040733 | 31229   | C15583 |
| Succinic acid                              | Succinic acid                      | HMDB0000254 | 1110    | C00042 |
| N-Acetyl-L-glutamic acid                   | N-Acetyl-L-glutamic acid           | HMDB0001138 | 70914   | C00624 |
| 6-Hydroxynicotinic acid                    | 6-Hydroxynicotinic acid            | HMDB0002658 | 72924   | C01020 |
| Malonic acid                               | Malonic acid                       | HMDB0000691 | 867     | C00383 |
| Octadecylamine                             | Octadecylamine                     | HMDB0029586 | 15793   | -      |
| 4-Hydroxyproline                           | 4-Hydroxyproline                   | HMDB0000725 | 5810    | C01157 |
| 1-Methylhistidine                          | 1-Methylhistidine                  | HMDB0000001 | 92105   | C01152 |
| 1-(2-Hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-ethanone | Xanthoxylin                        | HMDB0029645 | 66654   | C10726 |

**Tabela A5** - Nomes e importância (*impact*) das vias metabólicas na análise *untargeted* de metabólitos.

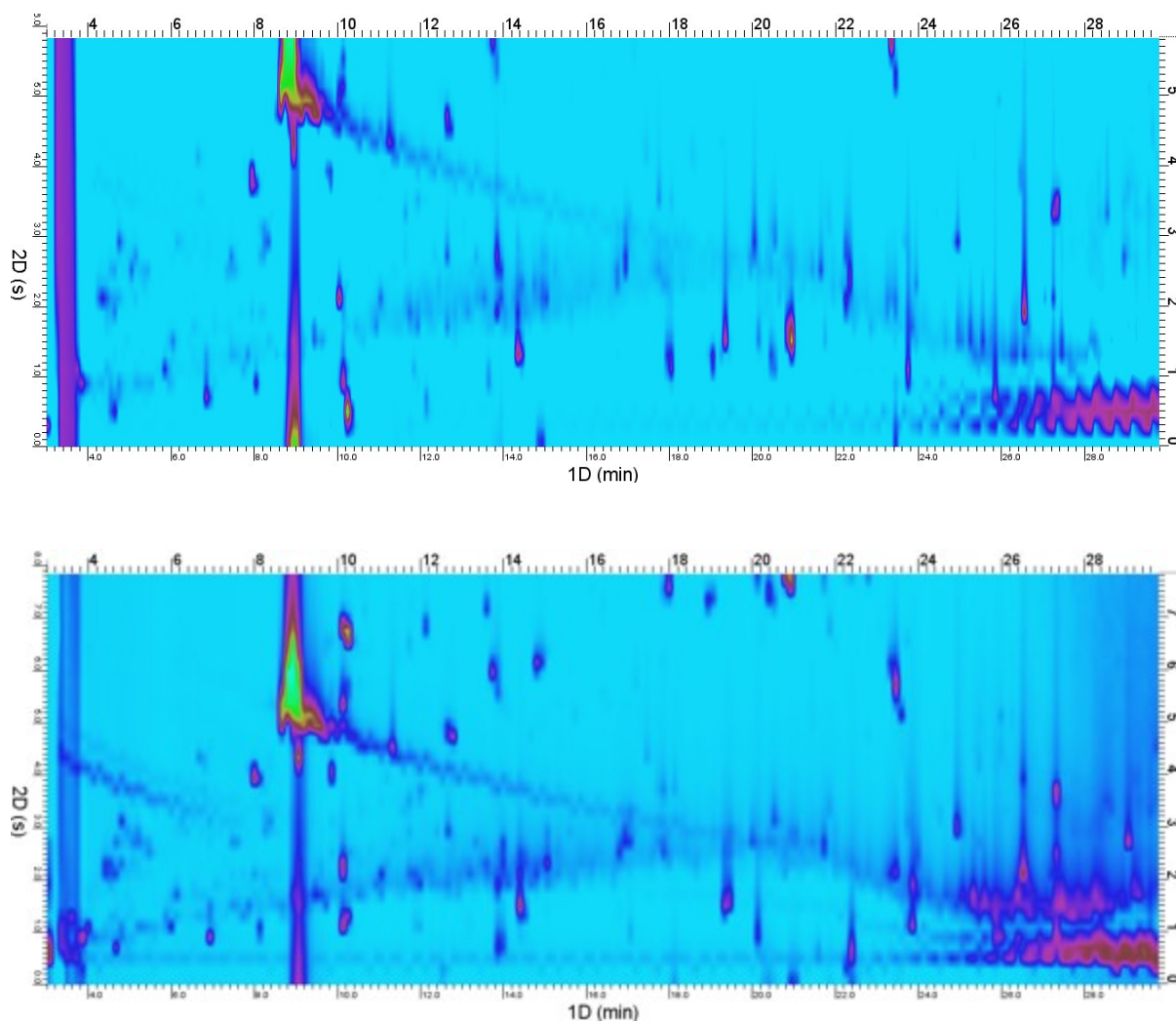
| Pathway name                                        | Match status | <i>p</i> -value | Impact  |
|-----------------------------------------------------|--------------|-----------------|---------|
| Arginine and proline metabolism                     | 2/36         | 0,024549        | 0,02093 |
| Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis | 1/4          | 0,027671        | 0       |
| Linoleic acid metabolism                            | 1/5          | 0,034479        | 1,0     |
| Phenylalanine metabolism                            | 1/8          | 0,054645        | 0,2619  |
| Arginine biosynthesis                               | 1/14         | 0,093831        | 0       |
| Butanoate metabolism                                | 1/15         | 0,10022         | 0       |
| Nicotinate and nicotinamide metabolism              | 1/15         | 0,10022         | 0       |
| Histidine metabolism                                | 1/16         | 0,10656         | 0       |
| Citrate cycle (TCA cycle)                           | 1/20         | 0,13154         | 0,03273 |
| Selenocompound metabolism                           | 1/20         | 0,13154         | 0,06818 |
| beta-Alanine metabolism                             | 1/21         | 0,13768         | 0,05597 |
| Propanoate metabolism                               | 1/22         | 0,14378         | 0       |
| Alanine, aspartate and glutamate metabolism         | 1/28         | 0,17959         | 0       |
| Glutathione metabolism                              | 1/28         | 0,17959         | 0       |
| Biosynthesis of unsaturated fatty acids             | 1/36         | 0,22521         | 0       |
| Fatty acid biosynthesis                             | 1/47         | 0,28418         | 0       |
| Purine metabolism                                   | 1/70         | 0,39451         | 0,01908 |

## APÊNDICE 2 – Análise de material particulado (PTS e MP<sub>2,5</sub>) em Brumadinho usando DI-SPME-GC×GC/Q-TOFMS

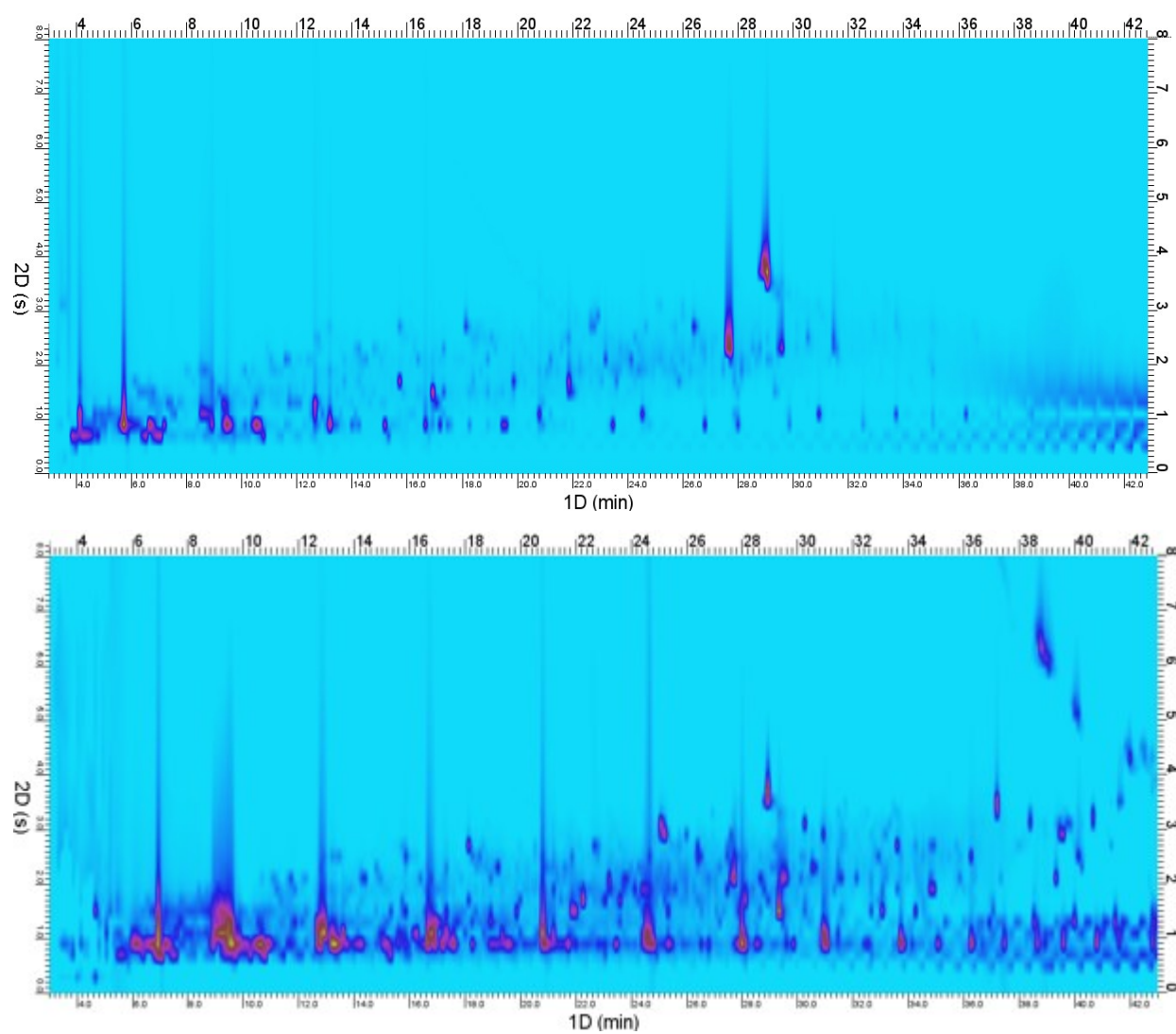
### a) Sistema cromatográfico



**Figura A9** - Sistema GC×GC utilizado na otimização do procedimento de extração de VOCs/agrotóxicos e nas análises de amostras de MP

**b) Otimização**

**Figura A10** - Diagramas de cores mostrando os resultados da otimização do período de modulação. (A)  $P_M = 6$  s. (B)  $P_M = 8$  s. Foi utilizada um mistura-padrão de agrotóxicos ( $500,0 \mu\text{g L}^{-1}$ ).



**Figura A11** - (A) Diagrama de cores da amostra de código H-Q-PTS-P1-4. (B) Diagrama de cores da amostra de código A-Q-PM2,5-P1-4.



## c) Compostos identificados

Tabela A6 - Compostos identificados nas amostras de PTS e MP<sub>2,5</sub> das campanhas 1 e 2.

| #  | Composto (em inglês)                                                         | Grupo | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | I <sub>calculado</sub> | I <sub>literatura</sub> | m/z<br>(1) | m/z<br>(2) | m/z<br>(3) |
|----|------------------------------------------------------------------------------|-------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| 1  | 3-Amino-1-propanol                                                           | AVOC  | 3,13                                 | 6,23                               | 813,3                  | 773                     |            |            |            |
| 2  | Ethanol, 2-propoxy-                                                          | AVOC  | 3,26                                 | 1,00                               | 820,0                  | 816                     |            |            |            |
| 3  | Propanoic acid, 2-methyl-, 2-propenyl ester                                  | AVOC  | 3,26                                 | 1,41                               | 820,0                  | 818                     |            |            |            |
| 4  | Propylene glycol propyl ether                                                | AVOC  | 3,26                                 | 2,41                               | 820,1                  | 801                     |            |            |            |
| 5  | Butane, 2-chloro-2,3-dimethyl-                                               | AVOC  | 3,39                                 | 0,60                               | 826,6                  | 831                     |            |            |            |
| 6  | Toluene                                                                      | AVOC  | 3,39                                 | 6,84                               | 814,1                  | 794                     |            |            |            |
| 7  | 3-Furancarboxylic acid, tetrahydro-4-methylene-5-oxo-2-propyl-, (2R,3S)-rel- | BVOC  | 3,40                                 | 7,64                               | 814,3                  | —                       | 77         | 91         | 51         |
| 8  | 3-Amino-3-(4-methylphenyl)propionic acid                                     | AVOC  | 3,53                                 | 7,84                               | 833,4                  | —                       | 41         | 40         | 42         |
| 9  | Propanenitrile, 3-hydroxy-                                                   | AVOC  | 3,53                                 | 7,03                               | 833,4                  | 807                     |            |            |            |
| 10 | 1-Butanol, 2,3-dimethyl-                                                     | AVOC  | 3,66                                 | 0,80                               | 840,1                  | 835                     |            |            |            |
| 11 | 1-Octen-3-yne                                                                | BVOC  | 3,66                                 | 5,23                               | 842,9                  | 824                     |            |            |            |
| 12 | Ethyl glycolate                                                              | AVOC  | 3,93                                 | 2,41                               | 871,3                  | 829                     |            |            |            |
| 13 | Chloroacetic acid allyl ester                                                | AVOC  | 3,93                                 | 1,61                               | 853,4                  | 870                     |            |            |            |
| 14 | 1H-Pyrazole, 4-chloro-                                                       | AVOC  | 4,20                                 | 1,81                               | 866,7                  | 867                     |            |            |            |
| 15 | 3-Cyclopentyl-1-propyne                                                      | AVOC  | 4,33                                 | 6,63                               | 906,6                  | 857                     |            |            |            |
| 16 | Santolina triene                                                             | BVOC  | 4,33                                 | 1,81                               | 906,7                  | 908                     |            |            |            |
| 17 | Propane, 1-isothiocyano-                                                     | AVOC  | 4,46                                 | 9,04                               | 880,1                  | 881                     |            |            |            |
| 18 | Oxirane, [(2-propenyloxy)methyl]-                                            | AVOC  | 4,59                                 | 1,00                               | 886,6                  | 869                     |            |            |            |
| 19 | Cyclohexene, 3-(2-propenyl)-                                                 | AVOC  | 4,73                                 | 1,01                               | 926,6                  | 923                     |            |            |            |
| 20 | Styrene                                                                      | AVOC  | 5,13                                 | 5,02                               | 913,3                  | 893                     |            |            |            |
| 21 | 1,3,5(10),7-Estratetraen-3,17β-diol 3-sulfate                                | AVOC  | 5,26                                 | 2,61                               | 920,0                  | —                       | 41         | 40         | 55         |
| 22 | 2H-1-Benzopyran-2-one, 7-hydroxy-5,6-dimethoxy-                              | AVOC  | 5,53                                 | 5,43                               | 966,6                  | —                       | 133        | 77         | 151        |
| 23 | 2,5-Hexanedione                                                              | BVOC  | 5,66                                 | 1,21                               | 940,0                  | 921                     |            |            |            |
| 24 | Bicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene                                              | AVOC  | 5,66                                 | 3,42                               | 973,3                  | 927                     |            |            |            |
| 25 | Benzoic acid, 2-amino-4-methyl-                                              | AVOC  | 5,66                                 | 1,21                               | 940,1                  | 949                     |            |            |            |
| 26 | 3-Heptanone, 5-methyl-                                                       | BVOC  | 6,06                                 | 1,00                               | 959,9                  | 944                     |            |            |            |
| 27 | 2,5-Octanedione                                                              | AVOC  | 6,06                                 | 1,00                               | 960,0                  | 984                     |            |            |            |
| 28 | 2,3-Octanedione                                                              | AVOC  | 6,06                                 | 1,61                               | 960,1                  | 984                     |            |            |            |
| 29 | 2(3H)-Furanone, dihydro-4,5-dimethyl-                                        | AVOC  | 6,20                                 | 2,01                               | 966,7                  | 962                     |            |            |            |
| 30 | Hexanoic acid, 5-methyl-, methyl ester                                       | AVOC  | 6,59                                 | 0,80                               | 986,6                  | 993                     |            |            |            |
| 31 | Butanoic acid, 4-chloro-, methyl ester                                       | AVOC  | 6,73                                 | 1,41                               | 993,4                  | 972                     |            |            |            |
| 32 | Benzene, 1-methyl-4-propyl-                                                  | AVOC  | 6,73                                 | 1,21                               | 1020,0                 | 1040                    |            |            |            |
| 33 | 1-Methylcycloheptanol                                                        | AVOC  | 6,86                                 | 0,80                               | 999,9                  | 1009                    |            |            |            |
| 34 | Benzaldehyde                                                                 | BVOC  | 6,99                                 | 1,41                               | 1030,0                 | 982                     |            |            |            |
| 35 | 1-Hexanol, 2-ethyl-                                                          | BVOC  | 7,39                                 | 1,01                               | 1044,9                 | 1030                    |            |            |            |
| 36 | 2-Propyl-1-pentanol                                                          | AVOC  | 7,53                                 | 0,80                               | 1050,0                 | 1053                    |            |            |            |
| 37 | 2-Octenal, (E)-                                                              | BVOC  | 7,53                                 | 0,80                               | 1050,0                 | 1060                    |            |            |            |
| 38 | Benzene, (bromomethyl)-                                                      | AVOC  | 8,19                                 | 1,41                               | 1075,0                 | 1061                    |            |            |            |
| 39 | Benzeneethanamine                                                            | AVOC  | 8,20                                 | 1,41                               | 1075,0                 | 1102                    |            |            |            |
| 40 | 3,4-Hexanediol, 2,5-dimethyl-                                                | AVOC  | 8,33                                 | 0,80                               | 1055,0                 | 1013                    |            |            |            |
| 41 | Benzeneacetaldehyde                                                          | AVOC  | 8,46                                 | 1,41                               | 1059,9                 | 1045                    |            |            |            |
| 42 | 5-Undecene, (E)-                                                             | AVOC  | 8,46                                 | 1,01                               | 1085,0                 | 1082                    |            |            |            |

