

1 OBJETIVO

Descrever o procedimento para determinação de diversos fenóis por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC/MS).

2 CAMPO DE APLICAÇÃO E VIGÊNCIA

Este método é aplicável na determinação das concentrações de diversos fenóis e herbicidas fenoxiácidos através de extração e posterior derivatização dos compostos listados na tabela 1 e passa a vigorar a partir da data de aprovação.

3 TERMOS E DEFINIÇÕES

TERMO / SIGLA	OBJETO
AX	Auxiliar de Laboratório
“Clean-up”	Processo de purificação de amostras através de cromatografia em coluna aberta
EPI	Equipamento de proteção individual
GERLAB	Gerência de Análises Laboratoriais
GC/MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
INEA	Instituto Estadual do Ambiente
LD	Limite de detecção
RBC	Rede brasileira de calibração
SERVAQ	Serviços de análises químicas
“Spike”	Padrões de analitos presentes nas amostras adicionados às mesmas
“Surrogate”	Padrão de controle, adicionado a todas as amostras (“spiked”, CQ e brancos) no início do processo, para avaliação da recuperação e controle de perdas na extração

4 REFERÊNCIAS

U.S. EPA. 2007. “Method 8041A (SW-846): Phenols by Gas Chromatography;

U.S. EPA. 1996. “Method 8151A (SW-846): Chlorinated herbicides by gc using methylation or pentafluorobenzoylation derivatization;

U.S. EPA. 2014. “Method 8270D (SW-846): Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry;

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 24^a ed., EUA. 2022;

INMETRO – Avaliação de Dados da Medição: Guia para Expressão da Incerteza de Medição – GUM 2008. 1^a ed., Rio de Janeiro, 2012;

ABNT NBR 5891: Regras de arredondamento na numeração decimal. Rio de Janeiro, 2014;

NBR 9898 – Preservação e Técnicas de Amostragem de Efluentes Líquidos e Corpos Receptores. Rio de Janeiro: ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas), 1987;

DOQ-CGCRE-022, Orientações para aplicação dos requisitos técnicos da ABNT NBR ISO/IEC 17025 na acreditação de laboratórios de calibração para o grupo de serviço de físico-química. Rev. 03 – JUL / 2019;

DOQ-CGCRE-08 - Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rev. 09 – JUN / 2020;

POP-INEA-GERLAB-204 – Garantia da Qualidade dos Resultados;

POP-INEA-GERLAB-205 – Validação de Métodos de Ensaio;

POP-INEA-GERLAB-209 – Estimativa da Incerteza da Medição;

POP-INEA-GERLAB-601 – Medidas Gerais de Segurança e Prevenção de Acidentes;

POP-INEA-GERLAB-602 – Preparo, Identificação e Controle de Soluções e Reagentes;

POP-INEA-GERLAB-604 – Limpeza e Descontaminação de Vidraria e Materiais Diversos de Laboratórios;

POP-INEA-GERLAB-635 – Incerteza de Medição Labwin UNC;

POP-INEA-GERLAB-218 Controle de Qualidade das Frascarias.

POP-INEA-GERLAB-800 – Água reagente;

POP-INEA-GERLAB-811 – Lavagem de material usado em análises orgânicas;

POP-INEA-GERLAB-814 – Operação do evaporador centrífugo Genevac Rocket®;

POP-INEA-GERLAB-815 – Operação do GC-MS Agilent 7980A.

5 RESPONSABILIDADES GERAIS

FUNÇÃO	RESPONSABILIDADE
SERVAQ	A análise crítica deste documento é de responsabilidade do SERVAQ. A execução dos procedimentos descritos é de responsabilidade dos técnicos e analistas do SERVAQ.

