



UFSM

Dissertação de Mestrado

**DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS E COMPOSTOS RELACIONADOS EM
ÁGUA DE SUPERFÍCIE E EFLUENTE INDUSTRIAL EMPREGANDO
EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E CROMATOGRÁFIA GASOSA ACOPLADA
À ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Manoel Leonardo Martins

PPGQ

Santa Maria, RS, BRASIL

2004

Manoel Leonardo Martins

**DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS E COMPOSTOS RELACIONADOS EM ÁGUA
DE SUPERFÍCIE E EFLUENTE INDUSTRIAL EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA E CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

UFSM

Santa Maria, RS, BRASIL

2004

**DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS E COMPOSTOS RELACIONADOS EM ÁGUA
DE SUPERFÍCIE E EFLUENTE INDUSTRIAL EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM
FASE SÓLIDA E CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

por

Manoel Leonardo Martins

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de
Concentração em Química Analítica, da Universidade de Santa Maria (UFSM, RS),
como requisito parcial para obtenção do grau de

MESTRE EM QUÍMICA

PPGQ

Santa Maria – RS, Brasil

2004

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química

A comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**Determinação de pesticidas e compostos relacionados em água de superfície e
efluente industrial empregando Extração em Fase Sólida e Cromatografia
Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas**

Elaborada por

Manoel Leonardo Martins

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. Renato Zanella – Orientador, UFSM

Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel, FURG

Profa. Dra. Martha Bohrer Adaime, UFSM

UFSM, 20 de agosto de 2004.

AGRADECIMENTOS

Ao **Professor Dr. Renato Zanella**, pela orientação neste trabalho, pelo aprendizado, pela amizade e acolhida no grupo de pesquisas do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP).

Ao **Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel** pelas excelentes sugestões durante o todo o trabalho e por participar no exame de qualificação e como banca examinadora da defesa de dissertação.

À **Professora Dra. Martha Bohrer Adaime**, por seu carinho, incentivo, por participar no exame de qualificação e pela participação como banca examinadora da defesa de dissertação.

Aos colegas do LARP, **Fábio, Márcia, Ednei, Aline, Karine, Osmar, Cristine, Michele, Diana, Clóvia e Ionara** que me acolheram no grupo e sempre estiveram prontos para ajudar durante a realização deste trabalho, .

Aos colegas **Cristine, Michele, Diana, Cláudia, Clóvia e Júlio**, que me acompanharam neste desafio, que compartilharam carinhosamente conhecimentos e amizade.

A meu grande amigo **Adilson Bem da Costa**, que por ter “idéia fixa” me indicou e depois muito incentivou para realizar o Mestrado, pela acolhida em sua casa e pelo exemplo de dedicação aos seus objetivos.

A todos os **Professores da Área de Química Analítica** que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, e aos amigos do SQIA.

Aos funcionários do PPGQ, especialmente ao **Ademir e à Valéria**, pela competência, simpatia e prontidão no atendimento de suas tarefas.

À **MILENIA Agro Ciências** pela oportunidade de realização do Mestrado, disponibilizando de tempo, instalações e equipamentos para realização deste trabalho.

Aos colegas da MILENIA, **Jorge Viecelli, Ângela Pessato, Luciano Gravina, Silvia Bandeira, Sara Allebrandt, Claudiomiro Silva, Israel Reis** e demais colegas do **TEMA** pela confiança e pelo incentivo.

A minha **mãe Edith** agradeço pela confiança e amor incondicional, e tendo assumido responsabilidades de pai e mãe desde muito cedo, ensinou-me a cultivar os valores e princípios de honra, verdade, luta e força. Obrigado pelo exemplo de trabalho, dedicação, competência e disposição sem limites!

À minha esposa **Aline** que desde e principalmente no início sempre me incentivou, me deu forças para vencer cada etapa e fez com que eu confiasse mais em mim. Por todos finais de semana de trabalho e não de descanso, agradeço toda sua compreensão e amor.

À minha filha **Julia** por abrir mão do papai que tinha que estudar, ir a Santa Maria, trabalhar, ler muito, ficar horas e horas na frente do computador, no entanto mostrando-se desde tão cedo muito compreensiva e sempre me trazendo bons momentos e seu imenso e inestimável amor.

À **Deus**, meu suporte, conforto, lucidez e equilíbrio, pela oportunidade de conviver com pessoas tão especiais!

*“Que Deus me dê:
perseverança para mudar o que pode ser mudado,
complacência para aceitar o que não pode ser mudado,
e sabedoria para saber a diferença.”*

À minha esposa Aline, à minha filha Julia e à minha mãe Edith :
Agradeço o apoio incondicional, por abrir mão de minha companhia
nas longas horas de estudos e pela incansável torcida.

A vocês e dedico essa conquista.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	iv
ÍNDICE GERAL	viii
ÍNDICE DE TABELAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS e SÍMBOLOS.....	xiv
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Pesticidas.....	4
2.2. Efluentes industriais.....	8
2.3. Pesticidas e compostos relacionados escolhidos para o estudo.....	9
2.4. Análise de pesticidas.....	14
2.5. Amostragem de pesticidas	18
2.6. Técnicas de extração e pré-concentração.....	18
2.7. Procedimentos cromatográficos acoplados à Espectrometria de Massas	23
2.7.1. Tipos de espectrômetros de massas.....	25
2.7.2. Modos de operação.....	27
2.7.3. Multiplicador de elétrons.....	28
2.8. Aplicações da GC-MS na análise de pesticidas em água	28
2.9. Parâmetros cromatográficos	32
2.9.1. Fator de retenção (k).....	32
2.9.2. Resolução (Rs).....	33
2.9.3. Fator de separação (α).....	33

2.10. Validação de procedimentos analíticos	34
2.10.1. Curvas analíticas e linearidade	34
2.10.2. Limite de Detecção e Limite de Quantificação	37
2.10.3. Recuperação	42
2.10.4. Exatidão	43
2.10.5. Precisão	43
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
3.1. Instrumentação.....	45
3.2. Reagentes, solventes e amostras	46
3.3. Preparação das soluções analíticas.....	48
3.4. Amostras de água de superfície e de efluente	48
3.5. Preparação das fortificações	49
3.6. Sorventes	49
3.7. Otimização do sistema GC-MS/MS	51
3.7.1. Escolha da coluna	51
3.7.2. Vazão do gás de arraste	52
3.7.3. Programa de temperaturas do cromatógrafo.....	52
3.7.4. Desenvolvimento das condições de detecção por MS/MS.....	53
3.8. Otimização do sistema SPE	53
3.8.1. Quantidade de Sorvente.....	54
3.8.2. Volume de amostra	54
3.8.3. Filtração da amostra.....	54
3.8.4. pH da amostra	55
3.8.5. Escolha do solvente	55
3.8.6. Secagem do extrato	56
3.9. Procedimento experimental.....	56

3.9.1. Descrição da etapa de extração e pré-concentração	57
3.9.2. Validação do procedimento	59
3.9.2.1. Curva analítica e linearidade	59
3.9.2.2. Limite de Detecção e Limite de Quantificação	60
3.9.2.3. Recuperação	61
3.9.2.4. Precisão (repetitividade do instrumento)	61
3.9.2.5. Precisão (repetitividade do procedimento)	62
3.9.2.6. Precisão (precisão intermediária)	62
3.9.2.7. Aplicação do procedimento desenvolvido	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
4.1. Sistema GC-MS para determinação dos compostos orgânicos	63
4.2. Parâmetros de programação do espectrômetro de massas	64
4.3. Avaliação da separação cromatográfica	66
4.4. Validação do procedimento	69
4.4.1. Níveis de fortificação utilizados	69
4.4.2. Curvas analíticas	71
4.4.3. Linearidade	73
4.4.4. Limite de Detecção e Limite de Quantificação	76
4.4.5. Recuperação	78
4.4.6. Precisão	82
4.5. Aplicação do procedimento desenvolvido	85
5. CONCLUSÕES	89
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	92
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÊNDICES	103

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Pesticidas em linha de comercialização por ingredientes ativos no Brasil.....	6
Tabela 2: Identificação dos compostos escolhidos para o estudo.....	10
Tabela 3: Propriedades físico-químicas dos compostos escolhidos para o estudo.....	13
Tabela 4: Elementos de cálculo da ANOVA.....	37
Tabela 5: Fornecedores e pureza dos padrões utilizados.....	47
Tabela 6: Condições cromatográficas utilizadas para a separação dos compostos.....	64
Tabela 7: Programação das condições de fragmentação no espectrômetro de massas	65
Tabela 8. Parâmetros cromatográficos t_R , k , R_s e α obtidos.....	67
Tabela 9: Concentração, em $\mu\text{g L}^{-1}$, para cada composto nos três níveis de fortificação preparadas.....	70
Tabela 10: Equações do modelo de calibração, faixa de concentração e coeficiente de determinação (r^2) os compostos em estudo.....	72
Tabela 11: Resumo dos resultados dos cálculos de linearidade, cálculo dos resíduos em y e do teste F com 95% de confiança.....	75
Tabela 12: Limites de Detecção e Limites de Quantificação instrumental e do procedimento, considerando um fator de pré-concentração de 100 vezes, $n= 6$	77
Tabela 13: Recuperações e RSD para os compostos em estudo.....	80
Tabela 14: Comparação das Recuperações e RSD para os compostos em estudo obtidas com a LLE e a SPE.....	81
Tabela 15: Valores de RSD para 6 injeções de cada uma das 10 soluções analíticas.....	82

Tabela 16: Resultados da avaliação da repetitividade e da precisão intermediária do procedimento	84
Tabela 17: Resultados analíticos para as matrizes usadas nas fortificações	86
Tabela 18: Valores de concentração, em $\mu\text{g L}^{-1}$, dos compostos estudados encontrados em cinco amostras de água do Rio Taquari	87
Tabela 19: Valores de concentração, em $\mu\text{g L}^{-1}$, dos compostos estudados encontrados em cinco amostras de efluente industrial tratado.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Componentes básicos de um espectrômetro de massas.....	24
Figura 2: Demonstração da distribuição estatística normal para o valor zero, LOD e LOQ (Adaptado de US-EPA, 2003).....	40
Figura 3: Sistema SPE usando bomba de vácuo.....	58
Figura 4: Cromatograma típico de uma solução analítica com $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ obtido nas condições cromatográficas descritas na tabela 6.....	66
Figura 5: Visualização dos picos cromatográficos. a) Cromatograma com visualização de todos os íons; b) Cromatograma com visualização do íon 111 correspondente ao 1,2-Diclorobenzeno ($t_R = 8,01 \text{ min}$) e c) Cromatograma visualização do íon 144 correspondente ao 3,4-DCBTF ($t_R = 7,29 \text{ min}$).....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α - Fator de separação

a – Coeficiente angular

b – Coeficiente linear

CAS – do inglês *Chemical Abstracts Service*

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente.

d - Dias

d.i. – Diâmetro interno

ECD - do inglês *Electron Capture Detection*

FIA-MS - do inglês *Flow Injection Analysis with Mass Spectrometry*

FIA-MS/MS - do inglês *Flow Injection Analysis with Mass Spectrometry with Mass Spectrometry (Tandem MS)*

FID - do inglês *Flame Ionization Detector*.