| #  | Composto (em inglês)                                                   | Grupo | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | I <sub>calculado</sub> | I <sub>literatura</sub> | m/z<br>(1) | m/z<br>(2) | m/z<br>(3) |
|----|------------------------------------------------------------------------|-------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| 43 | Benzaldehyde, 3-methyl-                                                | BVOC  | 8,73                                 | 1,41                               | 1070,1                 | 1070                    |            |            |            |
| 44 | 2,5-Hexanediol, 2,5-dimethyl-                                          | AVOC  | 8,86                                 | 1,00                               | 1074,9                 | 1059                    |            |            |            |
| 45 | Benzoyl chloride                                                       | AVOC  | 8,86                                 | 1,41                               | 1100,0                 | 1095                    |            |            |            |
| 46 | Acetophenone                                                           | AVOC  | 9,13                                 | 1,81                               | 1110,0                 | 1042                    |            |            |            |
| 47 | 3-Pyridineacetonitrile, α-[(3,4-dimethoxyphenyl)methylene]-, (αZ)-     | AVOC  | 9,66                                 | 1,21                               | 1130,0                 | —                       | 267        | 207        | 57         |
| 48 | Naphthalene, 1,2-dihydro-                                              | AVOC  | 9,79                                 | 1,41                               | 1134,9                 | 1133                    |            |            |            |
| 49 | 2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, E,E-                                | BVOC  | 9,80                                 | 1,21                               | 1135,0                 | 1131                    |            |            |            |
| 50 | Cyclodecane                                                            | AVOC  | 10,06                                | 1,01                               | 1145,0                 | 1147                    |            |            |            |
| 51 | Benzenamine, N-ethyl-                                                  | AVOC  | 10,19                                | 1,41                               | 1150,0                 | 1128                    |            |            |            |
| 52 | Acetic acid, 2-ethylhexyl ester                                        | BVOC  | 10,33                                | 1,00                               | 1129,9                 | 1129                    |            |            |            |
| 53 | Isophorone                                                             | BVOC  | 10,33                                | 1,41                               | 1129,9                 | 1124                    |            |            |            |
| 54 | Cyclodecene, (Z)-                                                      | AVOC  | 10,33                                | 1,41                               | 1130,0                 | 1128                    |            |            |            |
| 55 | 2-Nonenal, (E)-                                                        | BVOC  | 10,46                                | 1,01                               | 1160,0                 | 1162                    |            |            |            |
| 56 | Dimethylmalonic acid, monochloride, isobutyl ester                     | AVOC  | 10,46                                | 1,00                               | 1135,1                 | 1145                    |            |            |            |
| 57 | Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene-, [1S-(1α,3α,5α)]- | AVOC  | 10,60                                | 1,01                               | 1165,0                 | 1139                    |            |            |            |
| 58 | Bicyclo[3.1.1]heptan-3-one, 2,6,6-trimethyl-, (1α,2β,5α)-              | AVOC  | 10,73                                | 1,81                               | 1170,0                 | 1173                    |            |            |            |
| 59 | 2H-1-Benzopyran, 3,4-dihydro-                                          | AVOC  | 11,13                                | 1,61                               | 1185,0                 | 1184                    |            |            |            |
| 60 | 1-Dodecene                                                             | BVOC  | 11,26                                | 1,21                               | 1190,0                 | 1190                    |            |            |            |
| 61 | 1,3-Dihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone                              | BVOC  | 11,39                                | 2,81                               | 1194,9                 | —                       | 207        | 77         | 78         |
| 62 | Terpinen-4-ol                                                          | BVOC  | 11,39                                | 1,21                               | 1194,9                 | 1177                    |            |            |            |
| 63 | 1-Nonanol                                                              | BVOC  | 11,53                                | 0,80                               | 1174,9                 | 1173                    |            |            |            |
| 64 | Phenol, 2,4-dichloro-                                                  | AVOC  | 11,53                                | 1,41                               | 1174,9                 | 1169                    |            |            |            |
| 65 | Benzaldehyde, 4-ethyl-                                                 | BVOC  | 11,66                                | 1,81                               | 1205,0                 | 1180                    |            |            |            |
| 66 | Octanoic acid, ethyl ester                                             | BVOC  | 11,66                                | 1,01                               | 1205,0                 | 1196                    |            |            |            |
| 67 | Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1α,2β,5β)-                 | BVOC  | 11,66                                | 0,80                               | 1180,1                 | 1182                    |            |            |            |
| 68 | Furan, 2-(2-furanylmethyl)-5-methyl-                                   | AVOC  | 11,66                                | 1,41                               | 1180,1                 | 1190                    |            |            |            |
| 69 | Naphthalene, 1,4,5,8-tetrahydro-                                       | AVOC  | 11,79                                | 2,01                               | 1210,0                 | 1189                    |            |            |            |
| 70 | Decanal                                                                | BVOC  | 12,06                                | 1,01                               | 1220,0                 | 1206                    |            |            |            |
| 71 | trans-Cinnamaldehyde                                                   | BVOC  | 12,06                                | 1,81                               | 1220,0                 | 1234                    |            |            |            |
| 72 | Cyclohexanol, 4-(1,1-dimethylethyl)-                                   | AVOC  | 12,06                                | 1,01                               | 1220,0                 | 1214                    |            |            |            |
| 73 | Cinnamaldehyde, (E)-                                                   | BVOC  | 12,20                                | 2,01                               | 1225,0                 | 1270                    |            |            |            |
| 74 | 1-Octadecyne                                                           | BVOC  | 12,33                                | 1,41                               | 1230,0                 | 1238                    |            |            |            |
| 75 | Carvenone                                                              | BVOC  | 12,33                                | 1,61                               | 1230,0                 | 1257                    |            |            |            |
| 76 | Benzylidenemalonaldehide                                               | AVOC  | 12,46                                | 1,81                               | 1209,5                 | 1217                    |            |            |            |
| 77 | 1H-Inden-1-ol, 2,3-dihydro-                                            | AVOC  | 12,46                                | 1,81                               | 1235,0                 | 1230                    |            |            |            |
| 78 | Benzaldehyde, 4-(1-methylethyl)-                                       | BVOC  | 12,46                                | 1,81                               | 1235,0                 | 1239                    |            |            |            |
| 79 | 1-Decanol                                                              | BVOC  | 12,59                                | 1,01                               | 1240,0                 | 1273                    |            |            |            |
| 80 | Benzothiazole                                                          | BVOC  | 12,73                                | 2,01                               | 1245,0                 | 1229                    |            |            |            |
| 81 | 1-Methoxydecane                                                        | AVOC  | 12,73                                | 1,01                               | 1245,0                 | 1227                    |            |            |            |
| 82 | Benzaldehyde, 2,5-dimethyl-                                            | BVOC  | 12,86                                | 1,61                               | 1223,8                 | 1208                    |            |            |            |
| 83 | Ethanone, 1-(2,4-dimethylphenyl)-                                      | AVOC  | 12,86                                | 1,61                               | 1223,8                 | 1221                    |            |            |            |
| 84 | 5-(Furan-3-yl)-2-methylpent-1-en-3-ol                                  | BVOC  | 13,13                                | 1,61                               | 1259,9                 | 1278                    |            |            |            |
| 85 | D-Carvone                                                              | BVOC  | 13,13                                | 1,61                               | 1260,0                 | 1246                    |            |            |            |

| #   | Composto (em inglês)                                                                     | Grupo | $t_R$<br>(min) | $t_R$<br>(s) | $I_{\text{calculado}}$ | $I_{\text{literatura}}$ | $m/z$<br>(1) | $m/z$<br>(2) | $m/z$<br>(3) |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|-------|----------------|--------------|------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 86  | Phenol, 4-(2-propenyl)-                                                                  | BVOC  | 13,26          | 2,21         | 1265,0                 | 1255                    |              |              |              |
| 87  | Benzenemethanol, 2-methyl-, acetate                                                      | AVOC  | 13,53          | 1,81         | 1275,0                 | 1287                    |              |              |              |
| 88  | Anethole                                                                                 | BVOC  | 13,66          | 1,81         | 1280,0                 | 1286                    |              |              |              |
| 89  | Ethanone, 1-(4-ethylphenyl)-                                                             | BVOC  | 13,66          | 2,21         | 1280,0                 | 1277                    |              |              |              |
| 90  | Benzaldehyde, 2,4-dichloro-                                                              | BVOC  | 13,93          | 1,61         | 1261,9                 | 1251                    |              |              |              |
| 91  | 1-Octanol, 2-butyl-                                                                      | BVOC  | 13,93          | 1,01         | 1290,0                 | 1277                    |              |              |              |
| 92  | Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate                                       | AVOC  | 14,33          | 1,21         | 1305,0                 | 1294                    |              |              |              |
| 93  | 3-Buten-2-one, 4-phenyl-, (E)-                                                           | BVOC  | 14,33          | 1,81         | 1305,0                 | 1330                    |              |              |              |
| 94  | ortho tert-Butyl cyclohexyl acetate                                                      | AVOC  | 14,46          | 1,21         | 1309,9                 | 1321                    |              |              |              |
| 95  | Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate, (1 $\alpha$ ,2 $\beta$ ,5 $\beta$ )- | AVOC  | 14,46          | 1,21         | 1310,0                 | 1305                    |              |              |              |
| 96  | 1H-Indene, 2,3-dihydro-4,7-dimethyl-                                                     | AVOC  | 14,59          | 1,81         | 1285,7                 | 1282                    |              |              |              |
| 97  | Oxirane, decyl-                                                                          | AVOC  | 14,59          | 1,01         | 1315,0                 | 1307                    |              |              |              |
| 98  | Benzene, (3-methyl-2-butenyl)-                                                           | AVOC  | 14,73          | 2,01         | 1320,0                 | 1318                    |              |              |              |
| 99  | 1,8-Octanediol                                                                           | AVOC  | 14,73          | 1,01         | 1320,0                 | 1314                    |              |              |              |
| 100 | Phenol, p-tert-butyl-                                                                    | AVOC  | 14,86          | 2,01         | 1295,3                 | 1295                    |              |              |              |
| 101 | p-Cymen-7-ol                                                                             | BVOC  | 14,86          | 1,41         | 1295,3                 | 1289                    |              |              |              |
| 102 | Cyclododecane                                                                            | AVOC  | 14,99          | 1,01         | 1330,0                 | 1330                    |              |              |              |
| 103 | Undecanal                                                                                | BVOC  | 15,13          | 0,80         | 1305,5                 | 1307                    |              |              |              |
| 104 | n-Butyric acid 2-ethylhexyl ester                                                        | AVOC  | 15,13          | 1,01         | 1335,0                 | 1317                    |              |              |              |
| 105 | Phthalic anhydride                                                                       | AVOC  | 15,26          | 2,41         | 1339,9                 | 1316                    |              |              |              |
| 106 | 2-Undecanol                                                                              | BVOC  | 15,39          | 1,00         | 1316,6                 | 1307                    |              |              |              |
| 107 | 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate                                                     | BVOC  | 15,39          | 1,21         | 1345,0                 | 1354                    |              |              |              |
| 108 | Cyclohexene, 1-cyclohexyl-                                                               | AVOC  | 15,53          | 1,61         | 1350,0                 | 1345                    |              |              |              |
| 109 | 4-tert-Butylcyclohexyl acetate                                                           | AVOC  | 15,53          | 1,21         | 1350,0                 | 1368                    |              |              |              |
| 110 | Dimethyl morpholinophosphoramidate                                                       | AVOC  | 15,66          | 1,41         | 1354,9                 | 1354                    |              |              |              |
| 111 | Benzoic acid, 2-methylpropyl ester                                                       | BVOC  | 15,79          | 1,21         | 1333,3                 | 1321                    |              |              |              |
| 112 | 4H-1-Benzopyran-4-one, 2-(2-amino-3-methoxyphenyl)-                                      | BVOC  | 15,79          | 2,41         | 1359,9                 | —                       | 133          | 105          | 77           |
| 113 | Naphthalene, 5-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-                                                 | AVOC  | 15,79          | 2,01         | 1360,0                 | 1354                    |              |              |              |
| 114 | Dihydrojasmon                                                                            | BVOC  | 15,80          | 1,21         | 1360,0                 | 1369                    |              |              |              |
| 115 | 2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, acetate                                | BVOC  | 15,80          | 1,81         | 1333,4                 | 1336                    |              |              |              |
| 116 | Cyclodecanone                                                                            | AVOC  | 15,80          | 1,00         | 1333,4                 | 1385                    |              |              |              |
| 117 | Benzenecetic acid, $\alpha$ -oxo-, ethyl ester                                           | AVOC  | 16,06          | 2,81         | 1370,0                 | 1375                    |              |              |              |
| 118 | 4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-3-oxocyclohexa-1,4-dienecarbaldehyde                           | BVOC  | 16,19          | 1,21         | 1350,0                 | 1347                    |              |              |              |
| 119 | 1H-Indene-1,3(2H)-dione                                                                  | AVOC  | 16,19          | 2,81         | 1374,9                 | 1358                    |              |              |              |
| 120 | Benzoic acid, 3,4-dimethyl-, methyl ester                                                | BVOC  | 16,19          | 2,21         | 1375,0                 | 1355                    |              |              |              |
| 121 | 1-Pentanone, 1-phenyl-                                                                   | BVOC  | 16,19          | 3,02         | 1375,0                 | 1374                    |              |              |              |
| 122 | Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-, (S)-                                             | AVOC  | 16,20          | 2,01         | 1375,0                 | 1361                    |              |              |              |
| 123 | n-Decanoic acid                                                                          | BVOC  | 16,33          | 1,21         | 1379,9                 | 1373                    |              |              |              |
| 124 | 1,13-Tetradecadiene                                                                      | BVOC  | 16,33          | 1,21         | 1380,0                 | 1383                    |              |              |              |
| 125 | Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-5,7-dimethyl-                                            | AVOC  | 16,33          | 1,81         | 1380,0                 | 1383                    |              |              |              |

| #   | Composto (em inglês)                                                                                                        | Grupo | $^1t_R$<br>(min) | $^2t_R$<br>(s) | $I_{\text{calculado}}$ | $I_{\text{literatura}}$ | $m/z$<br>(1) | $m/z$<br>(2) | $m/z$<br>(3) |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------|----------------|------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 126 | trans-2-Decenoic acid                                                                                                       | BVOC  | 16,59            | 1,01           | 1390,0                 | 1392                    |              |              |              |
| 127 | Benzene, 2,4-diisocyanato-1-methyl-                                                                                         | AVOC  | 16,60            | 1,81           | 1366,7                 | 1352                    |              |              |              |
| 128 | 1-Undecanol                                                                                                                 | BVOC  | 16,73            | 1,00           | 1372,2                 | 1371                    |              |              |              |
| 129 | Decanoic acid, ethyl ester (Ethyl Decanoate)                                                                                | BVOC  | 16,86            | 1,21           | 1400,0                 | 1396                    |              |              |              |
| 130 | Diphenyl ether                                                                                                              | AVOC  | 17,26            | 2,01           | 1416,6                 | 1404                    |              |              |              |
| 131 | Dodecanal                                                                                                                   | BVOC  | 17,26            | 1,21           | 1416,6                 | 1409                    |              |              |              |
| 132 | 1,3-Benzenediamine, 4-methyl-                                                                                               | BVOC  | 17,26            | 3,01           | 1394,5                 | 1417                    |              |              |              |
| 133 | 2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, methyl ester                                                                        | BVOC  | 17,39            | 3,02           | 1422,2                 | 1430                    |              |              |              |
| 134 | Naphthalene, 1,4-dimethyl-                                                                                                  | AVOC  | 17,66            | 1,81           | 1433,3                 | 1436                    |              |              |              |
| 135 | Acetic acid, decyl ester                                                                                                    | BVOC  | 17,79            | 1,00           | 1416,6                 | 1408                    |              |              |              |
| 136 | 1-Tetradecyne                                                                                                               | AVOC  | 17,79            | 1,00           | 1416,6                 | 1397                    |              |              |              |
| 137 | Cyclohexanamine, N-cyclohexyl-                                                                                              | AVOC  | 17,80            | 1,41           | 1438,9                 | 1442                    |              |              |              |
| 138 | 1H-Pyrrole, 1-(4-methylphenyl)-                                                                                             | AVOC  | 17,80            | 2,01           | 1438,9                 | 1364                    |              |              |              |
| 139 | 10-Undecynoic acid, methyl ester                                                                                            | BVOC  | 17,93            | 1,81           | 1444,4                 | 1446                    |              |              |              |
| 140 | 2-Propenoic acid, 3-phenyl-                                                                                                 | BVOC  | 17,93            | 2,41           | 1422,3                 | 1435                    |              |              |              |
| 141 | Butanoic acid, 2-methyl-, octyl ester                                                                                       | AVOC  | 17,93            | 1,00           | 1422,3                 | 1431                    |              |              |              |
| 142 | Ethanone, 1,1'-(1,4-phenylene)bis-                                                                                          | AVOC  | 18,06            | 2,41           | 1450,0                 | 1461                    |              |              |              |
| 143 | Nonanoic acid, 9-oxo-, methyl ester                                                                                         | BVOC  | 18,06            | 2,01           | 1450,0                 | 1436                    |              |              |              |
| 144 | Benzoic acid, 2-hydroxy-, butyl ester                                                                                       | AVOC  | 18,19            | 1,41           | 1433,3                 | 1436                    |              |              |              |
| 145 | 1-Dodecanol                                                                                                                 | BVOC  | 18,33            | 1,00           | 1438,8                 | 1473                    |              |              |              |
| 146 | 2-Dodecenal, (E)-                                                                                                           | BVOC  | 18,33            | 1,21           | 1461,1                 | 1468                    |              |              |              |
| 147 | Octanedioic acid, dimethyl ester                                                                                            | BVOC  | 18,33            | 1,41           | 1461,1                 | 1448                    |              |              |              |
| 148 | Quinoline, 2,4-dimethyl-                                                                                                    | AVOC  | 18,33            | 2,21           | 1461,1                 | 1454                    |              |              |              |
| 149 | Diisopropyl adipate                                                                                                         | AVOC  | 18,46            | 1,21           | 1466,7                 | 1464                    |              |              |              |
| 150 | Naphthalene, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, [1S-(1 $\alpha$ ,4 $\alpha\alpha$ ,7 $\alpha$ ,8 $\alpha\beta$ )]- | AVOC  | 18,59            | 1,61           | 1472,2                 | 1470                    |              |              |              |
| 151 | Dodecane, 1-chloro-                                                                                                         | AVOC  | 18,86            | 1,21           | 1483,3                 | 1469                    |              |              |              |
| 152 | 5-Methyl-2,4-diisopropylphenol                                                                                              | BVOC  | 18,86            | 1,81           | 1483,3                 | 1496                    |              |              |              |
| 153 | trans- $\beta$ -Ionone                                                                                                      | BVOC  | 18,86            | 2,21           | 1483,3                 | 1486                    |              |              |              |
| 154 | Heptanedioic acid, 4-methyl-, dimethyl ester                                                                                | AVOC  | 18,86            | 1,00           | 1461,2                 | 1458                    |              |              |              |
| 155 | Naphthalene, 1,8-dimethyl-                                                                                                  | AVOC  | 18,99            | 1,81           | 1466,6                 | 1472                    |              |              |              |
| 156 | 1-Pentadecene                                                                                                               | BVOC  | 19,00            | 1,01           | 1488,9                 | 1492                    |              |              |              |
| 157 | 4-Isopropylphenylacetic acid                                                                                                | AVOC  | 19,13            | 2,01           | 1494,4                 | 1514                    |              |              |              |
| 158 | Benzoic acid, p-tert-butyl-                                                                                                 | BVOC  | 19,13            | 2,01           | 1494,4                 | 1479                    |              |              |              |
| 159 | Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-                                                                                      | AVOC  | 19,13            | 2,41           | 1494,4                 | 1492                    |              |              |              |
| 160 | 2-Hexyl-1-decanol                                                                                                           | BVOC  | 19,39            | 1,21           | 1505,5                 | 1504                    |              |              |              |
| 161 | Etymemazine                                                                                                                 | AVOC  | 19,53            | 4,42           | 1511,1                 | —                       | 156          | 327          | 405          |
| 162 | (Z)-4-(But-1-en-1-yl)guaiacol                                                                                               | BVOC  | 19,53            | 2,41           | 1488,9                 | 1479                    |              |              |              |
| 163 | 3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-                                                                       | BVOC  | 19,53            | 1,21           | 1511,1                 | 1491                    |              |              |              |
| 164 | 3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole                                                                                               | BVOC  | 19,66            | 1,61           | 1494,4                 | 1497                    |              |              |              |
| 165 | Benzaldehyde, 2-chloro-4-hydroxy-                                                                                           | BVOC  | 19,66            | 2,01           | 1516,7                 | 1523                    |              |              |              |
| 166 | 2,4-Di-tert-butylphenol                                                                                                     | BVOC  | 19,79            | 1,41           | 1522,2                 | 1519                    |              |              |              |