6 PROCEDIMENTOS

6.1 Equipamentos e vidrarias

Cromatógrafo a gás com espectrômetro de massas conectados a cilindro de hélio (He) com reguladores de pressão;

Colunas capilares com 30 m de comprimento x 2 mm de diâmetro e 0,25 µm, de espessura de filme com as seguintes composições:

Não polar: 100% dimetil polisiloxane (HP-1, DB-1, SPB-1, SE-30 etc.) ou 5% difenil-95% dimetil polisiloxane (HP-5 ou Ultra- 2, DB-5, SE-52, SE-54 etc);

Evaporador concentrador a vácuo ou similar;

Mufla com termostato regulável até 1000 °C;

Ultrassom e/ou agitador mecânico;

Estufa a 105 °C;

Balança com sensibilidade de 0,001g, calibrada RBC;

pHmetro, calibrado RBC;

Termômetro, calibrado RBC;

Lã de vidro previamente descontaminada: aquecer a 300 °C por 4 horas e armazenar em frasco de vidro de boca larga com tampa;

Vial de 2 mL, em vidro boro silicato e septo de teflon com tampa rosqueável com furo;

Funil de separação de 1 ou 2 L;

Funil analítico de 10 cm de diâmetro;

Proveta de 1 L;

Microseringa de 10, 25, 50, 100, 500 e 1000µL;

Erlenmeyer de 250 mL com tampa;

6.2 Reagentes e soluções

- Água tipo I;
- Metanol (CH₃OH) grau resíduo de pesticida;
- Diclorometano (CH₂Cl₂), grau resíduo de pesticida;
- Sulfato de sódio (Na₂SO₄) anidro P.A.: levar à mufla a 450 °C por 12 horas, esfriar no dessecador e armazenar em frasco de vidro fechado, no dessecador;
- “Surrogates”: Naftaleno-d₅ (PI1); Acenafteno-d₁₀ (PI2); Fenantreno-d₁₀ (PI3); Criseno-d₁₂ (PI4); Perileno-d₁₂ (PI5);
- Padrão Interno: 2,5-Dibromotolueno;
- Padrões: Fenol; 2-Clorofenol; 2-metilfenol (2-cresol); 3-metilfenol (3-cresol); 4-metilfenol (4-cresol); 2,4-dimetilfenol; 4-cloro-3-metilfenol; 2,6-diclorofenol; 2,4-diclorofenol; 3,4-diclorofenol; 2,4,5-triclorofenol; 2,4,6-triclorofenol; 2,3,4,5-tetraclorofenol; 2,3,4,6-tetraclorofenol; 2,3,5,6-tetraclorofenol; Pentaclorofenol; 2,4-D; 2,4,5-T; 2,4,5-TP (Silvex);
- Solução-padrão estoque: Preparar padrões em metanol em concentrações de 2,0 mg/L, armazenar a (4 ± 2)°C sob proteção da luz.

MÉTODO DE ENSAIO
DETERMINAÇÃO DE FENÓIS E HERBICIDAS POR
CROMATOGRAFIA GASOSA/
ESPECTROMETRIA DE MASSAS - GC/MS

a) Solução de trabalho: transferir as alíquotas abaixo para “vial” de 2 mL. O volume final será de 1000 µL em metanol grau pesticida;

Soluções	Concentração (mg/L)	Alíquota (µL)
Mix dos fenóis	50	40
2,4-D	100	20
2,4,5-T	100	20
2,4,5-TP	100	20

b) Soluções da curva de calibração: transferir para “vial” de 2 mL as seguintes alíquotas da solução estoque e completar o volume a 1000 µL com metanol grau pesticidas.

Identificação	P-1	P-2	P-3	P-4	P-5
Conc (ng/µL)	0,1	0,2	0,4	0,8	1,0
Alíquota	25	50	100	200	250

Para os analitos não derivatizados, os padrões são injetados após a adição do PADRÃO INTERNO;

Para os analitos que serão derivatizados, adicionar 25 µL do TMSH aos “vials”. Os extratos deverão ser injetados imediatamente;

Reagente de derivatização – solução comercial de Trimethylsulfonium hydroxide (TMSH), 0,25 M em metanol.

6.3 Execução do ensaio

6.3.1 Extração da amostra

- Transferir 500 mL da amostra de água ajustado a pH 2 (solução de NaOH 1N ou HCl conc.) para um funil de separação de 1 L;
- Fazer 3 extrações sequenciais com 50, 20 e 20 mL de diclorometano, recolhendo cada fração orgânica sobre sulfato de sódio;
- Concentrar a fração orgânica no evaporador; adicionar 500 µL de metanol e levar a secar e retomar com 500 µL de metanol. Transferir para os “vials” de 2 mL;

Os fenóis são quantificados sem derivatização e os clorofenóis são derivatizados. Ver tabela 1.