GC – do inglês *Gas Chromatography*

GC-ECD – do inglês *Gas Chromatography with Electron Capture Detection*

GC-ITD-MS – do inglês *Gas Chromatography with Ion Trap Detector with Mass Spectrometry*

GC-ITD-MS/MS - do inglês *Gas Chromatography with Ion Trap Detector with Mass Spectrometry with Mass Spectrometry (Tandem MS)*

GC-MS - do inglês *Gas Chromatography with Mass Spectrometry*

GC-MS/MS - do inglês *Gas Chromatography with Mass Spectrometry with Mass Spectrometry (Tandem MS)*

GC-MSD - do inglês *Gas Chromatography with Mass Selective Detector (Mass Spectrometry)*

HPLC - do inglês *High Performance Liquid Chromatography*

IUPAC – do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*

k – Fator de retenção

K_{oc} - Coeficiente de adsorção à matéria orgânica do solo

K_{ow} - Coeficiente partição octanol-água

LC-DAD - do inglês *Liquid Chromatography with Diode Array Detection*

LC-MS - do inglês *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*

LC-MS/MS - do inglês *Liquid Chromatography with Mass Spectrometry with Mass Spectrometry (Tandem MS)*

LDE - Limite de Detecção do Equipamento
LDM - Limite de Detecção do Método
LLE – Extração Líquido-Líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*
LOD – Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*
LOQ – Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*
LSE – do inglês *Liquid Solid Extraction*
m/z – Razão massa/carga
MRM – do inglês *Multiple Reactions Monitoring*.
MS – Espectrometria de Massas, do inglês *Mass Spectrometry*
MS/MS - do inglês *Mass Spectrometry with Mass Spectrometry*
MSn – do inglês *n steps of Mass Spectrometry*
N – Eficiência da coluna cromatográfica
n.d. – Não detectado
NPD - do inglês *Nitrogen-Phosphorous Detection*
PE - Ponto de ebulição
PF - Ponto de fusão
PID – do Inglês *Photo Ionization Detector*
PV - Pressão de vapor
Q – Concentração
R – Recuperação
 r^2 – Coeficiente de determinação
Rs – Resolução
RSD - do inglês *Relative Standard Deviation*
s – Desvio padrão absoluto
S – Sinal
SFE – do inglês *Supercritical Fluid Extraction*
SIM – do inglês *Selective Ion Monitoring* ou *Single Ion Monitoring*.
SIS - do inglês, *Selected Ion Storage*.
SOE – do inglês *Salting-Out Extraction*
SPE – do inglês *Solid Phase Extraction*
SPE-GC-ITD-MS – do inglês *Solid Phase Extraction (on-line) with Gas Chromatography with Ion Trap Detector with Mass Spectrometry*

SPE-GC-ITD-MS/MS - do inglês *Solid Phase Extraction (on-line) with Gas Chromatography with Ion Trap Detector with Mass Spectrometry with Mass Spectrometry (Tandem MS)*

SPE-GC-NPD – do inglês *Solid Phase Extraction (on-line) with Gas Chromatography with Nitrogen-Phosphorous Detection*

SPME – do inglês *Solid Phase Micro Extraction*

SSMA - Secretaria de Saúde e Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul

$t_{(0,01)}$ - valor de t tabelado para um grau de confiança de 99%

$t_{(0,05)}$ - valor de t tabelado para um grau de confiança de 95%

$t_{(n-1, 1-\alpha)}$ = valor tabelado de t para o grau de confiança $1-\alpha$ e $n-1$ graus de liberdade.

t'_R – Tempo de retenção ajustado

$t_{1/2}$ - Tempo de meia-vida

t_M = tempo de retenção de um analito não retido;

t_R – Tempo de retenção de um analito

t'_R - tempo de retenção ajustado.

US-EPA – do inglês *United States - Environmental Protection Agency*

UV - Ultra Violeta (detector)

W_b - largura do pico na base

W_h - largura do pico a meia-altura

x – Concentração do composto em estudo

X_m - média dos valores medidos para uma dada amostra.

y – Resposta do detector (altura ou área do pico)

RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQ
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA – UFSM

DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS E COMPOSTOS RELACIONADOS EM ÁGUA DE SUPERFÍCIE E EFLUENTE INDUSTRIAL EMPREGANDO EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA E CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Autor: Manoel Leonardo Martins
Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella
Santa Maria, 20 de agosto de 2004

Para atender a crescente demanda alimentícia, devida ao grande aumento populacional, tem sido intensificada a utilização de pesticidas na agricultura. Tais produtos melhoram a produtividade agrícola, podendo diminuir os preços dos alimentos. Por outro lado, a partir dos resultados de estudos dos efeitos toxicológicos, carcinogênicos e teratogênicos dos pesticidas e das matérias-primas utilizadas na sua produção, têm sido estabelecidos parâmetros de controle cada vez mais rígidos, na ordem de micro- a picogramas por litro de água ou por quilograma de solo ou alimento.

O controle destas substâncias na água requer procedimentos analíticos rápidos, baratos e confiáveis que permitam a determinação de uma grande variedade de pesticidas e compostos relacionados, com propriedades químicas variadas e pertencentes a classes químicas diferentes.

No presente trabalho foi desenvolvido e validado um procedimento para quantificação de 4-cloro- α,α,α -trifluoro-tolueno, o-xileno, m-xileno e p-xileno, 4-cloro-tolueno, 3,4-dicloro- α,α,α -trifluoro-tolueno, 4-cloro-3-nitro- α,α,α -trifluoro-tolueno, 2,2-dicloroetenol dimetil fosfato, triclorfon, 3,4-dicloro-fenil isocianato, diuron, 4-cloro-3,5-dinitro- α,α,α -trifluoro-tolueno, 3,4-dicloro-anilina, 1-(4-Clorofenil)-4,4-dimetil-3-pentanona, trifluralina, 2-[2-(4-clorofenil)etil]-2-(1,1-dimetil-etil)-oxirano, lindane, propanil, 2,4-D éster (butil, 2,4-diclorofenoxi-acetato),

clorpirifós, 2-bromometil-2-(2,4-diclorofenil)-4-propil-1,3-dioxolano), α - endosulfan e β - endosulfan em amostras de efluente industrial tratado e de água de superfície empregando a Extração em Fase Sólida (SPE), para extração e pré-concentração, e a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas/Espectrometria de Massas (GC-MS/MS) para a quantificação.

Na SPE utilizaram-se cartuchos contendo um polímero com características lipofílicas e hidrofílicas, com capacidade para extração de compostos ácidos e básicos (Absolut NEXUS, Varian). As condições para separação cromatográfica foram: coluna analítica VF – 5ms de baixo sangramento (Factor Four, Varian) de 30 m x 0,25 mm; 0,25 μ m); gás de arraste: hélio, vazão 1,2 mL min⁻¹; volume injetado: 1 μ L (*splitless*); programação da temperatura do forno da coluna: 45 °C – 1,5 min, 260 °C (10 °C min⁻¹) – 4 min; detector: espectrômetro de massas, tipo *ion trap* operando no modo MS/MS, multi-segmento; temperaturas: linha de transferência: 290 °C, manifold: 80 °C e *ion trap*: 240 °C.

Na validação do procedimento foram avaliados os seguintes parâmetros: limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), linearidade, precisão (repetitividade e precisão intermediária) e recuperação. Os LODs obtidos com o procedimento ficaram entre 0,07 e 0,78 μ g L⁻¹ e os LOQs ficaram entre 0,21 e 2,44 μ g L⁻¹. Os ensaios de precisão forneceram resultados aceitáveis com valores de RSD entre 1,3 e 11,9%. As recuperações foram de 50,0 a 155,3%.

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que o procedimento analítico proposto é eficiente e preciso para determinação de 4-cloro-tolueno, 4-cloro-3-nitro- α,α,α -trifluoro-tolueno, 2,2-dicloroetenol dimetil fosfato, triclorfon, 2-[2-(4-Clorofenil)etil]-2-(1,1-dimetil-etil)-oxirano, trifluralina, lindane, clorpirifós, 2-bromometil-2-(2,4-diclorofenil)-4-propil-1,3-dioxolano), α - endosulfan e β - endosulfan em efluente industrial e água de superfície. Para estes compostos foram obtidos resultados aceitáveis, com RSDs entre 1,3 e 10,4%. As recuperações obtidas foram de 71,7 a 128,8%. As recuperações obtidas para os demais compostos indicam a necessidade de otimização do procedimento para permitir a análise em toda a faixa de concentrações desejada.

ABSTRACT

MASTER DISSERTATION

**DETERMINATION OF PESTICIDES AND RELATED COMPOUNDS IN
SURFACE WATER AND INDUSTRIAL EFFLUENT USING SOLID PHASE
EXTRACTION AND GAS CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH MASS
SPECTROMETRY**

Author: Manoel Leonardo Martins

Adviser: Prf. Dr. Renato Zanella

Santa Maria, July 20th, 2004

To assist the growing nutritious demand, caused by the great population increase, the use of pesticides has been intensified in the agriculture. Such products improve the agricultural productivity and could reduce the food prices. On the other hand, starting from the results of studies of toxicological, carcinogenic and teratogenic effects of the pesticides and of the raw material used in their production, more and more rigid control parameters have been established, in the order of micro- to picogram per liter of water or per kilogram of soil or food.