| #   | Composto (em inglês)                                                                                                                                             | Grupo | $^1t_R$<br>(min) | $^2t_R$<br>(s) | $I_{\text{calculado}}$ | $I_{\text{literatura}}$ | $m/z$<br>(1) | $m/z$<br>(2) | $m/z$<br>(3) |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------|----------------|------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 167 | Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,8 $\alpha\beta$ )]-                                          | AVOC  | 19,93            | 1,61           | 1505,3                 | 1505                    |              |              |              |
| 168 | Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                                                                                                              | BVOC  | 19,93            | 1,21           | 1527,8                 | 1514                    |              |              |              |
| 169 | o-Hydroxybiphenyl                                                                                                                                                | BVOC  | 20,06            | 2,21           | 1533,3                 | 1507                    |              |              |              |
| 170 | Nonanedioic acid, dimethyl ester                                                                                                                                 | BVOC  | 20,20            | 1,01           | 1538,9                 | 1547                    |              |              |              |
| 171 | Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-(2-propenyl)-                                                                                                                        | AVOC  | 20,33            | 0,20           | 1544,4                 | 1554                    |              |              |              |
| 172 | (8R,8aS)-8,8a-Dimethyl-2-(propan-2-ylidene)-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalene                                                                                    | BVOC  | 20,33            | 1,61           | 1544,4                 | 1540                    |              |              |              |
| 173 | Butanoic acid, 3-methyl-, 3,7-dimethyl-6-octenyl ester                                                                                                           | BVOC  | 20,46            | 1,21           | 1550,0                 | 1561                    |              |              |              |
| 174 | Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-                                                                                                                                    | AVOC  | 20,46            | 2,01           | 1550,0                 | 1541                    |              |              |              |
| 175 | 2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-, (R)-                                                                                                 | BVOC  | 20,60            | 2,41           | 1555,6                 | 1532                    |              |              |              |
| 176 | Ledol                                                                                                                                                            | BVOC  | 20,60            | 1,81           | 1555,6                 | 1565                    |              |              |              |
| 177 | Benzene, pentachloro-                                                                                                                                            | AVOC  | 20,73            | 2,01           | 1536,9                 | 1511                    |              |              |              |
| 178 | Cedranoxide, 8,14- (8,14-Cedranoxide)                                                                                                                            | BVOC  | 21,13            | 1,00           | 1552,6                 | 1545                    |              |              |              |
| 179 | 1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1 $\alpha\alpha$ ,4 $\beta$ ,4 $\alpha\beta$ ,7 $\alpha$ ,7 $\alpha\beta$ ,7 $\beta\alpha$ )]- | AVOC  | 21,13            | 1,61           | 1577,8                 | 1591                    |              |              |              |
| 180 | 1-Dodecanol, 3,7,11-trimethyl-                                                                                                                                   | BVOC  | 21,53            | 1,00           | 1568,4                 | 1571                    |              |              |              |
| 181 | $\delta$ -Undecalactone                                                                                                                                          | BVOC  | 21,53            | 1,41           | 1568,4                 | —                       | 41           | 57           | 69           |
| 182 | Diethyltoluamide                                                                                                                                                 | AVOC  | 21,53            | 2,01           | 1594,4                 | 1571                    |              |              |              |
| 183 | Benzene, 1,1'-(chloromethylene)bis-                                                                                                                              | AVOC  | 21,66            | 2,01           | 1600,0                 | 1596                    |              |              |              |
| 184 | Diphenyl sulfide                                                                                                                                                 | AVOC  | 21,66            | 2,41           | 1573,7                 | 1565                    |              |              |              |
| 185 | Glutaric acid, but-3-yn-2-yl isobutyl ester                                                                                                                      | AVOC  | 21,79            | 1,21           | 1578,9                 | 1580                    |              |              |              |
| 186 | 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate                                                                                                                    | AVOC  | 21,79            | 1,41           | 1606,2                 | 1588                    |              |              |              |
| 187 | Cedrol                                                                                                                                                           | BVOC  | 21,80            | 4,02           | 1606,2                 | 1598                    |              |              |              |
| 188 | 9-Dodecyn-1-ol                                                                                                                                                   | AVOC  | 21,80            | 1,61           | 1579,0                 | 1543                    |              |              |              |
| 189 | Diethyl Phthalate                                                                                                                                                | AVOC  | 21,93            | 2,21           | 1612,5                 | 1564                    |              |              |              |
| 190 | 2-(Methylmercapto)benzothiazole                                                                                                                                  | AVOC  | 22,06            | 2,61           | 1618,7                 | 1607                    |              |              |              |
| 191 | Citronellyl valerate                                                                                                                                             | BVOC  | 22,20            | 1,21           | 1625,0                 | 1625                    |              |              |              |
| 192 | 2-Tetradecanone                                                                                                                                                  | BVOC  | 22,59            | 5,02           | 1611,7                 | 1597                    |              |              |              |
| 193 | Tetradecanal                                                                                                                                                     | BVOC  | 22,59            | 1,21           | 1611,7                 | 1613                    |              |              |              |
| 194 | 2(3H)-Naphthalenone, 4,4a,5,6,7,8-hexahydro-4,4a-dimethyl-6-(1-methylethenyl)-, [4R-(4 $\alpha$ ,4 $\alpha\alpha$ ,6 $\beta$ )]-                                 | BVOC  | 22,59            | 1,41           | 1643,7                 | 1645                    |              |              |              |
| 195 | Benzophenone                                                                                                                                                     | BVOC  | 22,59            | 2,41           | 1643,7                 | 1628                    |              |              |              |
| 196 | Nonane, 1,9-dibromo-                                                                                                                                             | AVOC  | 22,73            | 4,82           | 1617,7                 | 1607                    |              |              |              |
| 197 | Octadecane, 1-(ethenyloxy)-                                                                                                                                      | AVOC  | 22,73            | 1,21           | 1617,7                 | —                       | 41           | 43           | 57           |
| 198 | Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5 $\alpha$ -ol                                                                                                                      | AVOC  | 22,99            | 1,21           | 1629,4                 | 1637                    |              |              |              |
| 199 | Oxirane, tetradecyl-                                                                                                                                             | AVOC  | 23,00            | 1,01           | 1662,5                 | 1692                    |              |              |              |
| 200 | Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester                                                                                                           | AVOC  | 23,13            | 1,81           | 1668,7                 | 1649                    |              |              |              |
| 201 | 2-Benzothiazolamine, N-ethyl-                                                                                                                                    | AVOC  | 23,13            | 3,02           | 1668,7                 | 1595                    |              |              |              |
| 202 | Methyl jasmonate                                                                                                                                                 | BVOC  | 23,13            | 1,81           | 1635,4                 | 1638                    |              |              |              |

| #   | Composto (em inglês)                                                                        | Grupo | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | I <sub>calculado</sub> | I <sub>literatura</sub> | m/z<br>(1) | m/z<br>(2) | m/z<br>(3) |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| 203 | Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-(2-pentenyl)-, methyl ester, [1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ (Z)]- | AVOC  | 23,26                                | 1,81                               | 1675,0                 | 1685                    |            |            |            |
| 204 | Fenatrol (Atrazine)                                                                         | AVOC  | 23,53                                | 2,61                               | 1687,5                 | 1789                    |            |            |            |
| 205 | 1-Heptadecene                                                                               | BVOC  | 23,66                                | 1,01                               | 1693,7                 | 1692                    |            |            |            |
| 206 | 1,2-Benzenediol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                                | AVOC  | 23,66                                | 0,20                               | 1693,8                 | 1683                    |            |            |            |
| 207 | 2-Hexadecanol                                                                               | BVOC  | 23,80                                | 1,01                               | 1700,0                 | 1702                    |            |            |            |
| 208 | Cyclotetradecane                                                                            | AVOC  | 23,93                                | 1,00                               | 1670,5                 | 1673                    |            |            |            |
| 209 | 2-Pentadecanol                                                                              | BVOC  | 23,93                                | 1,21                               | 1706,2                 | 1710                    |            |            |            |
| 210 | 3-Tetradecanol                                                                              | AVOC  | 24,06                                | 1,41                               | 1712,5                 | 1699                    |            |            |            |
| 211 | 7-Tetradecanol                                                                              | AVOC  | 24,19                                | 1,21                               | 1682,3                 | 1666                    |            |            |            |
| 212 | Lindane                                                                                     | AVOC  | 24,19                                | 2,21                               | 1718,7                 | 1693                    |            |            |            |
| 213 | 2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-                                                  | BVOC  | 24,20                                | 1,61                               | 1718,8                 | 1713                    |            |            |            |
| 214 | 4-Androsten-17 $\beta$ -ol-3-one glucosiduronate                                            | AVOC  | 24,20                                | 0,60                               | 1682,4                 | —                       | 73         | 461        | 461        |
| 215 | Benzoic acid, 2-ethylhexyl ester                                                            | BVOC  | 24,33                                | 1,61                               | 1725,0                 | 1735                    |            |            |            |
| 216 | Benzoic acid, 3,4,5-trimethoxy-, methyl ester                                               | BVOC  | 24,59                                | 2,41                               | 1737,4                 | 1674                    |            |            |            |
| 217 | Benzenemethanol, 2-methyl- $\alpha$ -phenyl-                                                | AVOC  | 24,59                                | 2,41                               | 1737,5                 | 1727                    |            |            |            |
| 218 | Benzoic acid, 2,3,6-trichloro-                                                              | BVOC  | 24,60                                | 2,41                               | 1737,5                 | 1740                    |            |            |            |
| 219 | Pentadecanal-                                                                               | BVOC  | 24,86                                | 1,00                               | 1712,5                 | 1715                    |            |            |            |
| 220 | Monoethyl phthalate                                                                         | AVOC  | 24,86                                | 2,01                               | 1749,9                 | 1651                    |            |            |            |
| 221 | 9H-Fluoren-9-one                                                                            | BVOC  | 24,99                                | 2,81                               | 1756,2                 | 1752                    |            |            |            |
| 222 | Phenol, 2-(1-phenylethyl)-                                                                  | AVOC  | 25,13                                | 2,01                               | 1725,0                 | 1721                    |            |            |            |
| 223 | Tetradecanoic acid                                                                          | BVOC  | 25,40                                | 1,21                               | 1775,0                 | 1768                    |            |            |            |
| 224 | 3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde                                                     | AVOC  | 25,53                                | 1,81                               | 1781,2                 | 1772                    |            |            |            |
| 225 | Benzamide, 2-fluoro-N-ethyl-N-octadecyl-                                                    | AVOC  | 25,66                                | 3,01                               | 1750,1                 | 1801                    |            |            |            |
| 226 | Dibutyl adipate                                                                             | AVOC  | 25,93                                | 1,41                               | 1762,5                 | 1766                    |            |            |            |
| 227 | Anthracene                                                                                  | AVOC  | 25,93                                | 2,61                               | 1800,0                 | 1758                    |            |            |            |
| 228 | Benzenamine, 2,4,6-tribromo-                                                                | BVOC  | 25,93                                | 1,41                               | 1800,0                 | 1806                    |            |            |            |
| 229 | n-Dodecyl methacrylate                                                                      | AVOC  | 26,06                                | 1,21                               | 1768,7                 | 1775                    |            |            |            |
| 230 | Trifluoroacetoxy hexadecane                                                                 | BVOC  | 26,06                                | 0,80                               | 1806,6                 | 1813                    |            |            |            |
| 231 | Tris(1-chloro-2-propyl)phosphate                                                            | AVOC  | 26,19                                | 2,01                               | 1813,3                 | 1814                    |            |            |            |
| 232 | Benzene, 1,1'-[1,2-ethanediylbis(oxy)]bis-                                                  | AVOC  | 26,33                                | 2,41                               | 1820,0                 | 1811                    |            |            |            |
| 233 | 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                                | AVOC  | 26,33                                | 1,21                               | 1820,0                 | 1823                    |            |            |            |
| 234 | Butyric acid, dodecyl ester                                                                 | AVOC  | 26,46                                | 1,21                               | 1787,4                 | 1780                    |            |            |            |
| 235 | Hexadecanal                                                                                 | BVOC  | 26,46                                | 1,21                               | 1826,6                 | 1817                    |            |            |            |
| 236 | Oxirane, [(dodecyloxy)methyl]-                                                              | AVOC  | 26,46                                | 1,41                               | 1787,6                 | —                       | 57         | 43         | 41         |
| 237 | 2-Ethylhexyl salicylate                                                                     | BVOC  | 26,73                                | 1,21                               | 1799,9                 | 1811                    |            |            |            |
| 238 | Diazinon                                                                                    | AVOC  | 26,86                                | 1,61                               | 1806,6                 | 1791                    |            |            |            |
| 239 | Phenanthridine                                                                              | AVOC  | 26,86                                | 3,22                               | 1846,7                 | 1832                    |            |            |            |
| 240 | Benzoic acid, octyl ester                                                                   | BVOC  | 26,99                                | 1,61                               | 1853,2                 | 1792                    |            |            |            |
| 241 | Hexadecane, 1-chloro-                                                                       | AVOC  | 26,99                                | 1,61                               | 1853,3                 | 1861                    |            |            |            |
| 242 | 2,6,9,9-Tetramethyl-2,6,10-cycloundecatrien-1-                                              | AVOC  | 27,13                                | 2,41                               | 1860,0                 | 1750                    |            |            |            |
| 243 | Carbazole                                                                                   | BVOC  | 27,13                                | 3,22                               | 1860,0                 | —                       | 55         | 91         | 83         |
| 244 | 13,14-Dehydro-15-cyclohexylcarbaprostacyclin                                                | BVOC  | 27,13                                | 1,61                               | 1820,1                 | —                       | 71         | 41         | 55         |

| #   | Composto (em inglês)                                                                                                                                 | Grupo | $^1t_R$<br>(min) | $^2t_R$<br>(s) | $I_{calculado}$ | $I_{literatura}$ | $m/z$<br>(1) | $m/z$<br>(2) | $m/z$<br>(3) |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------|----------------|-----------------|------------------|--------------|--------------|--------------|
| 245 | 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-                                                                                                                  | BVOC  | 27,13            | 1,21           | 1860,0          | 1844             |              |              |              |
| 246 | Dodecyl propyl carbonate                                                                                                                             | AVOC  | 27,13            | 1,61           | 1860,0          | 1868             |              |              |              |
| 247 | Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-                                                                            | AVOC  | 27,39            | 1,61           | 1873,3          | 1851             |              |              |              |
| 248 | Diisobutyl phthalate                                                                                                                                 | AVOC  | 27,53            | 2,01           | 1880,0          | 1870             |              |              |              |
| 249 | Cyclopentadecanone                                                                                                                                   | BVOC  | 27,66            | 1,21           | 1846,7          | 1861             |              |              |              |
| 250 | 1H-Naphtho[2,1-b]pyran, 4a,5,6,6a,7,8,9,10,10a,10b-decahydro-3,4a,7,7,10a-pentamethyl-, [4aR-(4a $\alpha$ ,6a $\beta$ ,10a $\alpha$ ,10b $\beta$ )]- | AVOC  | 28,06            | 1,61           | 1907,1          | 1894             |              |              |              |
| 251 | Homosalate                                                                                                                                           | BVOC  | 28,06            | 1,81           | 1907,1          | 1904             |              |              |              |
| 252 | Dodecylcyclohexane                                                                                                                                   | BVOC  | 28,19            | 1,21           | 1873,3          | 1864             |              |              |              |
| 253 | Phenanthrene, 4-methyl- (4-Methyl-phenanthrene)                                                                                                      | AVOC  | 28,20            | 2,81           | 1914,3          | 1915             |              |              |              |
| 254 | Hexadecanenitrile                                                                                                                                    | BVOC  | 28,46            | 1,21           | 1886,6          | 1898             |              |              |              |
| 255 | 2-((2-Chloroethoxy)carbonyl)benzoic acid                                                                                                             | AVOC  | 28,59            | 2,81           | 1893,3          | 1873             |              |              |              |
| 256 | 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione                                                                                            | AVOC  | 28,59            | 2,21           | 1935,7          | 1923             |              |              |              |
| 257 | 2-((2-Ethoxyethoxy)carbonyl)benzoic acid                                                                                                             | AVOC  | 28,73            | 3,42           | 1900,1          | 1927             |              |              |              |
| 258 | Diphenyl sulfone                                                                                                                                     | AVOC  | 28,86            | 3,62           | 1949,9          | 1874             |              |              |              |
| 259 | Anthracene, 1-methyl-                                                                                                                                | AVOC  | 28,86            | 2,61           | 1950,0          | 1959             |              |              |              |
| 260 | 2,2',3,6-Tetrachloro-1,1'-biphenyl                                                                                                                   | AVOC  | 28,99            | 2,01           | 1914,2          | 1899             |              |              |              |
| 261 | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester                                                                                             | BVOC  | 28,99            | 1,81           | 1914,2          | 1924             |              |              |              |
| 262 | cis-7-Hexadecenoic acid                                                                                                                              | BVOC  | 28,99            | 1,81           | 1957,1          | 1961             |              |              |              |
| 263 | 1,1'-Biphenyl, 2,2',3,6'-tetrachloro-                                                                                                                | AVOC  | 29,00            | 2,61           | 1914,4          | 1916             |              |              |              |
| 264 | Pentafluoropropionic acid, heptadecyl ester                                                                                                          | BVOC  | 29,00            | 1,21           | 1914,4          | 1911             |              |              |              |
| 265 | Chalcone                                                                                                                                             | BVOC  | 29,13            | 0,20           | 1964,2          | 1971             |              |              |              |
| 266 | Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester                                                                           | AVOC  | 29,13            | 2,01           | 1964,3          | 1943             |              |              |              |
| 267 | n-Hexadecanoic acid                                                                                                                                  | BVOC  | 29,26            | 1,21           | 1971,4          | 1968             |              |              |              |
| 268 | 1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester                                                                                              | AVOC  | 29,53            | 2,01           | 1985,7          | 1972             |              |              |              |
| 269 | Dibutyl phthalate                                                                                                                                    | AVOC  | 29,53            | 3,22           | 1985,7          | 1965             |              |              |              |
| 270 | Chloroxuron                                                                                                                                          | AVOC  | 29,80            | 3,02           | 2000,0          | 1921             |              |              |              |
| 271 | 4,12-Dipropyl-4,7,7,9,9,12-hexamethyl-8-oxa-4,7,9,12-tetrasilapentadecane                                                                            | AVOC  | 29,80            | 1,81           | 1957,2          | 1950             |              |              |              |
| 272 | 2,3,3',6-Tetrachloro-1,1'-biphenyl                                                                                                                   | AVOC  | 29,93            | 1,41           | 1964,2          | 1970             |              |              |              |
| 273 | Hexadecane, 1-bromo-                                                                                                                                 | AVOC  | 29,93            | 2,61           | 1964,2          | 1957             |              |              |              |
| 274 | 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 8-methylnonyl ester                                                                                              | AVOC  | 29,93            | 1,61           | 1964,4          | —                | 41           | 55           | 57           |
| 275 | Palmitic acid vinyl ester                                                                                                                            | BVOC  | 30,06            | 2,21           | 2014,2          | 1986             |              |              |              |
| 276 | 1,1'-Biphenyl, 2,3',5,5'-tetrachloro-                                                                                                                | AVOC  | 30,06            | 2,41           | 1971,5          | 1979             |              |              |              |
| 277 | Isopropyl palmitate                                                                                                                                  | BVOC  | 30,06            | 1,21           | 1971,5          | 2023             |              |              |              |