6.3.2 Derivatização com TMSH

- Adicionar 25 µL de TMSH 0,25 M diretamente no “vial” com o extrato da amostra do item anterior, branco e os padrões da curva de calibração e fechar bem;
- Levar a estufa a 60°C por 30 minutos;

- Resfriar a temperatura ambiente. NÃO ABRIR OS “VIALS”;
- Adicionar com auxílio de uma microseringa, uma alíquota do padrão interno, mantendo a concentração fixa em 1000 µg/L em todos os “vials” (branco, padrão de controle, pontos de calibração e amostras) ;
- Transferir todos os “vials” para o amostrador automático do cromatógrafo e submetê-los à análise;
- Os extratos podem ser guardados por até 2 dias a (4± 2)°C, protegidos da luz, antes da derivatização.

TABELA 1- VALORES PARA ÁGUA

CLOROFENÓIS	LIMITE DE DETECÇÃO
2,4 – Diclorofenol	0,1
2,6 – Diclorofenol	0,1
2,4,6 – Triclorofenol	0,1
2,4,5 – Triclorofenol	0,1
2,3,4,6 – Tetraclorofenol	0,1
2,3,4,6 – Tetraclorofenol	0,1
2,3,5,6 – Tetraclorofenol	0,1
2,3,4,5 – Tetraclorofenol	0,1
Pentaclorofenol	0,1
HERBICIDAS CLORADOS	
2,4 – D	0,1
2,4,5 – T	0,1
2,4,5 – TP (Sivex)	0,1
OUTROS FENÓIS	
Fenol	0,1
2–Clorofenol	0,1
2–Metilfenol (2-cresol)	0,1
3–Metilfenol (3-cresol)	0,1
4–Metilfenol (4-cresol)	0,1
2,4–Dimetilfenol	0,1
4–Cloro-3-Metilfenol	0,1

6.4 Análise no GC/MS

- Equipamento: Sistema de GC/MS Agilent;
- Trap-Temp: 200°C;
- Manifold Temp.: 70°C;
- Transferline: 180°C;
- Coluna: 250°C;
- Fullscan: 70-400 m/z.

6.5 Cromatografia a gás

6.5.1 Injetor

- Tipo de injetor:
- Tipo de insert:
- Volume de injeção:

Identificação	Temperatura (°C)	Rate (°C/min)	Hold (min)	Total (min)
1	80,0	-	0,00	0,00
2	275,0	200	11,10	12,07

6.5.2 Splitratio

Identificação	Time (min)	Split State	Split Ration
1	Inicial	On	10,0
2	0,00	Off	Off
3	3,0	On	100
4	9,0	On	30
5	11,0	On	10

6.5.3 Fluxo da coluna

1,5 mL/min

6.5.4 Temperatura do forno

Identificação	Temperatura (°C)	Rate (°C/min)	Hold (min)	Total (min)
1	40	-	0	4,0
2	100	10	0	10,0
3	240	8	0	27,50
4	320	20	7	38,50

6.5.4 Validação

6.5.4.1 De acordo com os critérios definidos no POP-INEA-GERLAB-205 – Validação de métodos de ensaios, o referido método não necessita de validação, pois segue método normalizado definido pelo AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Maryland: United Book Press, 24ª ed., 2022.* Entretanto, com o objetivo de confirmação de exame e fornecimento evidência objetiva de que o método é adequado ao uso pretendido realizou-se o experimento de:

Item	Resultado
Linearidade	Uma curva com ao menos 4 pontos foi obtida a partir de resultados experimentais. A sensibilidade foi expressada através da inclinação da curva. A faixa de trabalho do LQ à Linearidade. E a Linearidade foi definida pela curva analítica.
Faixa linear de trabalho	
Sensibilidade	
Limite de Detecção do Método	O LDM foi calculado como 3 desvios padrão, e o LQ calculado como 10 desvios padrão (3,3 LDMs).
Limite de Quantificação	
Exatidão	A exatidão, % de recuperação e repetitividade foram expressas quantitativamente em termos da característica da dispersão dos resultados e determinadas por meio da análise de padrões.
%Recuperação	
Repetitividade (precisão)	