The control of these substances in the water requests fast, cheap and reliable analytical procedures that allow the determination of a great variety of pesticides and related compounds, with varied chemical properties and belonging to different chemical classes.

In the present work it has been developed and validated a procedure for quantification of 4-chloro- α,α,α -trifluoro-toluene, o-xylene, m-xylene, p-xylene, 4-chloro-toluene, 3,4-dichloro- α,α,α -trifluoro-toluene, 4-chloro-3-nitro- α,α,α -trifluoro-toluene, 2,2-dichloroethanol-dimethyl-phosphate, trichlorfon, 3,4-dichlorophenyl isocyanate, diuron, 4-chloro-3,5-dinitro- α,α,α -trifluoro-toluene, 3,4-dichloroaniline, 1-(4-Chlorophenyl)-4,4-dimethyl-3-pentanone, trifluralin, 2-[2-(4-

Chlorophenyl)ethyl]-2-(1,1-dimethyl-ethyl)-oxirane, lindane, propanil, 2,4-D ester (Butyl, 2,4-dichlorophenoxy-acetate), chlorpyrifos, 2-bromomethyl-2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolane), α -endosulfan and β -endosulfan in treated industrial effluent and surface water samples using the Solid Phase Extraction (SPE), for extraction and pre-concentration, and Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry/Mass Spectrometry (GC-MS/MS) for the quantification.

In SPE, cartridges containing a polymer with lipophilic and hydrophilic characteristics have been used, with capacity for extraction of acid and basic compounds (Absolut NEXUS, Varian). The chromatographic separation conditions were: analytical column VF - 5ms of low bleeding (Factor Four, Varian) of 30 m x 0.25 mm; 0.25 mm); carrier gas: helium, flow-rate 1.2 mL min⁻¹; injected volume: 1 μ L (splitless); programming of the column oven temperature: 45 °C – 1.5 min, 260 °C (10 °C min⁻¹) - 4 min; detector: mass spectrometer, ion trap type operating in the MS/MS way, multisegment; temperatures: transfer line: 290 °C, manifold: 80 °C and ion trap: 240 °C.

In the validation of the procedure, the following parameters were appraised: detection limit (LOD), quantification limit (LOQ), linearity, precision (repeatability and intermediate precision) and recovery. The LODs obtained with the procedure were between 0.07 and 0.78 mg L⁻¹ and the LOQs were between 0.21 and 2.44 mg L⁻¹. The precision assays supplied acceptable results with RSD values between 1.3 and 11.9%. The recoveries were from 50.0 to 155.3%.

The results obtained in this work allowed the conclusion that the proposed analytic procedure is efficient and precise for the determination of 4-chloro-toluene, 4-chloro-3-nitro- α,α,α -trifluoro-toluene, 2,2-dichloroethanol-dimethyl-phosphate, trichlorfon, 2-[2-(4-Chlorophenyl)ethyl]-2-(1,1-dimethyl-ethyl)-oxirane, trifluralin, lindane, chlorpyrifos, 2-bromomethyl-2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolane), α -endosulfan and β -endosulfan in industrial effluent and superficial water samples. For these compounds the precision assays supplied acceptable results with RSD values between 1.3 and 10.4%. The recoveries were from 71.7 to 128.8%. The recoveries obtained for the other compounds indicate the need to optimize the procedure to allow the analysis in the whole strip of concentrations wanted.

1. INTRODUÇÃO

Nos dias atuais métodos analíticos e especialmente profissionais capazes de produzir resultados analíticos satisfatórios para amostras ambientais tendem a ser cada vez mais valorizados. Esta valorização se deve a tendência atual de diminuição da disponibilidade de recursos naturais, especialmente de água potável. Também a crescente necessidade de aumento na produção de alimentos, e conseqüentemente do aumento no uso de substâncias químicas para controle de pragas e doenças na agricultura, geram uma demanda de resultados analíticos para definição do pode ou não ser consumido.

No caso dos pesticidas os constantes avanços da química orgânica têm produzido novas substâncias cada vez mais efetivas e seletivas a determinadas pragas. Os novos compostos usados apresentam efeito em concentrações cada vez mais baixas, na ordem de microgramas por litro ou por kilograma.

Por outro lado a partir dos resultados de estudos dos efeitos toxicológicos, carcinogênicos e teratogênicos destas substâncias, tem sido estabelecidos parâmetros de controle cada vez mais rígidos, na ordem de micro, nano e picogramas por litro de água, solo ou alimento.

No meio científico questões quanto a determinações realizadas em concentrações muito baixas, próximas aos limites instrumentais atuais, tem levado à proposição de variadas metodologias para abordagem e definição dos limites das técnicas e estratégias analíticas atuais.

Ao se empregar métodos cromatográficos acoplados a diferentes tipos de detectores, cada composto apresenta respostas diferentes à estes detectores e tem parâmetros ou limites de aceitação diferenciados. Considerando este enfoque, o objetivo final do procedimento não é só detectar e/ou quantificar cada substância na menor concentração possível, mas também atingir um nível apropriado que atenda os requisitos de qualidade dos dados analíticos gerados para todos compostos analisados com o menor tempo e custo possíveis.

Entre as técnicas analíticas atualmente disponíveis, duas vem se destacando cada vez mais no atendimento dos requisitos acima descritos, a Extração em Fase Sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) e a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography Mass Spectrometry*).

A SPE vem substituindo cada vez mais a Extração Líquido-Líquido (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*), especialmente por não apresentar os mesmos problemas aos quais a LLE está sujeita, tais como formação de emulsão, grande consumo de solventes, longo tempo de extração, demandar de muito trabalho e ser um técnica de difícil automação.

A SPE, quando aplicada em amostras de água, com a extração, purificação e concentração da amostra sendo realizadas em uma única etapa, resulta em um tempo de análise e consumo de reagentes menores que a LLE. A razão de concentração obtida permite atingir concentrações suficientes de analito para permitir a detecção, mesmo partindo de amostras contendo traços de pesticidas.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um procedimento para determinar uma mistura específica de pesticidas e compostos relacionados em amostras de efluente industrial tratado de uma indústria química que sintetiza pesticidas (MILENIA Agro Ciências S.A.) e em amostras de água de superfície que recebem estes efluentes.

Os compostos a serem determinados por este procedimento são o **PCBTF** (4-cloro- α,α,α -trifluoro-tolueno), **Xileno** (o-xileno, m-xileno e p-xileno), **PCT** (4-cloro-tolueno), **3,4-DCBTF** (3,4-dicloro- α,α,α -trifluoro-tolueno), **Mononitro** (4-cloro-3-nitro- α,α,α -trifluoro-tolueno), **DDVP** (2,2-dicloroetenol dimetil fosfato), **Triclorfon** (dimetil 2,2,2-tricloro-1-hidroxi-etil-fosfonato), **DCPI** (3,4-dicloro-fenil isocianato), **Diuron** (3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetil-urea), **Dinitro** (4-cloro-3,5-dinitro- α,α,α -trifluoro-tolueno), **3,4-DCA**(3,4-dicloro-anilina), **Ketone** (1-(4-Clorofenil)-4,4-dimetil-3-pentanona), **Trifluralina** (α,α,α -trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropil-p-toluidina), **Oxirane** (2-[2-(4-Clorofenil)etil]-2-(1,1-dimetil-etil)-oxirano), **Lindane** (1,2,3,4,5,6-hexacloro-ciclohexano), **Propanil** (3',4'-dicloro-propionanilida), **2,4-D Éster** (Butil,2,4-diclorofenoxi-acetato), **Clorpirifós** (o,o-dietil

o-3,5,6-tricloro-2-piridi-fosforotioato), **Bromoketal** (2-bromometil-2-(2,4-diclorofenil)-4-propil-1,3-dioxolano), **α -Endosulfan**(1,2,3,4, 7,7a- hexa-cloro-biciclo- (2,2,1)- hepteno- 2,5,6,-bis (metilene) sulfito) e o **β -Endosulfan** (1,2,3,4,7,7 a-hexa-cloro –biciclo -(2,2,1)- hepteno -2,5,6, -bis (metilene) sulfito).

A etapa de extração em fase sólida foi desenvolvida para substituir a extração líquido-líquido atualmente empregada para preparação de amostras. Este novo procedimento foi desenvolvido de forma a obter-se com a SPE a mesma razão de concentração e os mesmos LOD (Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*) e LOQ (Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*) obtidos com a LLE.

Os resultados das análises de resíduos de pesticidas são usados para controle operacional da estação de tratamento e para monitoramento ambiental, requerendo um procedimento de determinação que seja rápido e que produza resultados confiáveis tanto na identificação quanto na quantificação dos analitos em matrizes relativamente complexas.

No desenvolvimento do procedimento foi feita a validação, buscando determinar o LOD, o LOQ, a precisão e a exatidão do método na determinação dos compostos de interesse.

Após a validação o procedimento desenvolvido foi utilizado para determinação dos compostos de interesse em amostras reais.

A rapidez foi atingida com o desenvolvimento de um procedimento simples de extração, quando comparado a LLE. A confiabilidade nos resultados foi atingida pela validação do procedimento, demonstrando a capacidade desta em quantificar os analitos e pelo uso da Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS/MS), que permite a ainda confirmação da identificação dos analitos através da comparação do espectro MS/MS com os obtidos para os padrões.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Pesticidas

Devido ao grande crescimento populacional, para atender à demanda alimentícia há tempos tem sido necessária a utilização de pesticidas na agricultura. Atualmente, é difícil imaginar que seja possível suprir a demanda mundial de alimentos sem o uso de pesticidas, pois tais produtos melhoram a produtividade agrícola, podendo diminuir os preços dos alimentos e da mão-de-obra (ROCHA *et al.*, 2004).

De acordo com o Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, que regulamenta a Lei nº 7802/1989, os defensivos agrícolas ou agrotóxicos são 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 de produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (SINDAG, 2004).

Nas referências consultadas o termo “pesticida” é utilizado em substituição á “defensivos agrícolas” e “agrotóxicos”, tendo a mesma definição e sendo aplicado aos mesmos casos descritos acima.

Os pesticidas podem ser classificados correlacionando-se o organismo vivo envolvido no seu emprego: inseticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas, moluscicidas, raticidas e outros (LARINI, 1999).