| #   | Composto (em inglês)                                                                                       | Grupo | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | I <sub>calculado</sub> | I <sub>literatura</sub> | m/z<br>(1) | m/z<br>(2) | m/z<br>(3) |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| 278 | 9,10-Anthracenedione                                                                                       | AVOC  | 30,19                                | 2,81                               | 1978,5                 | 1950                    |            |            |            |
| 279 | Naphthalene, 2-phenyl-                                                                                     | AVOC  | 30,33                                | 3,01                               | 1985,8                 | 1968                    |            |            |            |
| 280 | Hexadecane-1,2-diol                                                                                        | AVOC  | 30,46                                | 1,01                               | 2035,7                 | 2031                    |            |            |            |
| 281 | Androstane, (5 $\alpha$ )-                                                                                 | AVOC  | 30,59                                | 2,21                               | 2042,8                 | 2061                    |            |            |            |
| 282 | Androstane, (5 $\beta$ )-                                                                                  | AVOC  | 30,60                                | 2,21                               | 2042,9                 | 2060                    |            |            |            |
| 283 | 1(2H)-Naphthalenone, 3,4-dihydro-4-phenyl-                                                                 | AVOC  | 30,73                                | 2,41                               | 2007,1                 | 1864                    |            |            |            |
| 284 | Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester                                                                | BVOC  | 30,73                                | 3,02                               | 2050,0                 | 2047                    |            |            |            |
| 285 | Terephthalic acid, isobutyl 3-methylbut-2-yl ester                                                         | AVOC  | 30,99                                | 2,01                               | 2021,4                 | 2023                    |            |            |            |
| 286 | 2,4-Undecadienoic acid, 11-[(2R,3R)-3-(hydroxymethyl)-4-oxo-2-oxetanyl]-3,5,7-trimethyl-, (2E,4E,7R)-      | BVOC  | 31,13                                | 1,81                               | 2071,3                 | —                       | 207        | 55         | 67         |
| 287 | 7,8-Dimethoxy-4-methylcoumarin                                                                             | BVOC  | 31,13                                | 2,61                               | 2028,6                 | 2033                    |            |            |            |
| 288 | Sclareolide                                                                                                | BVOC  | 31,26                                | 2,21                               | 2078,6                 | 2089                    |            |            |            |
| 289 | Lapachol                                                                                                   | BVOC  | 31,26                                | 2,41                               | 2035,8                 | 2023                    |            |            |            |
| 290 | 5-(Penta-1,3-diyn-1-yl)-2,2'-bithiophene                                                                   | AVOC  | 31,39                                | 2,21                               | 2042,8                 | 2068                    |            |            |            |
| 291 | Diamyl phthalate                                                                                           | AVOC  | 31,39                                | 2,01                               | 2085,7                 | 2129                    |            |            |            |
| 292 | 1-Octadecanol                                                                                              | BVOC  | 31,53                                | 1,41                               | 2092,8                 | 2082                    |            |            |            |
| 293 | 3-Hydroxy-2',3',5',6'-tetrachlorobiphenyl, trifluoroacetate                                                | AVOC  | 31,66                                | 1,00                               | 2057,1                 | 2047                    |            |            |            |
| 294 | Sulphenone                                                                                                 | AVOC  | 31,79                                | 3,22                               | 2107,6                 | 2033                    |            |            |            |
| 295 | Pyrene, 4,5-dihydro-Benzo[1,2-b:4,5-b']difuran-4-ethanamine, 8-bromo-2,3,6,7-tetrahydro- $\alpha$ -methyl- | AVOC  | 31,93                                | 2,61                               | 2071,4                 | 2070                    |            |            |            |
| 296 | tetrahydro- $\alpha$ -methyl-                                                                              | AVOC  | 31,93                                | 2,61                               | 2071,4                 | —                       | 149        | 41         | 55         |
| 297 | Phytol                                                                                                     | BVOC  | 31,93                                | 1,81                               | 2115,4                 | 2114                    |            |            |            |
| 298 | 1,1'-Biphenyl, 2,2',3,3',6,6'-hexachloro-                                                                  | AVOC  | 32,06                                | 2,21                               | 2123,0                 | 2125                    |            |            |            |
| 299 | 2,2'-Dihydroxy-4',6'-dimethoxychalcone                                                                     | BVOC  | 32,06                                | 2,81                               | 2078,6                 | —                       | 41         | 43         | 225        |
| 300 | 2(3H)-Furanone, 5-dodecyldihydro-                                                                          | BVOC  | 32,46                                | 1,61                               | 2100,0                 | 2105                    |            |            |            |
| 301 | 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-                                                                           | BVOC  | 32,46                                | 1,61                               | 2146,1                 | 2133                    |            |            |            |
| 302 | Profluralin                                                                                                | AVOC  | 32,46                                | 3,42                               | 2100,1                 | 2180                    |            |            |            |
| 303 | Benzene, 1,1'-(1,3-butadiyne-1,4-diyl)bis-                                                                 | AVOC  | 32,60                                | 3,02                               | 2153,9                 | 2142                    |            |            |            |
| 304 | Triclosan                                                                                                  | AVOC  | 32,73                                | 2,01                               | 2115,3                 | 2114                    |            |            |            |
| 305 | 1,7-Di(2-methylphenyl)-2,2,4,4,6,6-hexamethyl-1,3,5,7-tetraoxa-2,4,6-trisilaheptane                        | AVOC  | 32,73                                | 0,80                               | 2115,3                 | 2104                    |            |            |            |
| 306 | Pyrene                                                                                                     | AVOC  | 32,86                                | 2,61                               | 2123,0                 | 2103                    |            |            |            |
| 307 | Hymeglusin                                                                                                 | BVOC  | 32,86                                | 2,41                               | 2123,2                 | —                       | 105        | 91         | 43         |
| 308 | 2-Ethylhexyl methyl isophthalate                                                                           | BVOC  | 32,99                                | 1,61                               | 2130,7                 | 2136                    |            |            |            |
| 309 | n-Nonadecanol-1                                                                                            | BVOC  | 32,99                                | 1,41                               | 2176,9                 | 2176                    |            |            |            |
| 310 | 1-Propene-1,2,3-tricarboxylic acid, tributyl ester                                                         | BVOC  | 33,13                                | 1,61                               | 2184,6                 | 2297                    |            |            |            |
| 311 | 3'-Hydroxy- $\alpha$ -naphthoflavone                                                                       | BVOC  | 33,13                                | 2,01                               | 2138,6                 | —                       | 243        | 41         | 243        |
| 312 | Hexanedioic acid, dihexyl ester                                                                            | AVOC  | 33,13                                | 1,41                               | 2138,6                 | 2127                    |            |            |            |
| 313 | Hexadecanoic acid, butyl ester                                                                             | BVOC  | 33,26                                | 1,21                               | 2192,3                 | 2188                    |            |            |            |
| 314 | Hexadecanamide                                                                                             | AVOC  | 33,39                                | 2,21                               | 2199,9                 | 2184                    |            |            |            |



| #   | Composto (em inglês)                                                                                                                                                | Grupo | $t_R^1$<br>(min) | $t_R^2$<br>(s) | $I_{\text{calculado}}$ | $I_{\text{literatura}}$ | $m/z$<br>(1) | $m/z$<br>(2) | $m/z$<br>(3) |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|------------------|----------------|------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|
| 315 | Nicotelline                                                                                                                                                         | BVOC  | 33,40            | 2,41           | 2153,9                 | —                       | 44           | 41           | 43           |
| 316 | 9-Octadecynoic acid, methyl ester                                                                                                                                   | AVOC  | 33,53            | 1,41           | 2161,5                 | 2124                    |              |              |              |
| 317 | 6-Isopropoxy-9-oxoxanthene-2-carboxylic acid                                                                                                                        | BVOC  | 33,53            | 2,61           | 2207,7                 | —                       | 257          | 55           | 67           |
| 318 | Benzene, 1,1'-(2,2-dichloroethylidene)bis[4-ethyl-                                                                                                                  | AVOC  | 33,53            | 2,61           | 2207,7                 | 2224                    |              |              |              |
| 319 | Naphthalene, 1-(phenylmethoxy)-                                                                                                                                     | AVOC  | 33,66            | 2,61           | 2169,2                 | 2094                    |              |              |              |
| 320 | 2-Chlorobenzoic acid, decyl ester                                                                                                                                   | AVOC  | 33,66            | 2,01           | 2169,3                 | 2168                    |              |              |              |
| 321 | Octadecanoic acid                                                                                                                                                   | BVOC  | 33,80            | 1,21           | 2223,1                 | 2172                    |              |              |              |
| 322 | Carbazole, 2,3,5-trimethyl-                                                                                                                                         | AVOC  | 33,93            | 3,01           | 2184,7                 | 2178                    |              |              |              |
| 323 | Butyl citrate                                                                                                                                                       | BVOC  | 34,06            | 1,41           | 2192,2                 | 2150                    |              |              |              |
| 324 | Bis(2-ethylhexyl) maleate                                                                                                                                           | AVOC  | 34,19            | 1,61           | 2246,1                 | 2224                    |              |              |              |
| 325 | 2',5'-Dimethoxyflavone                                                                                                                                              | BVOC  | 34,20            | 1,41           | 2246,2                 | 2350                    |              |              |              |
| 326 | Butyl ethylhexyl phthalate                                                                                                                                          | AVOC  | 34,46            | 1,61           | 2215,3                 | 2209                    |              |              |              |
| 327 | 1-Naphthalenepropanol, $\alpha$ -ethenyldecahydro-2-hydroxy- $\alpha$ ,2,5,5,8a-pentamethyl-, [1R-[1 $\alpha$ (R*),2 $\beta$ ,4 $\alpha\beta$ ,8 $\alpha\alpha$ ]]- | AVOC  | 34,60            | 2,21           | 2223,2                 | 2227                    |              |              |              |
| 328 | Tributyl acetyl citrate                                                                                                                                             | BVOC  | 34,86            | 1,81           | 2284,6                 | 2250                    |              |              |              |
| 329 | Benzene, 1,1'-sulfonylbis[4-chloro-                                                                                                                                 | AVOC  | 34,99            | 2,61           | 2246,1                 | 2248                    |              |              |              |
| 330 | Decanedioic acid, 1,10-dibutyl ester                                                                                                                                | BVOC  | 34,99            | 2,41           | 2292,2                 | 2180                    |              |              |              |
| 331 | 11,15-Dioxo-9S-hydroxy-5Z-prostenoic acid                                                                                                                           | BVOC  | 35,26            | 2,61           | 2308,3                 | —                       | 55           | 77           | 67           |
| 332 | 1-Phenanthrenecarboxaldehyde, 1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, [1R-(1 $\alpha$ ,4 $\alpha\beta$ ,10 $\alpha\alpha$ )]-               | AVOC  | 35,66            | 2,01           | 2284,6                 | 2263                    |              |              |              |
| 333 | 2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethylhexyl ester                                                                                                          | AVOC  | 35,79            | 2,21           | 2341,6                 | 2088                    |              |              |              |
| 334 | 1,2-Dihydroxyanthraquinone                                                                                                                                          | BVOC  | 35,80            | 2,41           | 2292,4                 | 2397                    |              |              |              |
| 335 | Desethyleneciprofloxacin                                                                                                                                            | AVOC  | 35,93            | 2,01           | 2300,0                 | —                       | 41           | 55           | 288          |
| 336 | 2-Ethylhexyl trans-4-methoxycinnamate                                                                                                                               | AVOC  | 36,19            | 1,81           | 2316,6                 | 2339                    |              |              |              |
| 337 | 1,3-Dimethyl-5-pylazolyl-2,4-dichlorobenzoate                                                                                                                       | AVOC  | 36,33            | 2,81           | 2325,1                 | 2094                    |              |              |              |
| 338 | Ethyl 3-hydroxyoctadecanoate                                                                                                                                        | AVOC  | 36,46            | 1,41           | 2333,2                 | 2348                    |              |              |              |
| 339 | (Z)-9-octadecenamide                                                                                                                                                | BVOC  | 36,59            | 2,21           | 2391,6                 | 2386                    |              |              |              |
| 340 | Nonyl tetradecyl ether                                                                                                                                              | AVOC  | 36,86            | 7,44           | 2358,3                 | 2358                    |              |              |              |
| 341 | Octadecanamide                                                                                                                                                      | BVOC  | 36,86            | 3,62           | 2358,3                 | 2374                    |              |              |              |
| 342 | Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester                                                                                                                           | AVOC  | 37,13            | 1,21           | 2375,1                 | 2398                    |              |              |              |
| 343 | Triphenyl phosphate                                                                                                                                                 | AVOC  | 37,53            | 2,81           | 2399,9                 | 2387                    |              |              |              |
| 344 | 7H-Benz[de]anthracen-7-one                                                                                                                                          | AVOC  | 37,53            | 3,62           | 2400,1                 | 2418                    |              |              |              |
| 345 | 7-Methoxyisoflavone                                                                                                                                                 | BVOC  | 37,66            | 1,61           | 2408,3                 | 2437                    |              |              |              |
| 346 | Tetracosane                                                                                                                                                         | BVOC  | 37,79            | 6,43           | 2416,6                 | 2400                    |              |              |              |
| 347 | Trichloroacetic acid, hexadecyl ester                                                                                                                               | AVOC  | 37,79            | 7,03           | 2416,6                 | 2405                    |              |              |              |
| 348 | 2-Propen-1-one, 1-(2,4-dimethoxyphenyl)-3-phenyl-                                                                                                                   | AVOC  | 37,80            | 2,81           | 2472,7                 | 2483                    |              |              |              |
| 349 | 4-Methylacridin-9-ol                                                                                                                                                | AVOC  | 37,93            | 1,01           | 2481,7                 | 2412                    |              |              |              |
| 350 | 1,3,9-Trimethylpyrene                                                                                                                                               | AVOC  | 37,93            | 3,82           | 2425,1                 | 2417                    |              |              |              |
| 351 | Phenol, 2,4-bis(1-phenylethyl)-                                                                                                                                     | AVOC  | 38,06            | 2,61           | 2433,3                 | 2426                    |              |              |              |

| #   | Composto (em inglês)                                                                                                   | Grupo | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | I <sub>calculado</sub> | I <sub>literatura</sub> | m/z<br>(1) | m/z<br>(2) | m/z<br>(3) |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|--------------------------------------|------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| 352 | Tetracosan-10-yl acetate                                                                                               | BVOC  | 38,06                                | 7,03                               | 2433,3                 | 2431                    |            |            |            |
| 353 | Chrysene                                                                                                               | AVOC  | 38,20                                | 3,62                               | 2500,0                 | 2449                    |            |            |            |
| 354 | Octicizer                                                                                                              | AVOC  | 38,20                                | 2,81                               | 2441,8                 | 2410                    |            |            |            |
| 355 | Cyclohexane, 1,3,5-triphenyl-                                                                                          | AVOC  | 38,33                                | 2,21                               | 2450,0                 | 2464                    |            |            |            |
| 356 | 2-Methyltetracosane                                                                                                    | BVOC  | 38,59                                | 5,63                               | 2466,6                 | 2462                    |            |            |            |
| 357 | Hexadecyl octyl ether                                                                                                  | AVOC  | 38,59                                | 6,03                               | 2466,6                 | 2459                    |            |            |            |
| 358 | Benz[a]anthracene                                                                                                      | AVOC  | 38,60                                | 3,82                               | 2466,8                 | 2437                    |            |            |            |
| 359 | Carbonic acid, eicosyl vinyl ester                                                                                     | AVOC  | 39,13                                | 5,43                               | 2500,0                 | 2497                    |            |            |            |
| 360 | 6β-Hydroxyfluoxymesterone                                                                                              | AVOC  | 39,26                                | 2,41                               | 2509,0                 | —                       | 207        | 41         | 44         |
| 361 | Dicyclohexyl phthalate                                                                                                 | AVOC  | 39,40                                | 1,61                               | 2518,3                 | 2498                    |            |            |            |
| 362 | Carbonic acid, but-2-yn-1-yl heptadecyl ester                                                                          | AVOC  | 39,53                                | 5,43                               | 2527,2                 | 2521                    |            |            |            |
| 363 | Bis(2-ethylhexyl) phthalate                                                                                            | AVOC  | 39,66                                | 1,61                               | 2536,3                 | 2529                    |            |            |            |
| 364 | Adipic acid, 2-chloropropyl undecyl ester                                                                              | AVOC  | 39,79                                | 2,41                               | 2545,4                 | 2541                    |            |            |            |
| 365 | Heneicosane, 11-cyclopentyl-                                                                                           | AVOC  | 39,79                                | 5,22                               | 2545,4                 | 2548                    |            |            |            |
| 366 | Sulfurous acid, pentadecyl 2-propyl ester                                                                              | AVOC  | 39,79                                | 4,62                               | 2545,4                 | 2568                    |            |            |            |
| 367 | Phthalic acid, 3-ethylphenyl pentyl ester                                                                              | AVOC  | 39,93                                | 2,21                               | 2554,6                 | 2539                    |            |            |            |
| 368 | 3-Hydroxy-2'-methoxyflavone                                                                                            | BVOC  | 40,20                                | 6,63                               | 2630,0                 | 2385                    |            |            |            |
| 369 | 1,3-Dimethyl 2-(4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-yl)propanedioate (isomer 2)                                    | AVOC  | 40,33                                | 2,41                               | 2581,8                 | 2592                    |            |            |            |
| 370 | Benzoic acid, 2-[(7-chloro-4-quinoliny)amino]-, 2,3-dihydroxypropyl ester                                              | BVOC  | 40,33                                | 0,40                               | 2639,9                 | 2816                    |            |            |            |
| 371 | Docosyl isobutyl ether                                                                                                 | AVOC  | 40,86                                | 4,22                               | 2618,1                 | 2626                    |            |            |            |
| 372 | 4-Hydroxytriamterene sulfate                                                                                           | AVOC  | 41,13                                | 3,42                               | 2636,5                 | —                       | 105        | 209        | 194        |
| 373 | Octadecyl octyl ether                                                                                                  | AVOC  | 41,39                                | 3,62                               | 2654,5                 | 2656                    |            |            |            |
| 374 | 7,3'-Dihydroxyflavone                                                                                                  | BVOC  | 41,40                                | 1,81                               | 2654,6                 | —                       | 253        | 135        | 73         |
| 375 | Octocrylene                                                                                                            | AVOC  | 41,53                                | 2,21                               | 2663,5                 | —                       | 207        | 249        | 41         |
| 376 | Heptacos-1-ene                                                                                                         | BVOC  | 41,93                                | 3,82                               | 2690,9                 | 2693                    |            |            |            |
| 377 | 1,13-Di(1-phenylpropyl)-2,2,4,4,6,6,8,8,10,10,12,12-dodecamethyl-1,3,5,7,9,11,13-hepta-2,4,6,8,10,12-hexasilatridecane | AVOC  | 42,06                                | 8,44                               | 2700,0                 | 2707                    |            |            |            |
| 378 | Heptacosane                                                                                                            | BVOC  | 42,06                                | 3,42                               | 2700,0                 | 2700                    |            |            |            |
| 379 | Propanedinitrile, 2-[[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]methylene]-                                           | AVOC  | 42,19                                | 2,21                               | 2772,6                 | —                       | 281        | 282        | 283        |
| 380 | Carbonic acid, decyl tetradecyl ester                                                                                  | AVOC  | 42,33                                | 3,82                               | 2718,1                 | 2714                    |            |            |            |
| 381 | 9,10-Anthracenedione, 1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)-                                                                 | AVOC  | 42,46                                | 6,03                               | 2790,9                 | —                       | 207        | 57         | 73         |
| 382 | 3-Hydroxy-2',4',5'-trimethoxyflavone                                                                                   | BVOC  | 42,59                                | 7,44                               | 2799,9                 | 2669                    |            |            |            |

<sup>1</sup>t<sub>R</sub>: tempo de retenção na primeira coluna, <sup>2</sup>t<sub>R</sub>: tempo de retenção na segunda coluna, I<sub>calculado</sub>: índice de retenção calculado para o composto, I<sub>literatura</sub>: índice de retenção reportado na literatura para o composto; m/z (1–3): os três íons que caracterizam o composto (em ordem decrescente de intensidade). Alguns compostos apresentaram iguais valores de <sup>1</sup>t<sub>R</sub> e <sup>2</sup>t<sub>R</sub>, mas possuem espectros de massas diferentes e pertencem a amostras diferentes.