6.5.4.2 Os resultados encontram-se declarados nos relatórios de validação emitidos pelo módulo de Validação do LABWIN.

6.5.4.3 De acordo com os critérios definidos no POP-INEA-GERLAB-205 – Validação de métodos de ensaios, uma das técnicas adotadas para determinação do desempenho de um método é através de comparações interlaboratoriais. O laboratório participa de programas de ensaios de proficiência para este método regularmente, conforme definido no POP-INEA-GERLAB-204 – Controle de Qualidade Analítica.

6.6 Controle de qualidade / critérios de aceitação

- Conforme POP-INEA-GERLAB-204 – Controle de qualidade analítica, abaixo se encontram os critérios utilizados para validação de dados e o conseqüente controle da qualidade dos resultados analíticos deste método:
 - Descrever de forma breve os padrões, os materiais de controle de qualidade e a frequência de uso dos mesmos para método. Exemplos: branco do método, branco fortificado (*spike* de branco), amostra fortificada (*spike* de amostra), duplicata de *spike* ou duplicata de amostra, padrão interno, padrão estranho (*surrogate*), curva analítica, padrão de verificação ou verificação da calibração, calibração por adição de padrão, em microbiologia (branco, controle positivo e negativo dos meios de cultura, duplicatas de amostras).
 - Cartas de Controle: descrever o tipo e a forma de avaliação dos dados.

6.7 Cálculos e expressão dos resultados

- Caso esteja disponível no laboratório um sistema informatizado para lançamento dos dados (por exemplo, o LabWin), os valores obtidos nas análises e, se necessário, os fatores de diluição das amostras devem ser lançados no sistema para que ele execute quaisquer cálculos e expresse os resultados diretamente, conforme os critérios estabelecidos.
- Registrar no sistema LabWin os resultados obtidos tanto de amostras como de duplicatas/Spike. Neste caso, o sistema expressará os resultados diretamente, conforme os critérios estabelecidos.
- A Estimativa da Incerteza de Medição é realizada de acordo com os critérios definidos no POP-INEA-GELAB-635 – Incerteza de Medição Labwin UNC. A incerteza estimada da medição será incluída no relatório de ensaio, somente quando ela for relevante para a validade ou aplicação dos resultados de ensaios, quando requerida pelo cliente ou quando afetar a conformidade com um limite especificado.

6.8 Aspectos de segurança

- Utilizar EPIs adequados (luvas, óculos de segurança, jaleco ou guarda pó, sapatos e calça comprida) quando preparar soluções padrão;
- Preparar padrões sob exaustão dentro da capela;
- Os solventes utilizados para rinsar vidrarias e o descarte final dos extratos serão descartados em frascos devidamente identificados que, depois de cheios, deverão ser acondicionados em abrigos para posterior destino final;
- Realizar monitoramento da saturação dos filtros utilizados nas capelas.

7 REGISTROS

- FRM-POP-634-02 - REGISTRO DE EXECUÇÃO DE CURVA DE CALIBRAÇÃO DO SERVAQ;
- FRM-POP-634-02 - REGISTRO DE EXECUÇÃO DE RESULTADOS DE DETERMINAÇÃO DE PCBs POR CROMATOGRAFIA GASOSA UTILIZANDO DETECTOR DE CAPTURA DE ELÉTRONS do SERVAQ.

8 ANEXOS

Não aplicável.

Código: ME-INEA-GERLAB-804	Data de aprovação: 10/12/2024	Revisão: 00	Paginação: 8 de 9
--------------------------------------	---	-----------------------	-----------------------------

9 HISTÓRICO DAS REVISÕES

Atualização para adequação ao POP-INEA-GERLAB-104, NOI-INEA-01-R1 e *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 24^a ed., EUA, 2022.