Entre as pragas, os insetos merecem especial destaque, sendo que a Organização Mundial de Saúde estima que um terço dos produtos agrícolas

cultivados pela humanidade seja devorada ou destruída pelos insetos. A febre amarela, a malária, a dengue e outras doenças são transmitidas pelos mosquitos. Portanto para controlar os insetos é necessário o uso de inseticidas, sendo que os inseticidas estão entre os pesticidas mais amplamente utilizados (SHREVE & BRINK, 1977).

Já o controle de ervas daninhas através de herbicidas é prática comum entre os agricultores, seja em atividades de preparação da terra, seja no controle de plantas infestantes, que concorrem com as plantações por água e nutrientes. Os herbicidas também são utilizados na limpeza de vias públicas, na limpeza das laterais de rodovias, em campos de golfe, parques, jardins de escolas, pátios industriais e áreas de conservação florestal (SHORT, 1999).

O termo fungicida é usado para qualquer produto químico que destrua ou iniba o crescimento de fungos. O uso de compostos de enxofre e de sulfato de cobre iniciou entre 1882 e 1934. Mais recentemente foram desenvolvidos e passaram a ser amplamente utilizados como fungicidas, os ditiocarbamatos (thiram, ziram, zineb, entre outros) e derivados de triazóis (tebuconazole e propiconazole) (DIKSHITH, 2003).

O mercado de pesticidas no Brasil movimentou US\$ 2,5 bilhões gerando 7000 empregos diretos e um volume de exportações de US\$ 300 milhões. Em 2002 havia 278 ingredientes ativos sendo comercializados no Brasil. A distribuição de acordo com sua classificação encontra-se na Tabela 1 (SINDAG, 2003).

Tabela 1: Pesticidas em linha de comercialização por ingredientes ativos no Brasil.

Classes	Ingredientes Ativos					
	Jul/92	Abr/95	Mai/97	Jul/99	Dez/00	Set/02
Herbicidas	57 29,4%	61 28,4%	66 28,2%	78 30,5%	77 29,4%	81 29,1%
Fungicidas	43 22,2%	51 23,7%	56 23,9%	63 24,6%	65 24,8%	72 25,9%
Inseticidas	59 30,4%	65 30,3%	70 29,9%	75 29,3%	79 30,2%	79 28,4%
Acaricidas	14 7,2%	19 8,8%	21 9,0%	17 6,6%	16 6,1%	16 5,8%
Outros	21 10,8%	19 8,8%	21 9,0%	23 9,0%	25 9,5%	30 10,8%
Total	194	215	234	256	262	278

Fonte: Sindag, 2003.

Segundo o US-EPA (do inglês, *United States - Environmental Protection Agency*), no ano de 1999, a quantidade mundial de pesticidas usados excedeu 2,5 milhões de toneladas. Os herbicidas foram os mais usados: 925.000 toneladas, a seguir os pesticidas classificados como outros: 756.000 toneladas, os inseticidas: 643.000 toneladas e por fim os fungicidas: 252.000 toneladas (US - EPA, 1999).

Apesar da necessidade e aumento do uso dos pesticidas, a aplicação destes pode gerar grandes problemas: os pesticidas são tóxicos, podendo ser cancerígenos, mutagênicos e mimetizadores de hormônios; são aplicados em grande quantidade, em áreas bastante extensas, e geralmente possuem persistência no meio ambiente (PRIMEL, 2003).

A contaminação de águas subterrâneas por resíduos de pesticidas foi considerada por muitos anos como improvável, pois o solo funcionaria como um purificador de águas. A contaminação das águas de superfície era considerada transitória, pois o foco dos estudos eram os compostos organoclorados, que apresentam uma solubilidade em água muito baixa e tem uma forte tendência para adsorver à matéria particulada e não eram detectados na água. Há cerca de 20 anos atrás, com as novas informações sobre os herbicidas, que são geralmente mais solúveis em água e mais usados que os organoclorados, estes passaram a ser detectados em águas de superfície e em águas subterrâneas. Novas políticas foram criadas para reduzir a contaminação das águas subterrâneas e de superfície, limites legais e níveis de alerta foram introduzidos para resíduos em água potável (IUPAC, 2003).

Na Europa, vários países trabalharam independentemente no estabelecimento de limites para pesticidas no meio ambiente, e com a criação da Comunidade Européia, estes trabalhos foram reavaliados, levando em conta a situação ambiental e econômica de cada país membro. As políticas e limites passaram a ser estabelecidas na forma de diretivas, iniciando com a diretiva que estabeleceu parâmetros para água potável, promulgada em julho de 1980 e culminando com a diretiva 2000/60/EC publicada em outubro de 2000, que estabelece uma política geral de preservação e recuperação dos mananciais na Europa (Carney, 1991; EEC, 2000).

Nos Estados Unidos da América, o US-EPA é o órgão responsável pelo estabelecimento de políticas (na forma de normas técnicas), limites para pesticidas em águas de superfície e na água potável, bem como a publicação de listas de substâncias consideradas perigosas para o meio ambiente e para o ser humano. Outra responsabilidade do US-EPA o suporte técnico para estas normas e limites, através de estudos sobre as fontes poluidoras existentes, validação de protocolos de análise e endossamento de tecnologias de tratamento (KEITH, 1979; US-EPA, 2004; SHORT, 1999).

No Brasil a Resolução do CONAMA (Conselho Nacional de Meio Ambiente) número 20 do ano de 1986 e atualmente em revisão, estabelece a política de proteção e classificação das águas de superfície no Brasil. Estabelece também

limites permitidos para parâmetros físico-químicos e concentração de pesticidas e outros compostos orgânicos na emissão de efluentes líquidos Industriais (CONAMA, 2004).

No âmbito do estado do Rio Grande do Sul, a Portaria n° 5 da SSMA (Secretaria de Saúde e Meio Ambiente) de 16/03/89, atualmente em revisão, estabelece as condições para emissão de efluentes e as concentrações limites para emissão de efluentes líquidos em águas de superfície no Estado do Rio Grande do Sul (FEPAM, 2004).

2.2. Efluentes industriais

Considerando especificamente os pesticidas, estes podem atingir as águas de superfície, em diferentes situações:

- Quando aplicados na lavoura eventualmente podem ser transportados para as águas de superfície através de vários mecanismos e seus resíduos podem permanecer no meio ambiente, causando riscos potenciais a saúde humana (PRIMEL, 2003);
- Em caso de acidentes, especialmente no transporte destes produtos, por via terrestre ou por vias pluviais ou marítimas.
- Pelo destino inadequado das embalagens usadas pelos agricultores
- Pela emissão de efluentes líquidos oriundos da síntese ou preparo de formulações comerciais de pesticidas.

Entre estas fontes, a emissão de efluentes líquidos gera preocupação pois consiste numa possível fonte contínua de emissão de poluentes requerendo rígido controle operacional e analítico, para minimizar os possíveis danos ao meio ambiente.

Assim como os pesticidas muitos compostos orgânicos, cujo volume de produção é muito expressivo em diversos pontos do mundo, os compostos usados como matérias-primas e os intermediários químicos têm grande relevância

ambiental, podendo ter efeitos mais nocivos que os próprios pesticidas ao homem e ao meio ambiente (EEC, 2000).


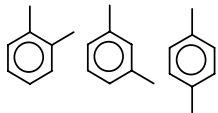
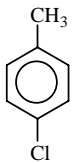
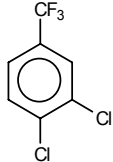
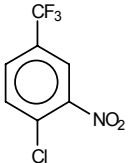
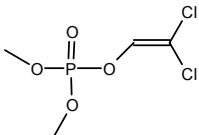
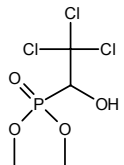
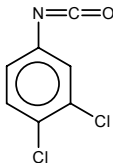
2.3. Pesticidas e compostos relacionados escolhidos para o estudo

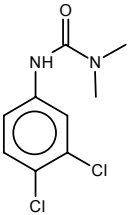
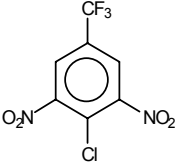
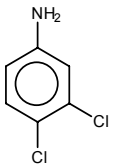
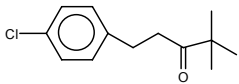
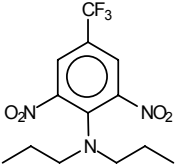
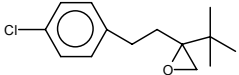
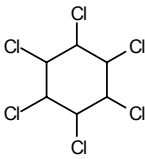
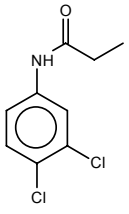
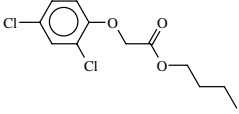
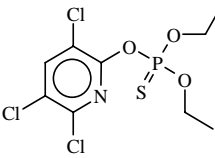
A escolha dos pesticidas para o desenvolvimento do estudo baseou-se primeiro na necessidade de monitorar o efluente industrial da MILENIA Agro Ciências S.A e os corpos receptores deste efluente, e por não existir na literatura indexada até o momento, conforme pesquisa feita no site ISI WEB of Science, nenhum procedimento publicado para determinação simultânea destes compostos em água. Foram selecionadas matérias-primas e intermediárias da produção dos principais compostos produzidos na indústria, de forma a prover um controle efetivo do aporte destas substâncias aos corpos receptores. As Tabelas 2 e 3 apresentam a identificação dos compostos selecionados e as propriedades relacionadas à sua relevância ambiental.

Adicionalmente, o controle destas substâncias nos efluentes e corpos receptores provê informação adicional sobre uma possível contaminação dos mesmos, ou seja, para uma determinada emissão por exemplo da Trifluralina, são determinadas cinco substâncias (PCT, PCBTF, Mononitro e Dinitro), permitindo um controle maior do processo de produção e de tratamento dos efluentes, uma vez que a informação obtida será maior. Para o Diuron o composto relacionado DCPI é determinado simultaneamente. Oxirane e Ketone são utilizados na produção do Tebuconazole, não fazendo parte deste estudo. Da mesma maneira o Bromoketal é utilizado na produção de Propiconazol, que também não faz parte deste estudo. Finalmente o composto relacionado com o Propanil é o 3,4-DCA, matéria-prima na produção deste. O Xileno (o+m+p) é usado como solvente na formulação comercial da Trifluralina e de outros compostos da indústria.