### d) Distribuição dos compostos identificados por pontos de amostragem

**Tabela A7** - Compostos identificados (em inglês) na fração MP<sub>2,5</sub> do material particulado coletado na Campanha 1.

| Composto                                                                      | C1-PM2.5-P1-1 | C1-PM2.5-P1-2 | C1-PM2.5-P1-3 | C1-PM2.5-P1-4 | C1-PM2.5-P1-5 | C1-PM2.5-P1-6 | C1-PM2.5-P1-7 | C1-PM2.5-P2-1 | C1-PM2.5-P2-2 | C1-PM2.5-P2-3 | C1-PM2.5-P2-4 | C1-PM2.5-P2-5 | C1-PM2.5-P2-6 | C1-PM2.5-P2-7 | C1-PM2.5-P3-1 | C1-PM2.5-P3-2 | C1-PM2.5-P3-3 | C1-PM2.5-P3-4 | C1-PM2.5-P3-5 | C1-PM2.5-P3-6 | C1-PM2.5-P3-7 | C1-PM2.5-P4-1 | C1-PM2.5-P4-2 | C1-PM2.5-P4-3 | C1-PM2.5-P4-4 | C1-PM2.5-P4-5 | C1-PM2.5-P4-6 | C1-PM2.5-P4-7 | C1-PM2.5-P5-1 | C1-PM2.5-P5-2 | C1-PM2.5-P5-3 | C1-PM2.5-P5-4 | C1-PM2.5-P5-5 | C1-PM2.5-P5-6 | C1-PM2.5-P5-7 |   |   |
|-------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---|---|
| (8R,8aS)-8,8a-Dimethyl-2-(propan-2-ylidene)-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalene |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 1,13-Tetradecadiene                                                           | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 1,1'-Biphenyl, 2,2',3,3',6,6'-hexachloro-                                     |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| Diisobutyl phthalate                                                          | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | × | × |
| 1,2-Benzenediol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                  |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | × | × |
| 1,3-Dihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone                                     |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester                       | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                  |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | × | × |
| 1,8-Octanediol                                                                |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | × | × |
| 10-Undecynoic acid, methyl ester                                              | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 11,15-Dioxo-9S-hydroxy-5Z-prostenoic acid                                     |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | × | × |
| 1-Decanol                                                                     | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | × | × |
| 2-Hexyl-1-decanol                                                             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |   |   |

[illegible]

[illegible]

| Composto                                                                     | C1-PM2.5-P1-1 | C1-PM2.5-P1-2 | C1-PM2.5-P1-3 | C1-PM2.5-P1-4 | C1-PM2.5-P1-5 | C1-PM2.5-P1-6 | C1-PM2.5-P1-7 | C1-PM2.5-P2-1 | C1-PM2.5-P2-2 | C1-PM2.5-P2-3 | C1-PM2.5-P2-4 | C1-PM2.5-P2-5 | C1-PM2.5-P2-6 | C1-PM2.5-P2-7 | C1-PM2.5-P3-1 | C1-PM2.5-P3-2 | C1-PM2.5-P3-3 | C1-PM2.5-P3-4 | C1-PM2.5-P3-5 | C1-PM2.5-P3-6 | C1-PM2.5-P3-7 | C1-PM2.5-P4-1 | C1-PM2.5-P4-2 | C1-PM2.5-P4-3 | C1-PM2.5-P4-4 | C1-PM2.5-P4-5 | C1-PM2.5-P4-6 | C1-PM2.5-P4-7 | C1-PM2.5-P5-1 | C1-PM2.5-P5-2 | C1-PM2.5-P5-3 | C1-PM2.5-P5-4 | C1-PM2.5-P5-5 | C1-PM2.5-P5-6 | C1-PM2.5-P5-7 |   |   |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---|---|
| 2H-1-Benzopyran-2-one, 7-hydroxy-5,6-dimethoxy-                              |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 2-Hexadecanol                                                                |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 2-Nonenal, (E)-                                                              | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 2-Octenal, (E)-                                                              |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 2-Pentadecanol                                                               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-                                          |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 2-Propen-1-one, 1-(2,4-dimethoxyphenyl)-3-phenyl-                            |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x | x |
| 2-Propenoic acid, 3-(2-hydroxyphenyl)-, methyl ester                         |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethylhexyl ester                   |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x | x |
| 2-Propyl-1-pentanol                                                          | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x | x |
| 3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde                                      |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x | x |
| 3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-                        |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 3-Buten-2-one, 4-phenyl-, (E)-                                               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x |   |
| 3-Cyclopentyl-1-propyne                                                      | x             | x             | x             | x             | x             | x             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |
| 3-Furancarboxylic acid, tetrahydro-4-methylene-5-oxo-2-propyl-, (2R,3S)-rel- |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | x             | x             | x             | x             | x             | x             | x | x |

| Composto                                                                             | C1-PM2.5-P1-1 | C1-PM2.5-P1-2 | C1-PM2.5-P1-3 | C1-PM2.5-P1-4 | C1-PM2.5-P1-5 | C1-PM2.5-P1-6 | C1-PM2.5-P1-7 | C1-PM2.5-P2-1 | C1-PM2.5-P2-2 | C1-PM2.5-P2-3 | C1-PM2.5-P2-4 | C1-PM2.5-P2-5 | C1-PM2.5-P2-6 | C1-PM2.5-P2-7 | C1-PM2.5-P3-1 | C1-PM2.5-P3-2 | C1-PM2.5-P3-3 | C1-PM2.5-P3-4 | C1-PM2.5-P3-5 | C1-PM2.5-P3-6 | C1-PM2.5-P3-7 | C1-PM2.5-P4-1 | C1-PM2.5-P4-2 | C1-PM2.5-P4-3 | C1-PM2.5-P4-4 | C1-PM2.5-P4-5 | C1-PM2.5-P4-6 | C1-PM2.5-P4-7 | C1-PM2.5-P5-1 | C1-PM2.5-P5-2 | C1-PM2.5-P5-3 | C1-PM2.5-P5-4 | C1-PM2.5-P5-5 | C1-PM2.5-P5-6 | C1-PM2.5-P5-7 |   |   |  |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---|---|--|
| 3-Pyridineacetonitrile, $\alpha$ -[(3,4-dimethoxyphenyl)methylene]-, ( $\alpha Z$ )- |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 3-Tetradecanol                                                                       |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 4H-1-Benzopyran-4-one, 2-(2-amino-3-methoxyphenyl)-                                  |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 4-Isopropylphenylacetic acid                                                         |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 4-Methylacridin-9-ol                                                                 |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 4-tert-Butylcyclohexyl acetate                                                       |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 5-(Furan-3-yl)-2-methylpent-1-en-3-ol                                                |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 5-Methyl-2,4-diisopropylphenol                                                       | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 5-Undecene, (E)-                                                                     | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 6-Isopropoxy-9-oxoxanthene-2-carboxylic acid                                         |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate                                                 | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione                            |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-                                                     |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| 9H-Fluoren-9-one                                                                     | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | × | × |  |
| (Z)-9-octadecenamide                                                                 |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| Acetophenone                                                                         |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| Androstane, (5 $\beta$ )-                                                            |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |   |   |  |
| Androstane, (5 $\alpha$ )-                                                           |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               |               | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             | ×             |               |               |               |               |               |               |   |   |  |

[illegible]



[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

**Tabela A8** - Compostos identificados (em inglês) na fração MP<sub>2,5</sub> do material particulado coletado na Campanha 2.

[illegible]

[illegible]



[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

**Tabela A9** - Compostos identificados (em inglês) na fração PTS do material particulado coletado na Campanha 1.

| Composto                                                                      | Amostra     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|
|                                                                               | C1-PTS-P1-1 | C1-PTS-P1-2 | C1-PTS-P1-3 | C1-PTS-P1-4 | C1-PTS-P1-5 | C1-PTS-P1-6 | C1-PTS-P1-7 | C1-PTS-P2-1 | C1-PTS-P2-2 | C1-PTS-P2-3 | C1-PTS-P2-4 | C1-PTS-P2-5 | C1-PTS-P2-6 | C1-PTS-P2-7 | C1-PTS-P3-1 | C1-PTS-P3-2 | C1-PTS-P3-3 | C1-PTS-P3-4 | C1-PTS-P3-6 | C1-PTS-P3-7 | C1-PTS-P3-8 | C1-PTS-P3-9 | C1-PTS-P4-1 | C1-PTS-P4-2 | C1-PTS-P4-3 | C1-PTS-P4-4 | C1-PTS-P4-5 | C1-PTS-P4-6 | C1-PTS-P4-7 | C1-PTS-P5-1 | C1-PTS-P5-2 | C1-PTS-P5-3 | C1-PTS-P5-4 | C1-PTS-P5-5 | C1-PTS-P5-6 | C1-PTS-P5-7 |   |
| (8R,8aS)-8,8a-Dimethyl-2-(propan-2-ylidene)-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalene |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 1,13-Tetradecadiene                                                           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 1,1'-Biphenyl, 2,2',3,3',6,6'-hexachloro-                                     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Diisobutyl phthalate                                                          | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |   |
| 1,2-Benzenediol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                  |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | × |
| 1,3-Dihydroxy-2-methyl-9,10-anthraquinone                                     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 1,4-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester                       | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                  |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | × |
| 1,8-Octanediol                                                                |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | × |
| 10-Undecynoic acid, methyl ester                                              | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 11,15-Dioxo-9S-hydroxy-5Z-prostenoic acid                                     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | × |
| 1-Decanol                                                                     | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | × |
| 2-Hexyl-1-decanol                                                             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 1-Dodecene                                                                    |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | ×           | × |

[illegible]

| Composto                                                                                              | Amostra     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|
|                                                                                                       | C1-PTS-P1-1 | C1-PTS-P1-2 | C1-PTS-P1-3 | C1-PTS-P1-4 | C1-PTS-P1-5 | C1-PTS-P1-6 | C1-PTS-P1-7 | C1-PTS-P2-1 | C1-PTS-P2-2 | C1-PTS-P2-3 | C1-PTS-P2-4 | C1-PTS-P2-5 | C1-PTS-P2-6 | C1-PTS-P2-7 | C1-PTS-P3-1 | C1-PTS-P3-2 | C1-PTS-P3-3 | C1-PTS-P3-4 | C1-PTS-P3-6 | C1-PTS-P3-7 | C1-PTS-P3-8 | C1-PTS-P3-9 | C1-PTS-P4-1 | C1-PTS-P4-2 | C1-PTS-P4-3 | C1-PTS-P4-4 | C1-PTS-P4-5 | C1-PTS-P4-6 | C1-PTS-P4-7 | C1-PTS-P5-1 | C1-PTS-P5-2 | C1-PTS-P5-3 | C1-PTS-P5-4 | C1-PTS-P5-5 | C1-PTS-P5-6 | C1-PTS-P5-7 |   |
| 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate                                                         | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| 2,4-Di-tert-butylphenol                                                                               | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |   |
| 2,4-Undecadienoic acid, 11-[(2R,3R)-3-(hydroxymethyl)-4-oxo-2-oxetanyl]-3,5,7-trimethyl-, (2E,4E,7R)- |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |   |
| 2',5'-Dimethoxyflavone                                                                                |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |   |
| 2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-                                                            |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2,6,9,9-Tetramethyl-2,6,10-cycloundecatrien-1-                                                        |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene, E,E-                                                               |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2-Benzothiazolamine, N-ethyl-                                                                         |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2-Dodecenal, (E)-                                                                                     | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2H-1-Benzopyran, 3,4-dihydro-                                                                         | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2H-1-Benzopyran-2-one, 7-hydroxy-5,6-dimethoxy-                                                       |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2-Hexadecanol                                                                                         |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2-Nonenal, (E)-                                                                                       | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2-Octenal, (E)-                                                                                       |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2-Pentadecanol                                                                                        | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-                                                                   |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| 2-Propen-1-one, 1-(2,4-dimethoxyphenyl)-3-phenyl-                                                     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |



[illegible]

| Composto                                                  | Amostra     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
|-----------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|---|
|                                                           | C1-PTS-P1-1 | C1-PTS-P1-2 | C1-PTS-P1-3 | C1-PTS-P1-4 | C1-PTS-P1-5 | C1-PTS-P1-6 | C1-PTS-P1-7 | C1-PTS-P2-1 | C1-PTS-P2-2 | C1-PTS-P2-3 | C1-PTS-P2-4 | C1-PTS-P2-5 | C1-PTS-P2-6 | C1-PTS-P2-7 | C1-PTS-P3-1 | C1-PTS-P3-2 | C1-PTS-P3-3 | C1-PTS-P3-4 | C1-PTS-P3-6 | C1-PTS-P3-7 | C1-PTS-P3-8 | C1-PTS-P3-9 | C1-PTS-P4-1 | C1-PTS-P4-2 | C1-PTS-P4-3 | C1-PTS-P4-4 | C1-PTS-P4-5 | C1-PTS-P4-6 | C1-PTS-P4-7 | C1-PTS-P5-1 | C1-PTS-P5-2 | C1-PTS-P5-3 | C1-PTS-P5-4 | C1-PTS-P5-5 | C1-PTS-P5-6 | C1-PTS-P5-7 |   |   |
| 5-Undecene, (E)-                                          | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| 6-Isopropoxy-9-oxoxanthene-2-carboxylic acid              |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate                      | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| 9,10-Anthracenedione, 1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)-    |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-                          |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| 9H-Fluoren-9-one                                          | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| (Z)-9-octadecenamide                                      |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Acetophenone                                              |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Androstane, (5β)-                                         |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Androstane, (5α)-                                         |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Anethole                                                  | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Anthracene                                                | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Anthracene, 1-methyl-                                     |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Benzaldehyde                                              |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Benzaldehyde, 2-chloro-4-hydroxy-                         |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Benzaldehyde, 4-(1-methylethyl)-                          |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Benzaldehyde, 4-ethyl-                                    | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Benzenamine, 2,4,6-tribromo-                              |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Benzenamine, N-ethyl-                                     | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |

| Composto                                                                   | Amostra     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
|----------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|
|                                                                            | C1-PTS-P1-1 | C1-PTS-P1-2 | C1-PTS-P1-3 | C1-PTS-P1-4 | C1-PTS-P1-5 | C1-PTS-P1-6 | C1-PTS-P1-7 | C1-PTS-P2-1 | C1-PTS-P2-2 | C1-PTS-P2-3 | C1-PTS-P2-4 | C1-PTS-P2-5 | C1-PTS-P2-6 | C1-PTS-P2-7 | C1-PTS-P3-1 | C1-PTS-P3-2 | C1-PTS-P3-3 | C1-PTS-P3-4 | C1-PTS-P3-6 | C1-PTS-P3-7 | C1-PTS-P3-8 | C1-PTS-P3-9 | C1-PTS-P4-1 | C1-PTS-P4-2 | C1-PTS-P4-3 | C1-PTS-P4-4 | C1-PTS-P4-5 | C1-PTS-P4-6 | C1-PTS-P4-7 | C1-PTS-P5-1 | C1-PTS-P5-2 | C1-PTS-P5-3 | C1-PTS-P5-4 | C1-PTS-P5-5 | C1-PTS-P5-6 | C1-PTS-P5-7 |   |
| Benzene, 1,1'-(1,3-butadiyne-1,4-diyl)bis-                                 |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| Benzene, 1,1'-(2,2-dichloroethylidene)bis[4-ethyl-                         |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzene, 1,1'-(chloromethylene)bis-                                        |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzene, 1,1'-[1,2-ethanediylbis(oxy)]bis-                                 | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |   |
| Benzene, 1,2,3-trimethoxy-5-(2-propenyl)-                                  | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-                                     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzene, 1-methyl-4-propyl-                                                |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzeneacetic acid, $\alpha$ -oxo-, ethyl ester                            | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzeneethanamine                                                          |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzenemethanol, 2-methyl-, acetate                                        |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| Benzenemethanol, 2-methyl- $\alpha$ -phenyl-                               | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzenepropanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| Benzoic acid, 2,3,6-trichloro-                                             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| Benzoic acid, 2-[(7-chloro-4-quinoliny)amino]-, 2,3-dihydroxypropyl ester  | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzoic acid, 2-ethylhexyl ester                                           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Benzoic acid, 3,4,5-trimethoxy-, methyl ester                              |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |   |

[illegible]

| Composto                                                                                    | Amostra     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|---|
|                                                                                             | C1-PTS-P1-1 | C1-PTS-P1-2 | C1-PTS-P1-3 | C1-PTS-P1-4 | C1-PTS-P1-5 | C1-PTS-P1-6 | C1-PTS-P1-7 | C1-PTS-P2-1 | C1-PTS-P2-2 | C1-PTS-P2-3 | C1-PTS-P2-4 | C1-PTS-P2-5 | C1-PTS-P2-6 | C1-PTS-P2-7 | C1-PTS-P3-1 | C1-PTS-P3-2 | C1-PTS-P3-3 | C1-PTS-P3-4 | C1-PTS-P3-6 | C1-PTS-P3-7 | C1-PTS-P3-8 | C1-PTS-P3-9 | C1-PTS-P4-1 | C1-PTS-P4-2 | C1-PTS-P4-3 | C1-PTS-P4-4 | C1-PTS-P4-5 | C1-PTS-P4-6 | C1-PTS-P4-7 | C1-PTS-P5-1 | C1-PTS-P5-2 | C1-PTS-P5-3 | C1-PTS-P5-4 | C1-PTS-P5-5 | C1-PTS-P5-6 | C1-PTS-P5-7 |   |   |
| Cyclododecane                                                                               | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Cyclohexanamine, N-cyclohexyl-                                                              |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Cyclohexanol, 4-(1,1-dimethylethyl)-                                                        |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate                                          | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate, (1 $\alpha$ ,2 $\beta$ ,5 $\beta$ )-    |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Cyclohexene,1-cyclohexyl-                                                                   |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Cyclohexene,3-(2-propenyl)-                                                                 | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Cyclopenta[g]-2-benzopyran, 1,3,4,6,7,8-hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethyl-                   | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-(2-pentenyl)-, methyl ester, [1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ (Z)]- |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester                                      | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| D-Carvone                                                                                   | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Decanal                                                                                     | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Decanedioic acid, 1,10-dibutyl ester                                                        |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Decanoic acid, ethyl ester                                                                  | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Diamyl phthalate                                                                            | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Dibutyl phthalate                                                                           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Diethyl Phthalate                                                                           |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Diethyltoluamide                                                                            | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Dihydrojasmane                                                                              |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Diisopropyl adipate                                                                         |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |

| Composto                                      | Amostra     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
|-----------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|
|                                               | C1-PTS-P1-1 | C1-PTS-P1-2 | C1-PTS-P1-3 | C1-PTS-P1-4 | C1-PTS-P1-5 | C1-PTS-P1-6 | C1-PTS-P1-7 | C1-PTS-P2-1 | C1-PTS-P2-2 | C1-PTS-P2-3 | C1-PTS-P2-4 | C1-PTS-P2-5 | C1-PTS-P2-6 | C1-PTS-P2-7 | C1-PTS-P3-1 | C1-PTS-P3-2 | C1-PTS-P3-3 | C1-PTS-P3-4 | C1-PTS-P3-6 | C1-PTS-P3-7 | C1-PTS-P3-8 | C1-PTS-P3-9 | C1-PTS-P4-1 | C1-PTS-P4-2 | C1-PTS-P4-3 | C1-PTS-P4-4 | C1-PTS-P4-5 | C1-PTS-P4-6 | C1-PTS-P4-7 | C1-PTS-P5-1 | C1-PTS-P5-2 | C1-PTS-P5-3 | C1-PTS-P5-4 | C1-PTS-P5-5 | C1-PTS-P5-6 | C1-PTS-P5-7 |   |
| Dimethyl morpholinophosphoramidate            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Diphenyl ether                                | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |   |
| Diphenyl sulfone                              | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |   |
| Dodecanal                                     | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |   |
| Dodecane, 1-chloro-                           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Dodecyl propyl carbonate                      |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Ethanone, 1-(4-ethylphenyl)-                  | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Ethanone, 1,1'-(1,4-phenylene)bis-            | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |   |
| Ethyl glycolate                               | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Etymemazine                                   |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| Fenatrol                                      |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| Hexadecanal                                   | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Hexadecanamide                                |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| Hexadecane, 1-chloro-                         | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Hexadecane-1,2-diol                           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester   |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |
| Hexadecanoic acid, butyl ester                |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Homosalate                                    |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Ledol                                         |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Monoethyl phthalate                           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |
| Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-5,7-dimethyl- | x           | x           | x</         |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |

| Composto                                                                                                          | Amostra     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|---|
|                                                                                                                   | C1-PTS-P1-1 | C1-PTS-P1-2 | C1-PTS-P1-3 | C1-PTS-P1-4 | C1-PTS-P1-5 | C1-PTS-P1-6 | C1-PTS-P1-7 | C1-PTS-P2-1 | C1-PTS-P2-2 | C1-PTS-P2-3 | C1-PTS-P2-4 | C1-PTS-P2-5 | C1-PTS-P2-6 | C1-PTS-P2-7 | C1-PTS-P3-1 | C1-PTS-P3-2 | C1-PTS-P3-3 | C1-PTS-P3-4 | C1-PTS-P3-6 | C1-PTS-P3-7 | C1-PTS-P3-8 | C1-PTS-P3-9 | C1-PTS-P4-1 | C1-PTS-P4-2 | C1-PTS-P4-3 | C1-PTS-P4-4 | C1-PTS-P4-5 | C1-PTS-P4-6 | C1-PTS-P4-7 | C1-PTS-P5-1 | C1-PTS-P5-2 | C1-PTS-P5-3 | C1-PTS-P5-4 | C1-PTS-P5-5 | C1-PTS-P5-6 | C1-PTS-P5-7 |   |   |
| Naphthalene, 1,4-dimethyl-                                                                                        | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-                                                                                     |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Naphthalene, 5-ethyl-1,2,3,4-tetrahydro-                                                                          |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Naphthalene, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, [1S-(1 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,8 $\alpha$ B)]- | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| n-Butyric acid 2-ethylhexyl ester                                                                                 |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| n-Decanoic acid                                                                                                   |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| n-Hexadecanoic acid                                                                                               | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| n-Nonadecanol-1                                                                                                   | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Nonanedioic acid, dimethyl ester                                                                                  |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Nonanoic acid, 9-oxo-, methyl ester                                                                               |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Octadecanoic acid                                                                                                 |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Octanedioic acid, dimethyl ester                                                                                  |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Octanoic acid, ethyl ester                                                                                        | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| o-Hydroxybiphenyl                                                                                                 | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| ortho tert-Butyl cyclohexyl acetate                                                                               |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Oxirane, decyl-                                                                                                   | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Oxirane, tetradecyl-                                                                                              |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Palmitic acid vinyl ester                                                                                         |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x |   |
| Phenanthrene, 4-methyl-                                                                                           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Phenanthridine                                                                                                    |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x | x |
| Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                                                               |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Phenol, 4-(2-propenyl)-                                                                                           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |
| Phthalic anhydride                                                                                                |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |             |             |   |   |

[illegible]



**Tabela A10** - Compostos identificados (em inglês) na fração PTS do material particulado coletado na Campanha 2.

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

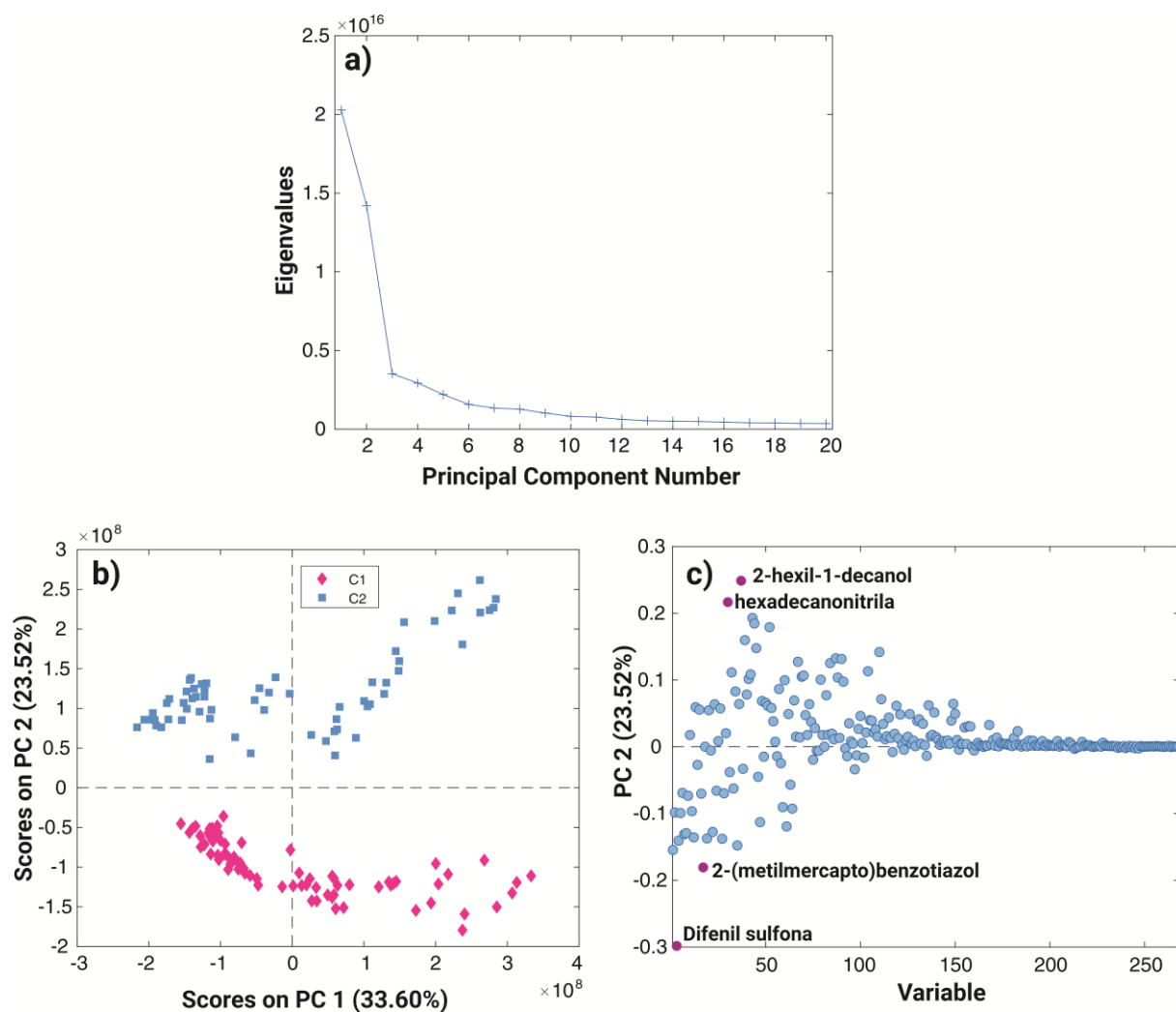
| Composto                                                                                                         | Amostra     |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---|---|
|                                                                                                                  | C2-PTS-P1-1 | C2-PTS-P1-2 | C2-PTS-P1-3 | C2-PTS-P1-4 | C2-PTS-P1-5 | C2-PTS-P1-6 | C2-PTS-P1-7 | C2-PTS-P1-8 | C2-PTS-P1-9 | C2-PTS-P1-10 | C2-PTS-P1-11 | C2-PTS-P1-12 | C2-PTS-P1-13 | C2-PTS-P1-14 | C2-PTS-P1-15 | C2-PTS-P2-1 | C2-PTS-P2-2 | C2-PTS-P2-3 | C2-PTS-P2-4 | C2-PTS-P2-5 | C2-PTS-P2-6 | C2-PTS-P2-7 | C2-PTS-P2-8 | C2-PTS-P2-9 | C2-PTS-P2-10 | C2-PTS-P2-11 | C2-PTS-P2-12 | C2-PTS-P2-13 | C2-PTS-P2-14 | C2-PTS-P2-15 | C2-PTS-P2-16 |   |   |
| Dimethylmalonic acid, monochloride, isobutyl ester                                                               |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x |   |
| Diphenyl sulfide                                                                                                 | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Diphenyl sulfone                                                                                                 | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x | x |
| Dodecane, 1-chloro-                                                                                              | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Ethanone, 1,1'-(1,4-phenylene)bis-                                                                               | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x | x |
| Etymemazine                                                                                                      | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Furan, 2-(2-furanylmethyl)-5-methyl-                                                                             | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Heptanedioic acid, 4-methyl-, dimethyl ester                                                                     | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Hexadecanamide                                                                                                   |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x |   |
| Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester                                                                        | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Hexanedioic acid, dihexyl ester                                                                                  | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Hymeglusin                                                                                                       |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x |   |
| Isopropyl palmitate                                                                                              | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Lapachol                                                                                                         | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x |   |
| Methyl jasmonate                                                                                                 | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x |   |
| Naphthalene, 1,4,5,8-tetrahydro-                                                                                 | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Naphthalene, 2-phenyl-                                                                                           |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x            | x |   |
| Naphthalene, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, [1S-(1 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,8 $\alpha$ )]- | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| n-Dodecyl methacrylate                                                                                           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| n-Hexadecanoic acid                                                                                              | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x           | x            | x            | x            | x            | x            | x            |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |
| Nicotelline                                                                                                      | x           | x           | x           | x           |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |             |             |             |             |             |             |             |             |             |              |              |              |              |              |              |              |   |   |

[illegible]

## e) Análises quimiométricas

## Campanhas C1 e C2

## Modelo PCA



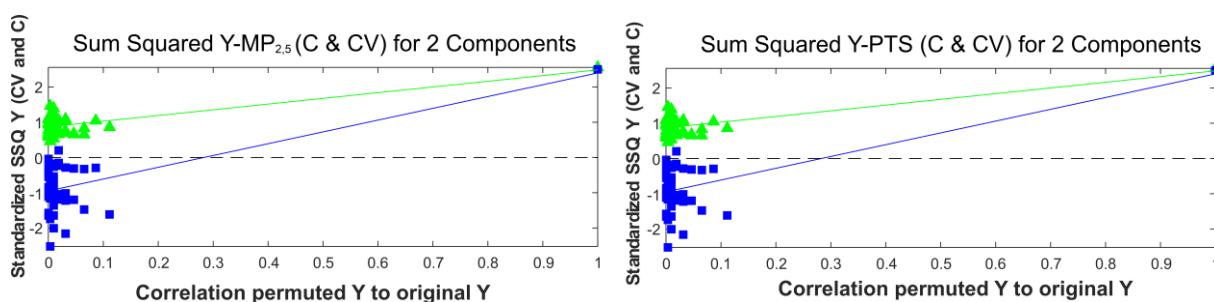
**Figura A12** - Modelo PCA construído com os dados do conjunto C1 + C2 centrados na média ( $n = 145$ ): a) autovalores em função do número de componentes principais, b) *scores* de PC 1  $\times$  PC 2 e c) *loadings* de PC 2.

## Campanha C1

### Teste de permutação

**Tabela A11** - Avaliação da significância do modelo com  $p$ -valores para diferentes testes estatísticos, considerando 50 permutações ( $n_{MP_{2,5}} = 40$ ,  $n_{PTS} = 40$ ). Valores de  $p$  menores do que 0,05 indicaram que o modelo é significativo, ou seja, que não houve sobreajuste.

|                                | Wilcoxon | Sign Test | Rand t-test |
|--------------------------------|----------|-----------|-------------|
| <b>Classe MP<sub>2,5</sub></b> |          |           |             |
| Autopredição                   | 0,000    | 0,000     | 0,005       |
| Validação cruzada              | 0,000    | 0,000     | 0,005       |
| <b>Classe PTS</b>              |          |           |             |
| Autopredição                   | 0,000    | 0,000     | 0,005       |
| Validação cruzada              | 0,000    | 0,000     | 0,005       |

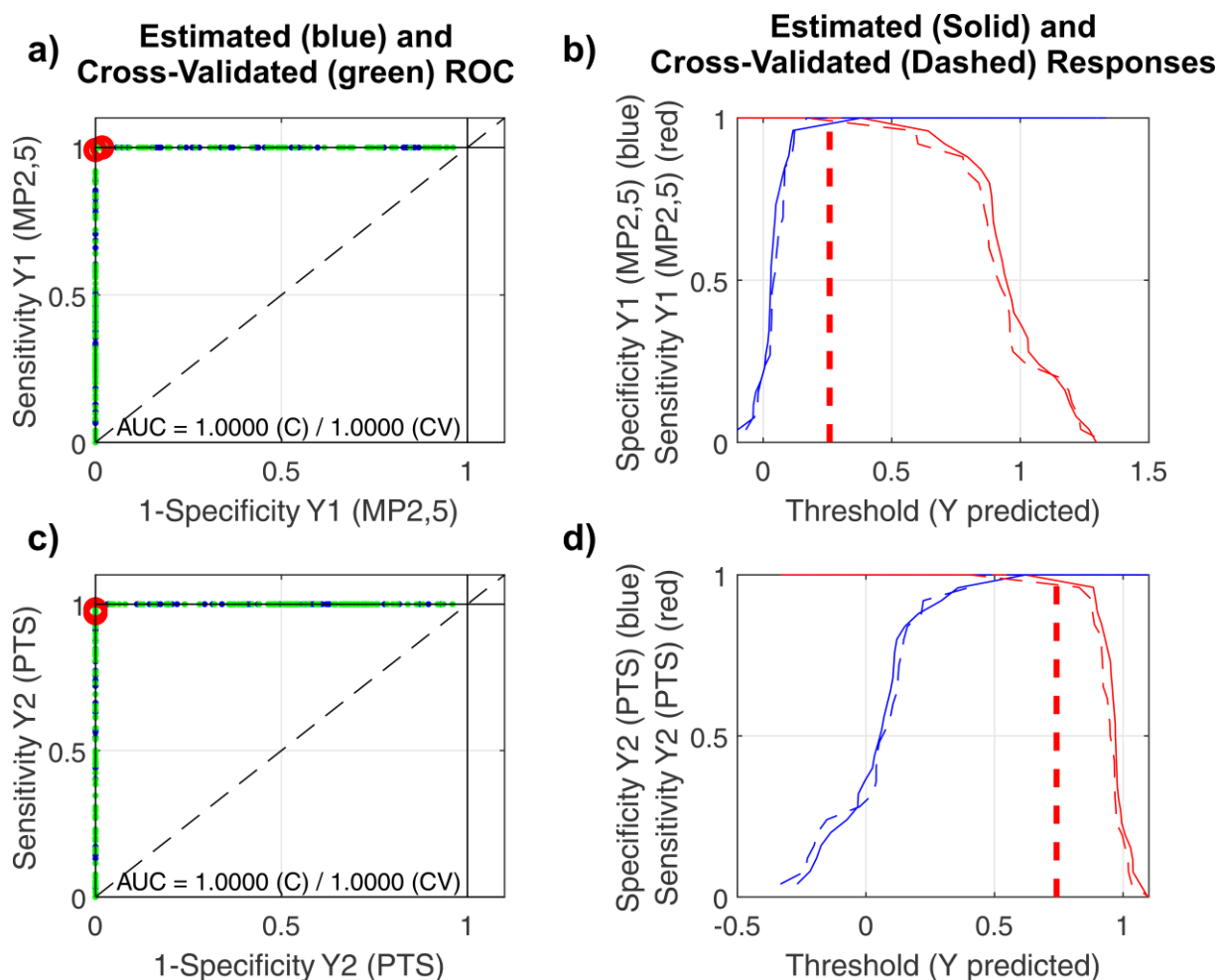


**Figura A13** - Resultado gráfico do teste de permutação ( $n = 50$  permutações) para amostras do conjunto C1.

C: calibração, CV: *cross validation*.



## Curvas ROC



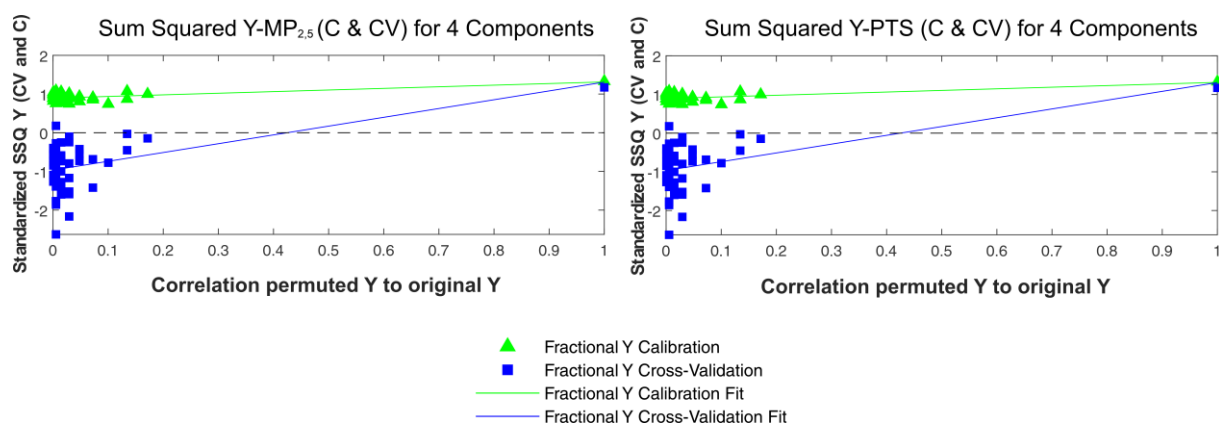
**Figura A14** - Avaliação do desempenho de classificação do modelo PLS-DA dos dados de C1 usando curvas ROC: a) curva ROC para a classe MP<sub>2,5</sub>; b) escolha do *threshold* bayesiano (limite de discriminação da classe) para a classe MP<sub>2,5</sub>, com base na maximização simultânea da sensibilidade e da especificidade; c) curva ROC para a classe PTS; d) escolha do *threshold* bayesiano para a classe PTS. C: calibração, CV: *cross validation* (validação cruzada).