O DDVP, Triclorfon, Lindane, 2,4-D Éster, α -Endosulfan e β -Endosulfan não são mais sintetizados ou manipulados na fábrica, mas o monitoramento destes é necessário para verificar contaminações remanescentes.

Tabela 2: Identificação dos compostos escolhidos para o estudo.

Nome comum	Nome IUPAC	Número CAS	Massa Molecular (g mol ⁻¹)	Estrutura
PCBTf	4-cloro- α, α, α - trifluoro-tolueno	95-56-6	180,55	
Xileno	o-xileno, m-xileno e p-xileno	95-47-6, 108-38-3 e 106-42-3	106,16	
PCT	4-cloro-tolueno	106-43-1	126,58	
3,4-DCBTf	3,4-dicloro- α, α, α -trifluoro-tolueno	328-84-7	215,00	
Mononitro	4-cloro-3-nitro- α, α, α -trifluoro-tolueno	121-17-5	225,55	
DDVP	2,2-dicloroetenol dimetil fosfato	62-73-7	220,97	
Triclorfon	dimetil 2,2,2-tricloro-1-hidroxi-etil-fosfonato	52-68-6	257,43	
DCPI	3,4-dicloro-fenil isocianato	102-36-3	188,10	

Diuron	3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetil-urea	330-54-1	233,09	
Dinitro	4-cloro-3,5-dinitro- α, α, α -trifluoro-tolueno	393-75-9	270,55	
3,4-DCA	3,4-dicloro-anilina	95-76-1	162,01	
Ketone	1-(4-Clorofenil)-4,4-dimetil-3-pentanona	66346-01-8	224,73	
Trifluralina	α, α, α -trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropil-p-toluidina	1582-09-8	335,28	
Oxirane	2-[2-(4-Clorofenil)etil]-2-(1,1-dimetil-etil)-oxirano	80443-63-6	238,75	
Lindane	1,2,3,4,5,6-hexacloro-ciclohexano	58-89-9	290,83	
Propanil	3',4'-dicloro-propionanilida	709-98-08	218,08	
2,4-D Éster	Butil, 2,4-diclorofenoxi-acetato	533-23-3	277,14	
Clorpirifós	o,o-dietil o-3,5,6-tricloro-2-piridi-fosforotioato	2921-88-2	350,58	

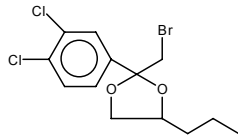
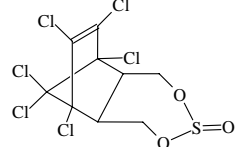
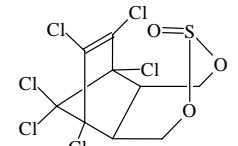
Bromoketal	2-bromometil-2-(2,4-diclorofenil)-4-propil-1,3-dioxolano,	60207-89-8	354,07	
α -Endosulfan	1,2,3,4,7,7a-hexacloro-biciclo-(2,2,1)-hepteno-2,5,6,-bis(metileno) sulfito	959-98-8	406,92	
β -Endosulfan	1,2,3,4,7,7a-hexacloro-biciclo-(2,2,1)-hepteno-2,5,6,-bis(metileno) sulfito	33213-65-9	406,92	

Tabela 3: Propriedades físico-químicas dos compostos escolhidos para o estudo.

Nome comum	PF (°C)	PE (°C)	Solubilidade em H ₂ O (mg L ⁻¹)	log K _{ow}	K _{oc}	PV (mm Hg)	t _{1/2} água (d)	t _{1/2} solo (d)
PCBTf	-36	136-138	23 (23 °C)					
o- Xileno	-25	143-145				7 (20 °C)		
m-xileno		139				9 (20 °C)		
p-xileno	12-13	138				9 (20 °C)		
PCT	6-8	161,9	100 (20 °C)			2,79 (20 °C)		
3,4-DCBTf	(-13)- (-12)	173-174	11,6 (25 °C)					
Mononitro		222,6						
DDVP		245	18.000 (25 °C)	1,9 (20 °C)		0,01 (20 °C) 2,1.10 ⁻³ (25 °C)	<1	<1
Triclorfon	76-77		120.000 (20 °C)	0,43 (20 °C)	20 ±10	7,8.10 ⁻⁶ (20 °C)	46 h (pH 7)	
DCPI		118-120						
Diuron	158-159		36,4 (25 °C)	2,85 (25 °C)	400	8,25.10 ⁻⁹ (25 °C)		92-180
Dinitro	56-58							
3,4-DCA	70-72,5	272						
Ketone		245						
Trifluralina	46,5-48,5	139	2 (20 °C)	4,83 (20 °C)	121,0	4400-40000	32,0	168,7
Oxirane		180						
Lindane	112,5	323,4	46,8 (20 °C)	3,5	22,1	0,00001 (20 °C)	172,8	980,0

Propanil	91,5	130 (25 °C)	3,3	518,0	0,026	2	1-2
2,4-D Éster	250						
Clorpirifós	42- 43,5	1,4 (25 °C)	4,7	1250- 12600	2,02.10 ⁻⁵ (25 °C)	1,5 (pH 8,0 e 25 °C)	33-56
Bromoketal		1,39 (20 °C)		125,2		58,1	113,3
α-Endosulfan	109,2	0,32 (22 °C)	4,74 (pH 5)	3.000- 20.000	6,22.10 ⁻⁶ (20 °C)	93,8	31,5
β- Endosulfan	213,3	0,33 (22 °C)	4,79 (pH 5)	3.000- 20.000	6,22.10 ⁻⁶ (20 °C)	93,8	31,5

Onde: PF = Ponto de Fusão; PE = Ponto de Ebulição; K_{ow} = coeficiente partição octanol-água; K_{oc} = coeficiente de adsorção à matéria orgânica do solo; PV = pressão de vapor; $t_{1/2}$ água = tempo de meia-vida na água; $t_{1/2}$ solo = tempo de meia-vida no solo; d= dias;

Fonte: Chemservice, 2004; MILENIA, 2004; PAN, 2004; PRIMEL, 2003; Pesticide Manual, 2000-2001.

2.4. Análise de pesticidas

A atual, e justificada, preocupação com o meio ambiente demanda um controle efetivo da presença de pesticidas em águas, sejam estas de superfície, de irrigação, subterrâneas ou efluentes industriais. Esta demanda requer procedimentos analíticos rápidos, baratos e confiáveis para determinação de uma grande variedade de princípios ativos e compostos relacionados, com propriedades químicas variadas e/ou pertencentes a classes químicas diferentes.

Na **agricultura** as águas de irrigação ou pluviais constituem vetores de contaminação de mananciais de água. O procedimento analítico utilizado para determinação de pesticidas, além de atender os requisitos de rapidez e confiabilidade, dever ter um custo baixo a ponto de não aumentar o preço final dos produtos agrícolas e de não onerar excessivamente o poder público.

A análise de **águas subterrâneas** avaliar a qualidade de água para abastecimento humano ou para estudo de remediação de áreas degradadas,

requer alto grau de exatidão nos resultados, uma vez que os riscos e os custos são muito elevados. A decisão de remediar uma área ou não, e a demonstração da eficiência do método utilizado nesta remediação pode ocorrer ao nível de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1} .

Para controle de qualidade de **efluentes industriais** requer resultados com exatidão aceitável e essencialmente rapidez na obtenção destes resultados. Um outro requisito é a ampla faixa de trabalho, que deve permitir determinações de amostras antes de qualquer tratamento coletadas diretamente no processo industrial com concentrações elevadas do analito e de amostras após segregação e tratamento, que pode requerer determinações ao nível de $\mu\text{g L}^{-1}$ ou ng L^{-1} .

Buscando atender a estes requisitos, muitas técnicas de preparação, concentração e purificação de amostras e de identificação e quantificação do analito tem sido propostos na literatura especializada (AHMED, 2001; DEAN *et al.*, 1996; BALLINOVA, 1996.).

Na preparação, concentração e purificação das amostras a SPE vem se desenvolvendo em diversos aspectos: formatos, fases, automação, produtividade e configuração dos novos procedimentos. Na área ambiental a tendência é a extração de muitos analitos simultaneamente, com uma faixa ampla de polaridades, seguida de separação cromatográfica para reduzir o tempo e o custo do monitoramento ambiental. A SPE é aceita como uma alternativa para preparação de amostras em muitos protocolos do US-EPA para análises de compostos orgânicos em água potável e efluentes industriais (HENNION, 1999).

Na identificação e quantificação dos analitos as técnicas mais promissoras são as que envolvem a Cromatografia acoplada à Espectrometria de Massas.

Para compostos polares a Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas - LC-MS - (do inglês, *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*) , por trabalhar em temperatura mais baixas, trabalhar com compostos de massa molecular maior e com compostos não voláteis, tem recebido grande empenho do desenvolvimento de aplicações (HARRIS, 1999; REEVE, 2002; REDANT, 1994; HOGENDOORN, 2000).

Já para compostos apolares, relativamente voláteis e térmicamente estáveis, a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas - GC-MS - continua se desenvolvendo cada vez mais, especialmente nas determinações simultâneas de muitos compostos de classes e com propriedades diferentes (HARRIS, 1999; REEVE, 2002; REDANT, 1994).

O atual nível de desenvolvimento, simplificação e redução de custos dos espectrômetros de massas comerciais vêm permitindo cada vez mais o uso desta técnica analítica como detector acoplado a Cromatografia Gasosa, com vantagens significativas sobre outros detectores usados em conjunto com esta técnica.

É crescente o número de publicações que usam a técnica GC-MS para análise de qualitativa e quantitativa de inúmeros analitos nos mais variados tipos de amostras/matrizes.

A principal vantagem do uso desta técnica é a possibilidade de ter um detector ao mesmo tempo qualitativo, universal, seletivo, específico e sensível para o analito ou grupo de analitos de interesse.

O detector pode ser considerado **qualitativo** à medida que, através do espectro de massas, é possível identificar o analito ou analitos da amostra.

Obviamente a “identificação” pela simples comparação do espectro com uma biblioteca de espectros ou pela interpretação do mesmo, serve apenas como uma informação inicial sobre a natureza do composto presente na amostra ou para “*screening*” dos contaminantes presentes uma amostra desconhecida. A confirmação da presença de um composto na amostra, somente poderá ser obtida pela comparação com padrões analíticos confiáveis e submetidos aos mesmos processos de preparação e determinação que a amostra, preferencialmente padrões dos compostos marcados com radioisótopos (deuterados) que são adicionados a amostras e diferenciados pelo MS.

O espectrômetro de massas pode ser considerado um **detector universal** uma vez que, dentro de sua faixa de massas, pode detectar qualquer analito que elua da coluna, desde que este analito seja suficientemente estável e volátil para permitir sua separação por Cromatografia Gasosa.

O detector de condutividade térmica é um detector universal, pois qualquer molécula que elua da coluna junto com o gás de arraste, provocará a perda de calor do filamento, gerando sinal para o registrador. Um exemplo de detector quase universal usado na Cromatografia Gasosa é o FID (do inglês , *Flame Ionization Detector*) no qual qualquer analito que elua da coluna e que possa ser queimado na chama deste detector, produzirá sinal para o registrador.

A **seletividade** do espectrômetro de massas vem do fato de que grupos de compostos orgânicos geram ao serem fragmentados nos MS grupos de íons característicos, como por exemplo os compostos clorados ou fragmentos característicos com mesma razão m/z . Os espectrômetros modernos permitem a varredura de massas somente para estes segmentos ou íons, provendo uma informação seletiva sobre os grupos de compostos presentes na amostra.

A **especificidade** do detector MS vem da capacidade de selecionar para um determinado compostos o(s) íon(s) característico(s) ao longo do cromatograma, muitas vezes obtendo um único pico para o composto. Adicionalmente a possibilidade do uso da Espectrometria de Massas acoplada à Espectrometria de Massas (MS/MS ou MS_n) por sua vez acoplada a Cromatografia Gasosa aumenta ainda mais esta especificidade, reduzindo a incerteza sobre a identificação do composto.

Na técnica MS/MS o analito é fragmentado, um íon específico (pai) é selecionado e novamente fragmentado, gerando um espectro MS/MS (filho) usado para identificação e quantificação do analito.

Os atuais espectrômetros de massas comerciais aliados a cromatógrafos modernos, usando colunas capilares de alta eficiência, injetores mais eficientes na transferência da amostra para coluna, sistemas automáticos de introdução da amostra e dotados de controle aprimorado de temperatura e fluxo de gases permitem atingir **sensibilidade** para detectar quantidades absolutas de até 0,5 picogramas do analito.

2.5. Amostragem de pesticidas

A coleta e a preservação da amostra são etapas fundamentais na análise de compostos orgânicos em concentrações de $\mu\text{g L}^{-1}$ em amostras aquosas.

A técnica de amostragem tem que ser estatisticamente representativa, para permitir a interpretação correta dos resultados.

O processo de amostragem deve garantir ainda que a matriz e o analito contidos nesta, permaneçam relativamente inalterados desde o momento da coleta até o final da análise. Incluindo aqui a estabilidade dos extratos obtidos.

Existem métodos estatisticamente corretos para determinar o tamanho da amostra para caracterizar uma população e o número de determinações repetidas para obter um resultado com a confiança apropriada a partir das medidas realizadas. (DEAN, 2003; VOGEL, 1992).

Na aplicação de rotina do método proposto em amostras reais é altamente recomendável o correto dimensionamento dos parâmetros de amostragem e intervalos de confiança dos resultados obtidos.

2.6. Técnicas de extração e pré-concentração

O conceito de que a LLE é uma técnica cara, trabalhosa e demorada, já é amplamente divulgado nas publicações científicas atuais. Apesar deste procedimento apresentar bons resultados para uma grande variedade de compostos, apresenta limitações para compostos relativamente polares, sendo limitada para aplicação de misturas de compostos com características diferentes.

Além do analito alvo da amostra, a LLE extrai quaisquer outros compostos orgânicos com propriedades semelhantes na amostra, que poderão interferir na identificação ou quantificação do analito, requerendo a etapa de purificação da amostra, o que representa mais custo, tempo e trabalho e uma fonte de erros no procedimento analítico.

Muito esforço vem sendo despendido no desenvolvimento de técnicas alternativas para extração do analito da amostra/matriz.

McNEIL *et al.* (1977) desenvolveram um método para análise de pesticidas organoclorados em água potável, usando uma resina tipo XAD-2. Os autores passaram de 100 a 300 litros de amostra através um uma coluna com resina XAD-2 a eluição foi feita com hexano e o extrato foi evaporado até um volume final de 0,3 mL. A separação cromatográfica foi realizada com coluna empacotada (4% QF-1 e 2% de SE-30 sobre Chromosorb W 80-100 mesh e a detecção foi realizada usando ECD ^{63}Ni). Foi ainda realizada uma análise confirmatória usando espectrometria de massas usando monitoramento de íons. Os compostos analisados foram do α -BHC, Lindano, Heptaclor, Heptaclor epoxido, o,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT, p,p'-DDE, Aldrin, Clordano, Dieldrin, Endrin, Dibutil ftalato e Di(2-etilhexil) ftalato. As recuperações obtidas ficaram entre 71 e 129 % e foram obtidos limites de detecção de até $0,0001 \text{ ng L}^{-1}$ em função do grande fator de pré-concentração da amostra.

FONT *et al.* (1993) apresentaram uma revisão sobre SPE em análise de pesticidas em água. Nesta revisão, foram discutidos os mecanismos da extração em fase sólida, adsorção e partição, e também os fatores que afetam a SPE: tipo de água, volume de amostra, pH e o tratamento do sorvente (ativação, lavagem e dessorção).

CHIRON *at al.* (1993) compararam SPE e LLE para monitoramento de 30 pesticidas e vários produtos de degradação destes, em amostras ambientais. A SPE *on-line* foi realizada usando discos de extração de 4,6 mm impregnados com resina C18 ou estireno-divinilbenzeno e a determinação foi realizada usando Cromatografia Líquida e detectores de UV e Fluorescência, este último com derivatização pós-coluna. A confirmação foi feita usando LC-MS nos modos positivo e negativo. O procedimento proposto usando a SPE, apesar de produzir uma maior interferência na detecção por UV, por não extrair as substâncias húmicas da matriz, permitiu a determinação de diversos compostos em concentrações de $0,01$ e $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

NORÉN *et al.* (1993) apresentaram uma revisão sobre os mecanismos de partição líquido-gel para extração e concentração de contaminantes

organoclorados em diversas matrizes. Estas técnicas têm sido cada vez mais utilizadas, muitas vezes em conjunto com outros métodos de extração tais como SPE e LLE, pois permitem uma maior separação de contaminantes do extrato, especialmente em matrizes complexas, tais como urina, sangue, bile, etc., utilizando quantidades muito pequenas de amostra.

JENKINS *et al.* (1994) determinaram explosivos nitroaromáticos e nitramínicos em amostras de água, comparando SPE e extração por solvente tipo “*salting-out*”. Neste processo é adicionado Cloreto de Sódio até quase o ponto de saturação da amostra para deslocar o equilíbrio químico melhorando a eficiência da LLE, no caso, realizada com acetonitrila. O procedimento proposto levou à recuperações entre 93 e 105 % para SOE e de 81 a 116 % para SPE, com Limites de Quantificação entre 0,052 e 0,22 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,042 e 0,27 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

COLINA *et al.* (1995) utilizaram SPE seguida de GC-ECD e PID para análise de pesticidas (organoclorados, organofosforados e outros para os quais o ECD é sensível) em amostras de água subterrânea. A extração foi feita em uma única etapa usando cartuchos de C18. A faixa linear de trabalho ficou entre 3 a 35 $\mu\text{g L}^{-1}$, as recuperações ficaram acima de 90% com Limites de Detecção entre 1 e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$.

MUKHERJEE E GOPAL (1996) apresentaram uma revisão sobre as técnicas cromatográficas para análises de resíduos de pesticidas organoclorados, onde descreveram várias técnicas de extração e purificação do analito da amostra, com destaque à SPE pela economia, redução de mão-de-obra, reprodutibilidade e recuperação de analitos, além de aspectos da validação da metodologia e da separação cromatográfica dos analitos.

DEAN *et al.* (1996) apresentaram uma revisão para extração e subsequente análise cromatográfica de triazinas em amostras ambientais onde discutem a LLE, a LSE (Extração Líquido Sólido, do inglês *Liquid Solid Extraction*), a SPE, a SFE (Extração por Fluido Supercrítico, do inglês *Supercritical Fluid Extraction*), a Extração por Ultrassom e a SPME (Micro Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid Phase Micro Extraction*). Apresentando aspectos relativos à Cromatografia Gasosa e Líquida acopladas ou não à Espectrometria de Massas, Cromatografia

Gasosa com detecção por Espectrometria de Emissão Atômica, Cromatografia de Íons, Cromatografia de Camada Delgada de Alta Eficiência e Cromatografia com Fluido Supercrítico. Além das propriedades de diversos compostos pertencentes a esta classe, o artigo sumariza os resultados por diferentes autores usando as técnicas abordadas.

BALINOVA (1996) elaborou uma revisão sobre as estratégias analíticas para análises de resíduos de pesticidas em água. Este artigo procura listar as técnicas atuais de preparação da amostra (extração, concentração e limpeza) e separação cromatográficas requeridas para atingir níveis de quantificação e confiabilidade para assegurar a qualidade da água potável requerida pela legislação europeia atual.

CASTILO *et al.* (1997) avaliaram a persistência de pesticidas em águas naturais usando SPE e Cromatografia Líquida com Detecção por Arranjo de Diodos (LC-DAD) e por Espectrometria de Massas (LC-MS). Na etapa de validação as recuperações obtidas foram de 79 a 108% para a resina escolhida. O procedimento utilizado permitiu a avaliação dos tempos de meia vidas dos compostos em matrizes aquosas, que ficaram em 0,4 e 5 dias.

PIHLSTRÖM *et al.* (1997) desenvolveram um procedimento baseado em SPE-GC-NPD (NPD Detector de Nitrogênio e Fósforo, do inglês *Nitrogen-Phosphorous Detector*) para análises de pesticidas em água. Os Limites de Quantificação obtidos ficaram entre 0,05 e 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ e as recuperações em torno de 85%.

HENNION (1999) apresenta uma revisão sobre a SPE considerando o atual desenvolvimento desta técnica, dos sorventes e do acoplamento com HPLC. Este artigo descreve os mecanismos envolvidos na SPE e as características dos diferentes sorventes disponíveis comercialmente.