## Campanha C2

**Tabela A12** - Valores de sensibilidade e especificidade para o conjunto de dados C2.

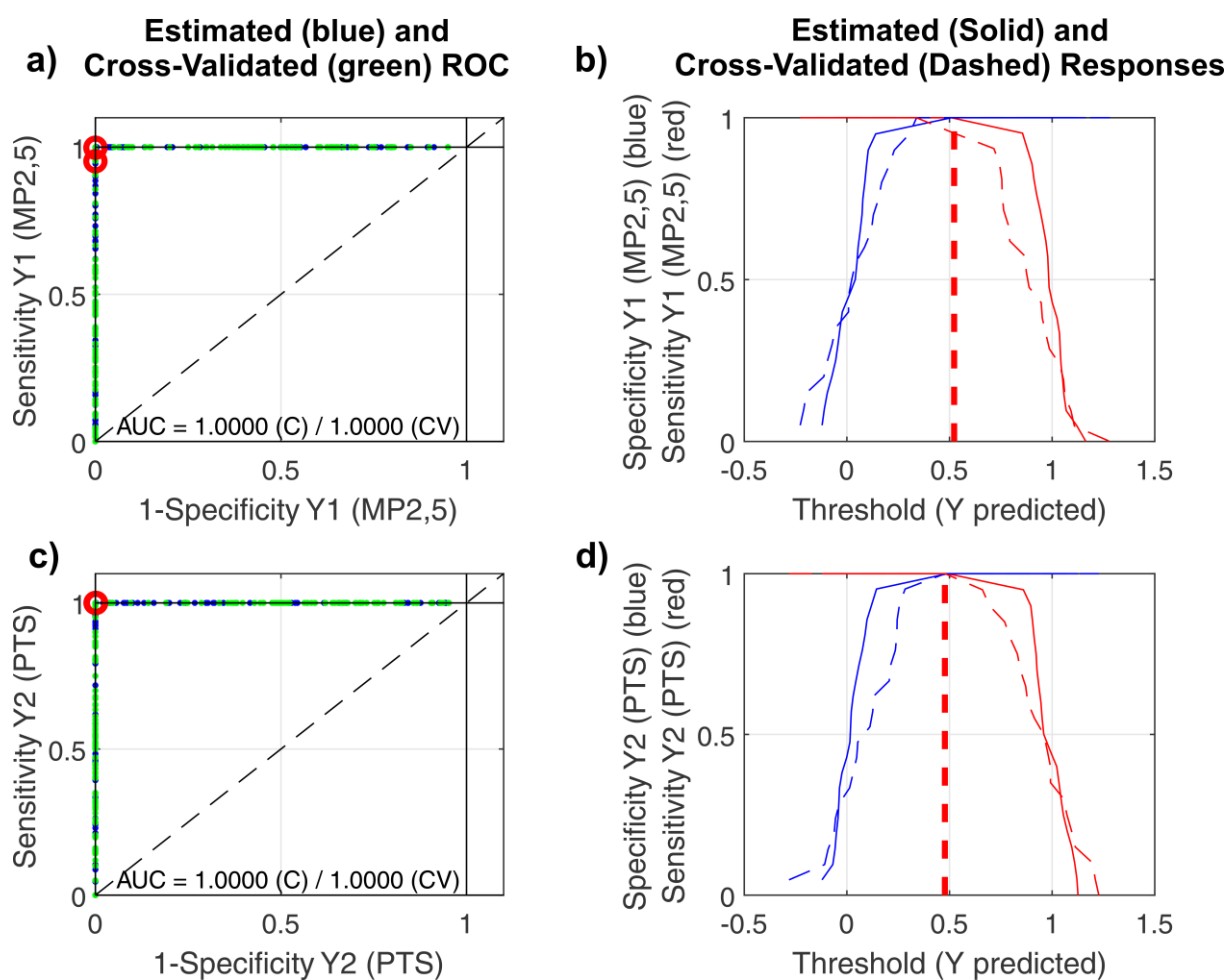
|                         | Conjunto de calibração<br>( $n = 43$ ) | Conjunto de validação<br>( $n = 22$ ) |
|-------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|
| <b>MP<sub>2,5</sub></b> |                                        |                                       |
| Sensibilidade           | 1,000                                  | 0,900                                 |
| Especificidade          | 1,000                                  | 1,000                                 |
| <b>PTS</b>              |                                        |                                       |
| Sensibilidade           | 1,000                                  | 1,000                                 |
| Especificidade          | 1,000                                  | 0,900                                 |

### Teste de permutação



**Figura A15** - Resultado gráfico do teste de permutação ( $n = 50$  permutações) para amostras do conjunto C2.

## Curvas ROC



**Figura A16** - Avaliação do desempenho de classificação do modelo PLS-DA dos dados de C2 usando curvas ROC: a) curva ROC para a classe  $MP_{2,5}$ ; b) escolha do *threshold* bayesiano para a classe  $MP_{2,5}$ ; c) curva ROC para a classe PTS; d) escolha do *threshold* bayesiano para a classe PTS. C: calibração, CV: *cross validation* (validação cruzada).

### APÊNDICE 3 – Análise de material particulado (MP<sub>2,5</sub>) em Belo Horizonte usando DI-SPME-GC×GC/Q-TOFMS

#### a) Compostos identificados nas amostras

**Tabela A13** - Identificação dos compostos encontrados em todas as amostras de MP<sub>2,5</sub>.

| Nº | Composto (nome em inglês)                            | Nº CAS      | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | <sup>1</sup> I <sub>calc</sub> | I <sub>lit</sub> |
|----|------------------------------------------------------|-------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------|
| 1  | 4-nitro-2H-benzotriazole                             | 6299-39-4   | 5.70                                 | 1.93                               | 920                            | -                |
| 2  | 3-Amino-7-nitro-1,2,4-benzotriazine<br>1-oxide       | -           | 5.70                                 | 4.87                               | 920                            | -                |
| 3  | Fumaronitrile                                        | 764-42-1    | 6.00                                 | 4.99                               | 980                            | 917              |
| 4  | (4-Hydroxyphenyl)phosphonic acid                     | 33795-18-5  | 6.60                                 | 1.89                               | 1100                           | -                |
| 5  | Pentadecafluorooctanoic acid, 2-<br>ethylhexyl ester | -           | 6.80                                 | 1.91                               | 1129                           | 1145             |
| 6  | 2-Bromo-4,6-difluoroaniline                          | 444-14-4    | 7.20                                 | 3.04                               | 1186                           | 1262             |
| 7  | Decanal                                              | 112-31-2    | 7.40                                 | 1.95                               | 1213                           | 1206             |
| 8  | 2,5-Furandione, 3-(1,1-<br>dimethylethyl)-           | 18261-07-9  | 7.50                                 | 1.93                               | 1225                           | 1282             |
| 9  | 2-(6-Methoxypyridin-3-<br>yl)ethanamine              | 579515-25-6 | 8.20                                 | 2.11                               | 1309                           | 1319             |
| 10 | Oxirane, decyl-                                      | 2855-19-8   | 8.30                                 | 2.03                               | 1318                           | 1307             |
| 11 | 10-Undecen-1-ol                                      | 112-43-6    | 8.40                                 | 1.93                               | 1327                           | 1347             |
| 12 | Benzene, 1-isocyanato-2-methoxy-                     | 700-87-8    | 8.50                                 | 2.09                               | 1336                           | -                |
| 13 | Benzaldehyde, 2-hydroxy-4-<br>methoxy-               | 673-22-3    | 8.60                                 | 2.94                               | 1345                           | 1348             |
| 14 | 4,6-Dimethylpyridine-3-carboxylic<br>acid            | 22047-86-5  | 8.90                                 | 1.83                               | 1373                           | 1370             |
| 15 | n-Decanoic acid                                      | 334-48-5    | 9.00                                 | 2.01                               | 1382                           | 1373             |
| 16 | 1-Tetradecene                                        | 1120-36-1   | 9.20                                 | 2.01                               | 1400                           | 1392             |
| 17 | Pyrrole, 2-methyl-5-phenyl-                          | 3042-21-5   | 9.30                                 | 5.37                               | 1408                           | 1462             |
| 18 | Dodecanal                                            | 112-54-9    | 9.40                                 | 2.11                               | 1417                           | 1409             |
| 19 | 1,9-Nonanediol                                       | 3937-56-2   | 9.40                                 | 2.01                               | 1417                           | 1416             |
| 20 | 1H-Indene-1-methanol, α-methyl-,<br>acetate          | 51926-98-8  | 9.50                                 | 2.35                               | 1425                           | 1491             |
| 21 | 1-Adamantyl methyl ketone                            | 1660-04-4   | 9.80                                 | 0.68                               | 1450                           | 1462             |
| 22 | Benzoic acid, 4-formyl-                              | 619-66-9    | 10.00                                | 2.51                               | 1467                           | 1452             |
| 23 | Undecanoic acid                                      | 112-37-8    | 10.10                                | 2.09                               | 1475                           | 1475             |
| 24 | Ethanone, 1-(2,3-dihydro-1H-inden-<br>5-yl)-         | 4228-10-8   | 10.30                                | 2.37                               | 1492                           | 1546             |
| 25 | 1-Pentadecene                                        | 13360-61-7  | 10.40                                | 2.07                               | 1500                           | 1492             |
| 26 | Methyl hydrogen phthalate                            | 4376-18-5   | 10.50                                | 2.58                               | 1506                           | 1530             |
| 27 | Undecanoic acid, ethyl ester                         | 627-90-7    | 10.50                                | 2.19                               | 1506                           | 1494             |
| 28 | 1,4-Benzenedicarboxaldehyde, 2,5-<br>dimethyl-       | 7044-92-0   | 10.50                                | 2.39                               | 1506                           | 1510             |
| 29 | 2,4-Dimethoxyamphetamine                             | 23690-13-3  | 10.60                                | 2.60                               | 1513                           | 1550             |
| 30 | 1-Pentadecyne                                        | 765-13-9    | 10.70                                | 2.13                               | 1519                           | 1518             |
| 31 | Dimethylsulfoxonium<br>formylmethylide               | -           | 10.80                                | 1.77                               | 1525                           | -                |
| 32 | Vanillin, acetate                                    | 881-68-5    | 10.80                                | 2.68                               | 1525                           | 1536             |
| 33 | Propiophenone, 2,2',4',6'-tetramethyl-               | 2040-22-4   | 11.30                                | 2.76                               | 1556                           | 1503             |
| 34 | 1H-Pyrazole, 3-methyl-5-phenyl-                      | 3347-62-4   | 11.50                                | 2.66                               | 1569                           | 1584             |

| Nº | Composto (nome em inglês)                                                               | Nº CAS        | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | <sup>1</sup> I <sub>calc</sub> | I <sub>lit</sub> |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------|---------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------|
| 35 | 2-Naphthalenamine, N-methyl-                                                            | 2216-67-3     | 11.60                                | 2.76                               | 1575                           | 1543             |
| 36 | 1,10-Dichlorodecane                                                                     | 2162-98-3     | 11.70                                | 2.23                               | 1581                           | 1536             |
| 37 | n-Tridecan-1-ol                                                                         | 26248-42-0    | 11.70                                | 2.19                               | 1581                           | 1577             |
| 38 | Cetene<br>1s,4R,7R,11R-1,3,4,7                                                          | 629-73-2<br>- | 12.00                                | 2.05                               | 1600                           | 1592             |
| 39 | Tetramethyltricyclo[5.3.1.0(4,11)]undec-2-en-8-one                                      | -             | 12.00                                | 2.29                               | 1600                           | 1587             |
| 40 | 2(3H)-Benzoxazolone, 3-(hydroxymethyl)-                                                 | -             | 12.10                                | 1.49                               | 1605                           | 1628             |
| 41 | 1-Propanamine, 3-dibenzo[b,e]thiepin-11(6H)-ylidene-N,N-dimethyl-, S-oxide              | 1447-71-8     | 12.20                                | 2.09                               | 1610                           | -                |
| 42 | Tetradecanal                                                                            | 124-25-4      | 12.30                                | 2.27                               | 1615                           | 1613             |
| 43 | Phenol, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                                                     | 1138-52-9     | 12.40                                | 2.41                               | 1620                           | 1555             |
| 44 | Phthalamic acid                                                                         | 88-97-1       | 12.60                                | 3.08                               | 1630                           | 1673             |
| 45 | S(-)-Methcathinone                                                                      | 112117-24-5   | 12.90                                | 1.81                               | 1645                           | 1632             |
| 46 | N-ethyl-2,3-methylenedioxyphenethylamine                                                | -             | 13.10                                | 2.76                               | 1655                           | 1634             |
| 47 | Tridecanoic acid                                                                        | 638-53-9      | 13.20                                | 2.35                               | 1660                           | 1666             |
| 48 | Tridecane, 1-bromo-                                                                     | 765-09-3      | 13.30                                | 2.39                               | 1665                           | 1651             |
| 49 | 3-Trifluoromethylbenzoic acid, 2-octyl ester                                            | -             | 13.60                                | 2.41                               | 1680                           | 1680             |
| 50 | 3-Trifluoromethylbenzoic acid, 2-octyl ester                                            | -             | 13.60                                | 3.88                               | 1680                           | 1639             |
| 51 | Aniline, N-methyl-N-(2,2,2-trichloroethoxycarbonyl)-                                    | 62-53-3       | 13.70                                | 1.79                               | 1685                           | 1696             |
| 52 | 1-Heptadecene                                                                           | 6765-39-5     | 13.90                                | 2.15                               | 1695                           | 1692             |
| 53 | 2,6-Difluoro-3-methylbenzoic acid, hexyl ester                                          | -             | 14.00                                | 3.80                               | 1700                           | 1698             |
| 54 | Propanoic acid, 2-methyl-, 2-ethyl-1-propyl-1,3-propanediyl ester                       | -             | 14.10                                | 2.37                               | 1704                           | 1690             |
| 55 | Pentadecanal                                                                            | 2765-11-9     | 14.30                                | 2.39                               | 1713                           | 1715             |
| 56 | Chloroacetic acid, 10-undecenyl ester                                                   | 79-11-8       | 14.70                                | 2.33                               | 1730                           | 1696             |
| 57 | 1-Phenyl-2-(2-pyridyl)ethanedione                                                       | 13474-48-1    | 15.00                                | 3.34                               | 1743                           | 1832             |
| 58 | Succinic acid, 2,3-dichlorophenyl 2,2,3,3,3-pentafluoropropyl ester                     | -             | 15.00                                | 2.43                               | 1743                           | 1780             |
| 59 | Benzophenone dimethyl ketal                                                             | 2235-01-0     | 15.10                                | 3.44                               | 1748                           | 1733             |
| 60 | Diethylene glycol adipate                                                               | 58984-19-3    | 15.10                                | 3.54                               | 1748                           | 1858             |
| 61 | 1,3-Dioxolane-2,2-dipropanoic acid, diethyl ester                                       | 19719-88-1    | 15.20                                | 3.64                               | 1752                           | 1842             |
| 62 | 2-Trifluoromethylbenzoic acid, 2-methyl ester                                           | 433-97-6      | 15.20                                | 6.02                               | 1752                           | 1767             |
| 63 | Sulfurous acid, nonyl 2-propyl ester                                                    | -             | 15.30                                | 2.25                               | 1757                           | 1773             |
| 64 | Isocitronellol                                                                          | 18479-52-2    | 15.40                                | 2.94                               | 1761                           | 1854             |
| 65 | Hexanoic acid, 3,5,5-trimethyl-, octyl ester                                            | -             | 15.40                                | 2.39                               | 1761                           | 1737             |
| 66 | 4-Pentadecyne, 15-chloro-                                                               | 56554-70-2    | 15.80                                | 2.45                               | 1778                           | 1755             |
| 67 | Carbonic acid, dodecyl ethyl                                                            | 35108-03-3    | 15.80                                | 2.35                               | 1778                           | 1755             |
| 68 | 4,6,6-Trimethyl-7-morpholino-1,4-oxazepane                                              | 76503-76-9    | 15.80                                | 2.47                               | 1778                           | 1739             |
| 69 | Cyclopentanecarboxylic acid, 3-methylene-, 1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester | -             | 15.90                                | 2.74                               | 1783                           | 1785             |
| 70 | 3-Octadecene, (E)-                                                                      | -             | 16.10                                | 2.23                               | 1791                           | 1785             |

| Nº  | Composto (nome em inglês)                                             | Nº CAS      | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | <sup>1</sup> I <sub>calc</sub> | I <sub>lit</sub> |
|-----|-----------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------|
| 71  | 1,4-Benzenediol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-                          | -           | 16.20                                | 2.49                               | 1796                           | 1823             |
| 72  | Tetradecane, 1-iodo-                                                  | 19218-94-1  | 16.30                                | 2.19                               | 1800                           | 1827             |
| 73  | Heptadecane, 2,6-dimethyl-                                            | 54105-67-8  | 16.50                                | 2.23                               | 1808                           | 1782             |
| 74  | E-11(13-Methyl)tetradecen-1-ol acetate                                | -           | 16.70                                | 2.58                               | 1815                           | 1822             |
| 75  | Heptadecanal                                                          | 629-90-3    | 16.70                                | 2.47                               | 1815                           | 1899             |
| 76  | Benzoic acid, octyl ester                                             | 94-50-8     | 16.80                                | 2.82                               | 1819                           | 1792             |
| 77  | Disulfide, bis(1,1,3,3-tetramethylbutyl)                              | -           | 16.90                                | 2.37                               | 1823                           | 1775             |
| 78  | 1-(7-Methyl-4,8-diphenyl-pyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazin-3-yl)-ethanone | -           | 17.10                                | 3.04                               | 1831                           | -                |
| 79  | Naphthalene, 2,7-bis(1,1-dimethylethyl)-1,2,3,4-tetrahydro-           | -           | 17.30                                | 2.70                               | 1838                           | 1768             |
| 80  | Oxalic acid, isobutyl nonyl ester                                     | 959275-48-0 | 17.40                                | 2.31                               | 1842                           | 1783             |
| 81  | 2-Methoxy-2'-methyl-stilbene                                          | -           | 17.60                                | 3.28                               | 1850                           | 1876             |
| 82  | Pentadecanoic acid                                                    | 1002-84-2   | 17.80                                | 2.64                               | 1858                           | 1867             |
| 83  | 1,2,4-Benzenetricarboxylic acid, 1,2-dimethyl ester                   | 54699-35-3  | 17.90                                | 2.52                               | 1862                           | 1910             |
| 84  | Methyl 4-bromo-5-phenylisoxazole-3-carboxylate                        | -           | 18.10                                | 1.79                               | 1869                           | 1896             |
| 85  | Hexadecanal, 2-methyl-                                                | 55019-46-0  | 18.10                                | 2.39                               | 1869                           | 1835             |
| 86  | 4-tert-Butyl-2,6-diisopropylphenyl acetate                            | -           | 18.20                                | 3.16                               | 1873                           | 1883             |
| 87  | 1-Naphthol, 1,2,3,4-tetrahydro-2-(methylsulfonyl)-                    | -           | 18.80                                | 3.56                               | 1896                           | 1922             |
| 88  | 5-Octadecene, (E)-                                                    | 18899-24-6  | 18.80                                | 2.39                               | 1896                           | 1818             |
| 89  | 5-(Phenylsulphonyl)dihydro-1,3,5-dioxazine                            | -           | 18.80                                | 3.84                               | 1896                           | 1891             |
| 90  | Nonadecane                                                            | 629-92-5    | 18.90                                | 2.23                               | 1900                           | 1900             |
| 91  | 2-Heptadecanone                                                       | 2922-51-2   | 19.00                                | 2.60                               | 1904                           | 1904             |
| 92  | 2-Pentyl methylphosphonofluoridate                                    | -           | 19.10                                | 3.24                               | 1909                           | -                |
| 93  | 5-(2,4-Dimethyl-phenyl)-2H-pyrazol-3-ol                               | -           | 19.10                                | 3.80                               | 1909                           | 1850             |
| 94  | Sulfurous acid, 2-ethylhexyl isohexyl ester                           | -           | 19.20                                | 2.29                               | 1913                           | 1908             |
| 95  | Salicylic acid, 2-methylbutyl ether, 2-methylbutyl ester              | -           | 19.20                                | 2.70                               | 1913                           | 1929             |
| 96  | 1,14-Tetradecanediol                                                  | 19812-64-7  | 19.40                                | 2.58                               | 1922                           | 1924             |
| 97  | Benzoic acid, 2-phenoxy-                                              | 2243-42-7   | 19.40                                | 3.50                               | 1922                           | 1913             |
| 98  | 3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxyacetophenone                               | 14035-33-7  | 19.60                                | 3.04                               | 1930                           | 1903             |
| 99  | 1,2-Naphthalenedione, 3,8-dimethyl-5-(1-methylethyl)-                 | 5574-34-5   | 19.90                                | 2.66                               | 1943                           | 1942             |
| 100 | Anthracene, 9-ethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-                        | -           | 19.90                                | 2.56                               | 1943                           | 1865             |
| 101 | 2,15-Hexadecanedione                                                  | 18650-13-0  | 20.10                                | 2.49                               | 1952                           | 1884             |
| 102 | Bis[(2-chlorocyclopentyl)methoxy]methane                              | -           | 20.30                                | 2.13                               | 1961                           | 2007             |
| 103 | Palmitic acid                                                         | 57-10-3     | 20.40                                | 2.47                               | 1965                           | 1968             |
| 104 | 1,9-Bis(formamido)nonane                                              | -           | 20.40                                | 2.82                               | 1965                           | 1888             |
| 105 | Caffeine                                                              | 58-08-2     | 20.40                                | 4.08                               | 1965                           | 1835             |
| 106 | Phthalic acid, isobutyl 2-pentyl ester                                | -           | 20.70                                | 3.40                               | 1978                           | 2008             |

| Nº  | Composto (nome em inglês)                               | Nº CAS     | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | <sup>1</sup> I <sub>calc</sub> | I <sub>lit</sub> |
|-----|---------------------------------------------------------|------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------|
| 107 | Dibutyl phthalate                                       | 84-74-2    | 20.70                                | 3.02                               | 1978                           | 1965             |
| 108 | N-[[2-Morpholino]ethyl]succinamic acid                  | -          | 20.90                                | 4.16                               | 1987                           | 2075             |
| 109 | Acetamide, N-(5-methylisoxazol-3-yl)-2-morpholin-4-yl-  | -          | 20.90                                | 2.43                               | 1987                           | 1970             |
| 110 | Propan-1-ol, 1-ethyl-1-phenyl-3-(1-piperidyl)-          | 6853-22-1  | 21.00                                | 4.79                               | 1991                           | 1995             |
| 111 | Oxamide, N-(2-morpholinoethyl)-                         | -          | 21.00                                | 2.52                               | 1991                           | 1929             |
| 112 | 9-Phenanthrenecarbonitrile, 9,10-dihydro-               | 56666-55-8 | 21.00                                | 3.62                               | 1991                           | 1920             |
| 113 | Eicosane                                                | 112-95-8   | 21.10                                | 2.23                               | 1996                           | 2000             |
| 114 | 3,3,5-Trimethylcyclohexyl 2-acetoxybenzoate             | -          | 21.10                                | 2.66                               | 1996                           | 2047             |
| 115 | Heptadecanenitrile                                      | 5399-02-0  | 21.30                                | 2.49                               | 2005                           | 1956             |
| 116 | 4,5-Dimethyl-4-nitro-2-phenyl-2,4-dihydro-pyrazol-3-one | -          | 21.40                                | 2.74                               | 2010                           | 2020             |
| 117 | Acetohydrazide, 2-hydroxy-2-phenyl-N2-but-2-enylideno-  | -          | 21.50                                | 1.01                               | 2015                           | 2077             |
| 118 | 9-Eicosyne                                              | 71899-38-2 | 21.70                                | 2.35                               | 2025                           | 2027             |
| 119 | Hexadecane, 1-iodo-                                     | 544-77-4   | 21.80                                | 2.17                               | 2030                           | 2038             |
| 120 | Coumarin-6-ol, 3,4-dihydro-4,4,5,7-tetramethyl-         | -          | 21.80                                | 2.78                               | 2030                           | 1974             |
| 121 | Heptadecanoic acid, methyl ester                        | 1731-92-6  | 21.90                                | 2.43                               | 2035                           | 2028             |
| 122 | Palmitoleic Acid                                        | 373-49-9   | 22.10                                | 2.43                               | 2045                           | 1951             |
| 123 | Pyracarbolid                                            | 24691-76-7 | 22.10                                | 3.72                               | 2045                           | 1943             |
| 124 | 2,4'-Dichloro-4-methoxydiphenyl ether                   | -          | 22.20                                | 2.27                               | 2050                           | 1992             |
| 125 | Benzamide, N-(tetrahydro-4-oxo-3-thienyl)-              | 62578-77-2 | 22.50                                | 1.87                               | 2065                           | 2046             |
| 126 | Propanedinitrile, cyclohexyl(2-methylcyclohexyl)-       | 74764-55-9 | 22.50                                | 5.59                               | 2065                           | 2106             |
| 127 | Heptadecanoic acid                                      | 506-12-7   | 22.50                                | 2.45                               | 2065                           | 2071             |
| 128 | Heneicosane                                             | 629-94-7   | 23.30                                | 2.19                               | 2106                           | 2100             |
| 129 | Stearic Acid                                            | 57-11-4    | 23.60                                | 2.29                               | 2124                           | 2153             |
| 130 | 2,3,3',4-Tetrachloro-1,1'-biphenyl                      | 41464-43-1 | 23.60                                | 2.82                               | 2124                           | 2109             |
| 131 | Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester                 | 110-34-9   | 23.70                                | 2.33                               | 2129                           | 2135             |
| 132 | 1,16-Hexadecanediol                                     | 7735-42-4  | 23.70                                | 2.39                               | 2129                           | 2130             |
| 133 | 9,10-Dimethylanthracene                                 | 781-43-1   | 23.80                                | 3.20                               | 2135                           | 2136             |
| 134 | Oleic Acid                                              | 112-80-1   | 24.00                                | 4.81                               | 2147                           | 2141             |
| 135 | 2-(5-Chloro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)benzoic acid          | -          | 24.20                                | 3.50                               | 2159                           | 2144             |
| 136 | Phthalic acid, 2-methylbutyl pentyl ester               | -          | 24.50                                | 2.64                               | 2176                           | 2171             |
| 137 | Benzene, 1,1'-(1,3-butadiyne-1,4-diyl)bis-              | 886-66-8   | 24.60                                | 3.38                               | 2182                           | 2142             |
| 138 | Acridin-9-amine, 1,2,3,4-tetrahydro-5,8-dimethyl-       | -          | 24.70                                | 3.06                               | 2188                           | 2249             |
| 139 | 1-Docosene                                              | 1599-67-3  | 24.70                                | 2.39                               | 2188                           | 2193             |
| 140 | cis-13-Octadecenoic acid                                | 13126-39-1 | 24.70                                | 2.90                               | 2188                           | 2179             |
| 141 | 1-Morpolino-2,3-butadiene                               | -          | 24.80                                | 2.31                               | 2194                           | -                |
| 142 | Sulfurous acid, butyl undecyl ester                     | -          | 25.00                                | 2.19                               | 2207                           | 2235             |
| 143 | Oxalic acid, dodecyl isohexyl ester                     | -          | 25.10                                | 2.66                               | 2213                           | 2280             |
| 144 | Nonadecanoic acid, methyl ester                         | 1731-94-8  | 25.40                                | 2.35                               | 2233                           | 2228             |
| 145 | 1H-Phenanthro[9,10-c]pyrazole                           | -          | 25.60                                | 3.24                               | 2247                           | 2275             |

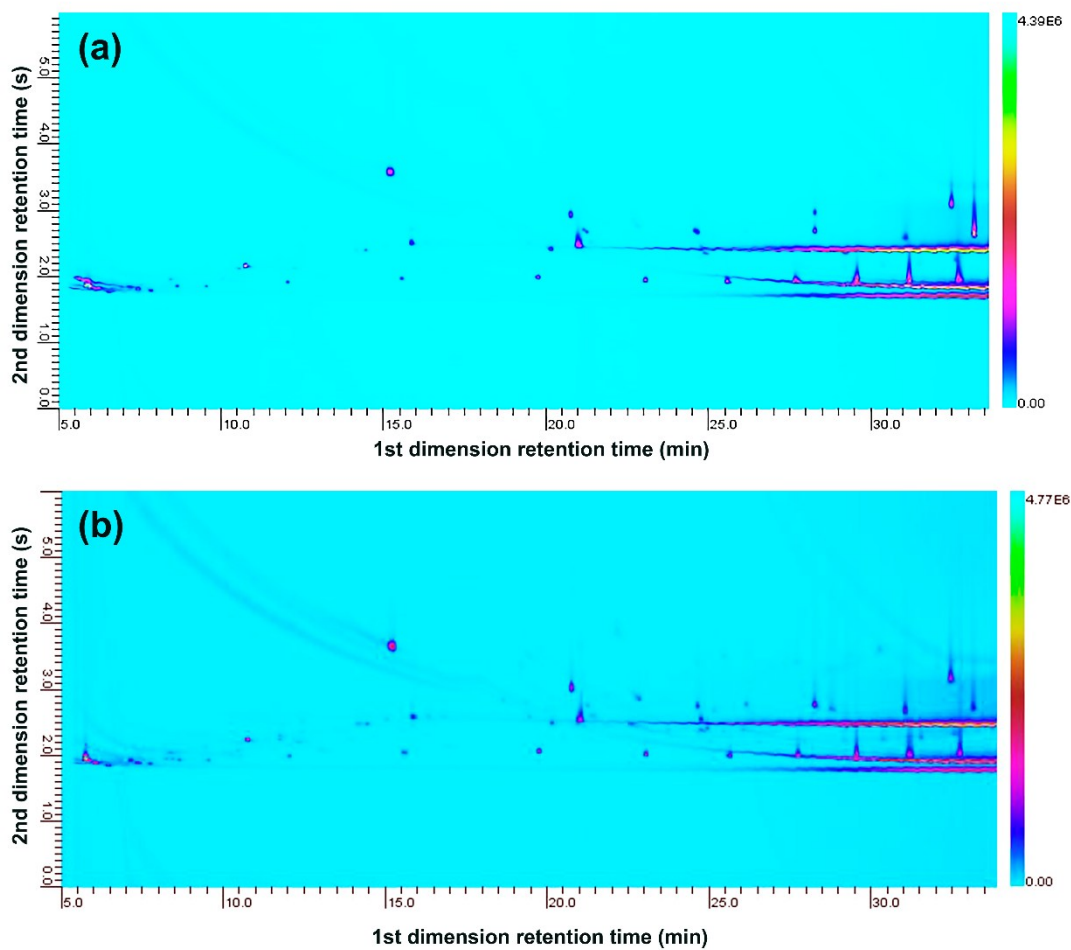
| Nº  | Composto (nome em inglês)                                                                        | Nº CAS      | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | <sup>1</sup> I <sub>calc</sub> | I <sub>lit</sub> |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------|
| 146 | cis-10-Nonadecenoic acid                                                                         | 73033-09-7  | 25.60                                | 2.35                               | 2247                           | 2256             |
| 147 | 2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6-tridecyl-                                                           | 1227-51-6   | 25.60                                | 2.62                               | 2247                           | 2199             |
| 148 | 5-Methyl-Z-5-docosene                                                                            | -           | 25.70                                | 2.70                               | 2253                           | 2292             |
| 149 | Pentadecanamide, 15-bromo-                                                                       | -           | 26.20                                | 2.54                               | 2287                           | 2218             |
| 150 | Sulfurous acid, butyl tridecyl ester                                                             | 959067-51-7 | 26.50                                | 2.19                               | 2307                           | 2334             |
| 151 | Pyrene, 2-methyl-                                                                                | 3442-78-2   | 26.50                                | 3.26                               | 2307                           | 2254             |
| 152 | Benzamide, 4-ethyl-N-(2-ethylphenyl)-                                                            | -           | 26.80                                | 1.91                               | 2329                           | 2292             |
| 153 | 2-Anilino-4,6-di-tert-butylphenol                                                                | -           | 26.90                                | 3.68                               | 2336                           | 2440             |
| 154 | Cyclohexane, (1-octylonyl)-                                                                      | 55124-77-1  | 26.90                                | 2.35                               | 2336                           | 2307             |
| 155 | Fumaric acid, 2-ethylhexyl octyl ester                                                           | -           | 26.90                                | 2.25                               | 2336                           | 2288             |
| 156 | Phenanthrene, 2,4,5,7-tetramethyl-                                                               | 7396-38-5   | 27.00                                | 3.00                               | 2343                           | 2235             |
| 157 | 1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine, N-(4-methylphenyl)-                                               | -           | 27.30                                | 3.36                               | 2364                           | 2284             |
| 158 | D-Mannopentadecane-1,2,3,4,5-pentaol                                                             | -           | 27.70                                | 0.26                               | 2393                           | 2404             |
| 159 | Tetracosane                                                                                      | 646-31-1    | 27.80                                | 2.11                               | 2400                           | 2400             |
| 160 | Kaur-16-en-18-ol, (4α)-                                                                          | -           | 27.90                                | 2.90                               | 2408                           | 2400             |
| 161 | 5-Methoxy-[1,2,3]oxadiazole                                                                      | -           | 27.90                                | 2.29                               | 2408                           | -                |
| 162 | Benzoic acid, 2,4-dichloro-, 4-acetylphenyl ester                                                | -           | 28.20                                | 3.76                               | 2431                           | 2342             |
| 163 | Benzoic acid, 2,6-dichloro-, 2-acetylphenyl ester                                                | -           | 28.20                                | 2.90                               | 2431                           | 2342             |
| 163 | Heneicosanoic acid, methyl ester                                                                 | 6064-90-0   | 28.30                                | 2.33                               | 2438                           | 2429             |
| 165 | Sulfurous acid, pentadecyl 2-propyl ester                                                        | -           | 28.40                                | 2.19                               | 2446                           | 2370             |
| 166 | Arachidic Acid                                                                                   | 506-30-9    | 28.40                                | 2.07                               | 2446                           | 2564             |
| 167 | Heneicosanoic acid                                                                               | 2363-71-5   | 28.60                                | 2.07                               | 2462                           | 2463             |
| 168 | trans-8,9-Dihydro-11-methylbenz(a)anthracene-8,9-diol                                            | 83462-60-6  | 28.70                                | 3.28                               | 2469                           | 2593             |
| 169 | Dodecanoylhydrazide, N2-(1-methylpentylideno)-                                                   | -           | 28.70                                | 2.84                               | 2469                           | 2403             |
| 170 | Oleamide                                                                                         | 301-02-0    | 28.70                                | 2.58                               | 2469                           | 2397             |
| 171 | Sulfurous acid, butyl tetradecyl ester                                                           | -           | 29.10                                | 2.11                               | 2500                           | 2434             |
| 172 | 2,2'-Bibenzimidazole                                                                             | 14468-52-1  | 29.20                                | 3.50                               | 2508                           | 2502             |
| 173 | 2H-1-Benzopyran, 2,2-diphenyl-                                                                   | 4222-08-6   | 29.20                                | 3.10                               | 2508                           | 2419             |
| 173 | p-Cyanophenyl p-(2-propoxyethoxy)benzoate                                                        | -           | 30.00                                | 0.76                               | 2575                           | 2574             |
| 175 | Di-n-decylsulfone                                                                                | 500026-38-0 | 30.0                                 | 2.23                               | 2575                           | 2516             |
| 176 | Sulfurous acid, octadecyl 2-propyl ester                                                         | -           | 30.70                                | 2.13                               | 2636                           | 2668             |
| 177 | 4-Trifluoromethylbenzoic acid. heptadecyl ester                                                  | -           | 30.70                                | 2.51                               | 2636                           | 2598             |
| 178 | Heptacosane                                                                                      | 593-49-7    | 31.40                                | 2.17                               | 2700                           | 2700             |
| 179 | Succinic acid, 4-chloro-3-methylphenyl 2-methoxyphenyl ester                                     | -           | 31.80                                | 5.59                               | 2736                           | 2745             |
| 180 | Cyclodocosane, ethyl-                                                                            | 296-86-6    | 31.90                                | 2.31                               | 2745                           | 2798             |
| 181 | 4,4'-bi-4H-pyran, 2,2',6,6'-tetrakis(1,1-dimethylethyl)-4,4'-dimethyl-                           | -           | 32.00                                | 5.49                               | 2755                           | 2608             |
| 182 | Sulfurous acid, butyl heptadecyl ester                                                           | -           | 32.10                                | 2.15                               | 2764                           | 2732             |
| 183 | 7-Hydroxybenzo[b]thiophene-3-carboxylic acid, 2-acetyl-amino-6-dimethylaminomethyl-, ethyl ester | -           | 32.40                                | 3.84                               | 2791                           | 2796             |



| Nº  | Composto (nome em inglês)                                  | Nº CAS    | <sup>1</sup> t <sub>R</sub><br>(min) | <sup>2</sup> t <sub>R</sub><br>(s) | <sup>1</sup> I <sub>calc</sub> | I <sub>lit</sub> |
|-----|------------------------------------------------------------|-----------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------|
| 184 | Quinoline, 4-(2-hydroxy-2-methoxy-1-thioxyethyl)-2-phenyl- | -         | 32.4                                 | 3.02                               | 2791                           | 2848             |
| 185 | Octacosane                                                 | 630-02-4  | 32.0                                 | 2.21                               | 2800                           | 2800             |
| 186 | Terephthalic acid, 2-ethylhexyl octyl ester                | -         | 33.10                                | 3.04                               | 2855                           | 2768             |
| 187 | Terephthalic acid, 6-methylhept-2-yl octyl ester           | -         | 33.10                                | 2.60                               | 2855                           | 2860             |
| 188 | Octacosane, 2-methyl                                       | 1560-98-1 | 33.20                                | 2.25                               | 2864                           | 2859             |
| 189 | Sulfurous acid, butyl octadecyl ester                      | -         | 33.30                                | 2.37                               | 2873                           | 2831             |

<sup>1</sup>t<sub>R</sub> é o tempo de retenção de um pico na primeira dimensão de um sistema bidimensional abrangente; <sup>2</sup>t<sub>R</sub> é o tempo de retenção de um pico na segunda dimensão e <sup>1</sup>I é o índice de retenção de um pico eluído da coluna da primeira dimensão. Nomenclatura de acordo com Wu et al. (2012). I<sub>lit</sub> e número CAS: os valores foram obtidos a partir das bases de dados PubChem e NIST 2017. A identificação dos espectros de massas foi feita com base na biblioteca NIST 2017.

**b) Cromatogramas bidimensionais de SVOCs/VOCs identificados em amostras dos dois pontos de coleta**



**Figura A17** - Diagramas de cores de duas amostras de MP<sub>2,5</sub> representativas dos pontos de coleta ECO (a) e PAC (b).

## APÊNDICE 4 – Artigos publicados

Environmental Science and Pollution Research  
<https://doi.org/10.1007/s11356-024-35647-y>

## RESEARCH ARTICLE



## An exploratory study of volatile and semi-volatile organic compounds in PM<sub>2.5</sub> atmospheric particles from an outdoor environment in Brazil

Josimar M. Batista<sup>1</sup> · Eduard F. Valenzuela<sup>1</sup> · Helvécio C. Menezes<sup>1</sup> · Zenilda L. Cardeal<sup>1</sup>

Received: 9 July 2024 / Accepted: 21 November 2024

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2024

Link: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-024-35647-y>

Chemosphere 370 (2025) 143998



Contents lists available at ScienceDirect

Chemosphere

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/chemosphere](http://www.elsevier.com/locate/chemosphere)



## A biomarkers study of human skin fibroblasts exposition to glyphosate-based herbicide using an untargeted and targeted metabolomics approach



Josimar M. Batista<sup>a</sup> , Dawidson A. Gomes<sup>b</sup>, María J.G. Armijos<sup>b</sup> , Michele A. Rodrigues<sup>b</sup>,  
Helvécio C. Menezes<sup>a</sup> , Zenilda L. Cardeal<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

<sup>b</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Bioquímica e Imunologia, Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

Link: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653524029060?via%3Dihub>