AVILLA (1999) apresentou uma revisão sobre a preparação de amostra para análises ambientais com destaque para as áreas da SFE, extração assistida por microondas, extração acelerada com solvente para amostras sólidas e SPE e SPME. São apresentados aspectos teóricos e práticos de cada técnica e as respectivas vantagens e desvantagens.

DOONG *et al.* (2000) desenvolveram e aplicaram um procedimento usando a SPME para análise de 16 hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em amostras de água. A SPME é apresentada como uma técnica mais prática, uma vez que é livre de solventes, usa pequenas quantidades de amostra e é altamente automatizável. Os Limites de Detecção obtidos foram da ordem de 0,03 a 0,59 $\mu\text{g L}^{-1}$. Este trabalho não apresentou os dados de recuperação dos compostos analisados.

AHMED (2001) apresenta uma revisão onde é discutida a importância do pré-tratamento da amostra, da extração e da purificação (*clean-up*) em procedimentos de análises resíduos de pesticidas. Também são discutidas as técnicas de quantificação e identificação destes resíduos.

NAMIESNIK (2002) apresentou uma revisão sobre as técnicas de preparação de amostras para Cromatografia Gasosa, com ênfase nas características dos sistemas usados na injeção ou transferência da amostra para o sistema cromatográfico.

MOURABIT *et al.* (2002) desenvolveram um procedimento para determinação de pesticidas usando SPE-GC-ITD-MS. As recuperações obtidas se aproximaram de 100%. Devido a interferência da matriz um processo de purificação dos extratos usando florisil foi empregado.

STAJNBAHER *et al.* (2003) desenvolveram um procedimento multiresíduo para determinação simultânea de 90 pesticidas em frutas e vegetais utilizando SPE e determinação por GC-MS. Este artigo demonstra o potencial de purificação e concentração da SPE aplicada aos extratos em acetona diluídos em água, com recuperações obtidas acima de 80%. Cabe ainda salientar que os resíduos analisados apresentavam grande variação nas propriedades físico-químicas.

RUI *et al.* (2004) apresentaram uma revisão sobre os mecanismos de retenção de compostos básicos de uma coluna cromatográfica com fase polimérica. São discutidas diferentes condições de pH e de equilíbrios que afetam estes mecanismos.

SAKAMOTO & TSUTSUMI (2004) otimizaram um procedimento para determinação de 174 pesticidas usando a SPME e GC-MS. Apresentam uma

comparação entre os resultados obtidos por este método em comparação com os obtidos pela extração SPE.

2.7. Procedimentos cromatográficos acoplados à Espectrometria de Massas

A Espectrometria de Massas é uma técnica de detecção amplamente utilizada em Cromatografia Gasosa permitindo a obtenção de informação qualitativa e quantitativa a respeito dos componentes de uma mistura (HARRIS, 2001).

Os primeiros experimentos relatados com Espectrometria de Massas remontam ao final do século XIX, mas especificamente em 1898 quando foi demonstrado que um feixe de íons positivos poderia ser desviado de sua rota por meio de campos magnéticos e elétricos. Mais tarde, utilizou-se esta técnica para demonstrar a existência de dois isótopos de neônio. Já em 1930 o desenvolvimento dos equipamentos de Espectrometria de Massas foi suficiente para permitir o registro de massas e da abundância de íons orgânicos, sendo que um dos primeiros usos industriais foi na indústria do petróleo. Inicialmente, a técnica somente se prestava a determinação de massas moleculares e foi somente a partir de 1960 que a Espectrometria de Massas passou a ser utilizada na Química Orgânica para obtenção de informações sobre a estrutura dos compostos, através da interpretação dos espectros de massas (GOTTLIEB, 1968).

Segundo SKOOG e LEARY (1992) a Espectrometria de Massas é uma das técnicas analíticas mais importantes, uma vez que é capaz de prover informação sobre:

- a) composição qualitativa e quantitativa de analitos orgânicos e inorgânicos em misturas complexas;
- b) as estruturas de uma grande variedade de espécies moleculares complexas;

- c) razão isotópica de átomos em amostras;
- d) a estrutura e composição de superfícies sólidas.

Quando combinada à Cromatografia, a Espectrometria de Massas apresenta as seguintes características:

- O espectrômetro pode ser altamente seletivo para o constituinte de interesse;
- Requer menor preparação da amostra;
- A separação cromatográfica não precisa ser completa, pois é possível a separação do sinal de cada composto pelos seus íons característicos;
- Melhor razão sinal/ruído e conseqüentemente permite obter menores LODs e LOQs.

O sistema básico de um espectrômetro de massas, representado na Figura 1, é composto por: sistema de injeção da amostra, fonte de íons, analisador/separador de massas, detector e sistema de aquisição de dados (SKOOG & LEARY, 1992).

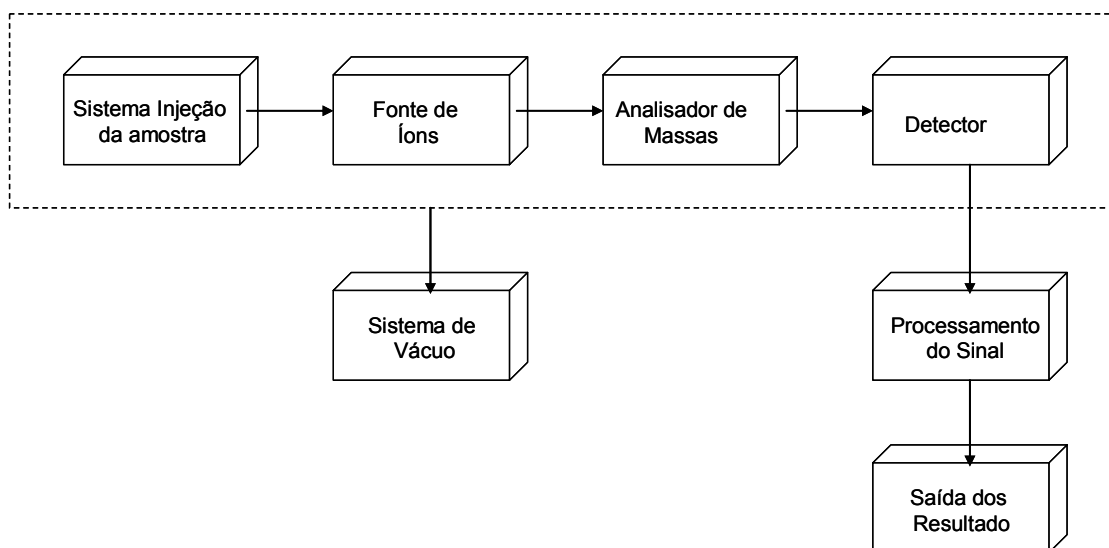


FIGURA 1: Componentes básicos de um espectrômetro de massas.

Quando o espectrômetro de massas é utilizado sozinho como técnica qualitativa ou quando acoplado a um Cromatógrafo a Gás, as moléculas do analito no estado gasoso são ionizadas (geralmente para formarem cátions),

aceleradas por um campo elétrico, e então separadas de acordo com sua massa (HARRIS, 2001).

Resolução é a capacidade de um espectrômetro de massas diferenciar entre massas, considerando dois picos adjacentes e cuja altura do vale entre eles não é maior que 10% de suas alturas. São ditos de baixa resolução os espectrômetros de massas capazes de diferenciar unidades de massas. Já os equipamentos de alta resolução conseguem diferenciar até quatro casas decimais (SKOOG E LEARY, 1992).

Uma técnica já bem conhecida para identificação de um compostos usando as técnicas cromatográficas é a injeção em duas diferentes colunas cromatográficas com características de retenção diferentes, sendo confirmada a identidade de um composto se este apresentar os tempos de retenção esperados em ambas as colunas (BRINKMAN, 1996). Porém o próprio sistema MS produz a identificação do composto analisado, dispensando este procedimento.

2.7.1. Tipos de espectrômetros de massas

A seguir estão descritos os diferentes sistemas empregados para separação dos íons gerados na durante o processo de ionização, no Apêndice 1 são apresentadas figuras esquemáticas dos mesmos.

a) Quadrupolo

O espectrômetro de massas quadrupolar ou analisador de massas quadrupolar consiste em quatro barras paralelas arranjadas em um quadrado. Os íons do analito são direcionados ao centro do quadrado. São aplicadas voltagens às barras para gerar campos eletromagnéticos determinando quais razões massas/carga podem passar pelo filtro em um dado tempo, chegando ao detector (SKOOG & LEARY, 1992).

b) Ion Trap

Um analisador de massas do tipo Ion Trap (armadilha de íons) é formado por um eletrodo circular e dois cones, que formam uma câmara. Os íons que entram ou são formados no interior da câmara são “capturados” por campos eletromagnéticos. Aplicando-se outros campos magnéticos pode-se ejetar seletivamente os íons em direção ao detector (Agilent, 2001).

c) TOF

Nos analisadores de massas do tipo tempo de voo (TOF, do inglês *Time of Flight*), uma força eletromagnética uniforme é aplicada a todos íons ao mesmo tempo, causando sua aceleração através do tubo de voo. Íons mais leves viajam mais rápido e chegam ao detector primeiro, sendo portanto, as razões de massa/carga determinadas pelos tempos de chegada ao detector. Analisadores de massas TOF tem uma faixa de massas mais ampla e são bastante precisos nas massas medidas (Agilent, 2001).

d) Setor magnético

Este tipo de espectrômetro tem um setor magnético curvo (180, 90 ou 60°) no qual passam os íons formados na fonte de íons, que são posteriormente acelerados. Durante a passagem pelo setor magnético os íons maior massa levarão mais tempo para passar pelo setor magnético, gerando uma distribuição em função das massas moleculares, antes de atingirem o detector (SKOOG & LEARY, 1992).

e) Triplo Quadrupolo

O espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo é formado pela junção de três quadrupolos em seqüência. No primeiro um íon selecionado é separado da corrente de íons vinda da fonte de íons. No segundo quadrupolo este íon sofre nova fragmentação por colisão com íons de N₂ ou Ar. O terceiro quadrupolo seleciona então um dos íons formados para enviar ao detector (HARRIS, 2001).

2.7.2. Modos de operação

A seguir, serão descritos os modos de operação, ou seja, de que maneiras o espectrômetro de massas pode ser programado para aquisição dos dados.

a) Scan

Neste modo de operação o espectrômetro de massas é programado de forma a analisar todas as massas do seu espectro de operação ou dentro de uma faixa determinada de m/z . Por exemplo, de 50 a 650 m/z (VEKEY, 2001).

b) SIS ou SIM

No modo SIS (do inglês *Selected Ion Storage*) ou SIM (do inglês, *Single Ion Monitoring*) após a ionização o espectrômetro faz a separação de somente um íon específico, o que aumenta a sensibilidade uma vez que os íons correspondentes ao ruído são ejetados sem chegar ao detector. Em alguns equipamentos podem ser selecionados até três íons simultaneamente (VEKEY, 2001).

c) MS-MS, Tandem MS, MSⁿ

Dependendo do tipo de espectrômetro de massas esta técnica pode ser considerada como um modo de operação, como no caso do Ion Trap ou requer uma instrumentação diferente que é o caso do Triplo Quadrupolo.

Uma mistura de íons entra no primeiro quadrupolo (Q1), que deixa passar somente uma determinada massa para o segundo estágio, Q2. O segundo estágio é chamado célula de colisão induzida (CID, do inglês: *Collision Induced Cell*) preenchido com N₂ ou Ar a uma pressão de 0,1 Pa. O íon precursor selecionado em Q1 colide com o N₂ ou Ar com energia suficiente para se quebrar em fragmentos chamados resultantes. O quadrupolo Q3 seleciona apenas um tipo de íon resultante para passar para o detector (HARRIS, 2001).

Nos espectrômetros tipo Ion Trap o composto é fragmentado, o íon é selecionado dentro da câmara, as massas não desejadas são ejetadas, o íon selecionado sofre nova fragmentação, e os íons resultantes são ejetados para o detector. Como os íons ficam confinados em órbitas estáveis, este processo pode ser repetido mais vezes (MSⁿ) (VEKEY, 2001).

d) MRM

No modo de operação de monitoração de reações múltiplas (MRM – Multiple Reactions Monitoring) o espectrômetro é programado de forma que dois ou mais íons são separados (SIM) e estes íons são fragmentados novamente (MS/MS). É extremamente útil quando a separação cromatográfica não é completa (VEKEY, 2001).

2.7.3. Multiplicador de elétrons

Os íons formados e separados no espectrômetro de massas são detectados pelo multiplicador de elétrons, que é muito semelhante aos fotomultiplicadores utilizados para detecção de radiação ultravioleta ou visível. O tipo mais comum é o eletromultiplicador de dínodo contínuo, que tem a forma de uma trombeta de vidro revestida de chumbo. Um potencial de 1,9 a 3 kV é aplicado ao longo do detector. Os íons, ao colidir com as paredes da entrada ejetam elétrons que novamente colidem com as paredes curvas do detector ejetando mais elétrons a cada impacto. Um ganho de corrente entre 10^5 e 10^8 pode ser atingido (SKOOG E LEARY, 1992).

2.8. Aplicações da GC-MS na análise de pesticidas em água

FELTES *et al.* (1990) utilizaram SPE com resinas tipo XAD comparando com a LLE para determinação de compostos nitro-aromáticos em água. A separação e foi por Cromatografia Gasosa e a detecção por ECD e TEA. O GC-MS foi utilizado para confirmação dos compostos analisados.

REDANT (1994) apresenta um relatório sobre o 3º Simpósio Internacional sobre Técnicas hífenadas na Cromatografia, com destaque especial as técnicas LC-MS e GC-MS, além do acoplamento destas á SPE on-line.

RODRIGUEZ e CELA (1996) utilizaram a GC-MS para detecção de clorofenóis em água potável. Compararam a detecção no modo full scan e no modo MS-MS e outras técnicas. O procedimento apresentou boa repetitividade e atingiu Limites de Detecção entre 0,01 e 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$.

RODRIGUEZ e CELA (1997) desenvolveram um procedimento para determinação de clorofenóis em água, utilizando SPE e várias técnicas de detecção. Para SPE foram usadas fases de carbono grafitizado e copolímeros. Para quantificação e confirmação dos clorofenóis, além de outras técnicas, foi usado a GC-MS/MS. Técnica esta que permitiu a discriminação de clorofenóis que tem estrutura química muito semelhante.

HANKMEIER *et al.* (1998) desenvolveram procedimento para SPE on-line com posterior determinação por GC-MS, para um grupo de compostos com características bastante variadas, inclusive voláteis como o xileno e obtiveram boas recuperações em um nível de fortificação de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ usando apenas 10 mL de amostra.

LIEM (1999) apresentou uma revisão sobre o desenvolvimento dos métodos para análise de dioxinas em alimentos e tecidos humanos, com destaque para SPE, LC-MS e GC-MS. As amostras foram extraídas, solubilizadas em água e a SPE foi utilizada para purificação e concentração dos analitos a partir desta nova matriz aquosa. Neste trabalho foram ainda discutidos os aspectos da técnica MS/MS.

CONG e YE (1998) desenvolveram um procedimento para SPE, pré-derivatização e separação por Cromatografia Líquida com Detecção por Fluorescência para os pesticidas Atrazina e Simazina. Compararam os resultados desta técnica com a separação e detecção por GC-MS.

SCHRODER (1999) utilizou as técnicas de LLE e SPE, separação por LC e GC e detecção usando a MS, MS/MS, FIA-MS e FIA-MS/MS para investigação de resíduos de produtos farmacêuticos em águas tratadas em uma estação de tratamento biológico.

VIDAL *et al.* (2000) desenvolveram um procedimento para determinação de 12 pesticidas em água. Foi utilizada a SPE com cartucho contendo fase C18 e

detecção por GC-MS/MS, as recuperações obtidas ficaram entre 70 e 133% e os limites de detecção instrumentais foram de 2 a 26 $\mu\text{g L}^{-1}$.

DEGER *et al.* (2000) apresentaram um trabalho no qual são abordados problemas observados na aplicação de SPE com determinação por GC-MS. Os autores recomendam a adição padrão para contornar o problema de terem coextraído outros materiais na SPE.

CATALINA *et al.* (2000) desenvolveram um método para análise de herbicidas clorofenóxi-ácidos em amostras de água, usando derivatização *in situ* e LLE com injeção de grande volume *on column* com detecção por MS.

KELLY (2000) desenvolveu um procedimento para análise e esteróides em amostras de águas ambientais usando GC-IDD-MS e GC-ITD-MS/MS. A preparação da amostra foi feita usando disco para SPE e derivatização com N-metil-N-terc-butil-dimetil-silil-trifluoro-acetamida e butil-dimetil-cloro-silano. Os LOD obtidos chegaram a 1 ng L^{-1} .

MARQUEZ *et al.* (2001) utilizaram a SPE usando cartucho com C18, seguida de GC-ITD-MS/MS para detecção dos pesticidas ácido monocarboxílico do malation, metil-clorpirifós e malation em urina humana e em outras matrizes. As recuperações obtidas foram de 90 a 102% e foram obtidos LOQs de 0,24 ng L^{-1} .

QUINTANA *et al.* (2001) utilizaram a SPE e identificação e quantificação por GC-MS para monitoramento de resíduos de pesticidas em água potável e outras água no nordeste da Espanha. Ao todo o método permitiu a determinação de 22 compostos, as recuperações obtidas ficaram entre 47 e 131% e os LODs entre 0,005 e 0,060 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os autores determinaram a incerteza de medição associada ao método.

TERNES (2001) comparou as técnicas analíticas LC-MS/MS e GC-MS/MS para determinação de compostos de uso farmacêutico em amostras ambientais, sendo que a preparação das amostras envolveu SPE e derivatização.

HEBERER (2001) investigou a existência de resíduos persistentes de produtos farmacêuticos, em esgotos municipais e em água potável na cidade de Berlin, na Alemanha. Empregou a SPE, derivatização e GC-MS e GC-MS/MS.

TERNES *et al.* (2002) desenvolveram um procedimento para determinação de estrógenos em sedimentos e lodo de estação de tratamento de esgotos, usando extração líquida e determinação por GC-MS/MS.

SABIK *et al.* (2003) desenvolveram um procedimento para determinação de 13 pesticidas em água de superfície. Eles utilizaram SPE seguida de determinação por GC-MS com grande volume de injeção. As recuperações foram quase todas maiores que 60% e os limites de detecção chegaram à 0,1 a 0,8 ng L⁻¹.

MA *et al.* (2003) desenvolveram um procedimento para determinação de herbicidas do grupo das triazinas em amostras ambientais de água. Foram utilizados cartuchos contendo resina C18 e não foi utilizada purificação adicional da amostra antes da determinação usando GC-MS. A determinação quantitativa foi realizada somente para o herbicida triazina, sendo os demais compostos apenas identificados. O teste de recuperação apresentou um resultado de 90,5 ± 3,5% e LODs do procedimento chegaram a 1,67 ng L⁻¹.

BUIARELLI *et al.* (2003) determinaram a presença de trombolone e seu metabólito em fluidos bovinos usando LC-MS.

HOAI (2003) desenvolveu um procedimento para determinação dos produtos de degradação de nonilfenóis etoxilados e seus derivados halogenados usando SPE e GC-ITD-MS/MS após derivatização. As recuperações obtidas ficaram entre 83 e 111% e Limites de Detecção entre 2,9 e 18 ng L⁻¹.

SAFAROVA *et al.* (2003) empregaram a extração headspace seguida de separação por GC-MSD para quantificação de 53 compostos orgânicos voláteis em águas de superfície, esgotos e esgotos tratados até níveis de concentração de 0,1 µg L⁻¹.

RANTAKOKKO *et al.* (2004) descrevem as interferências decorrentes da matriz sobre a determinação por GC-MS dos análogos do 3-cloro-4-diclorofenil-5-hidroxi-2(5H)-furanone que contem bromo em água potável e apresentaram os meios possíveis para contornar este problema.

2.9. Parâmetros cromatográficos

A seguir são descritos os parâmetros cromatográficos utilizados para avaliar a separação dos analitos por Cromatografia Gasosa.

2.9.1. Fator de retenção (k)

É determinado pela razão entre o tempo em que as moléculas do analito ficam retidas na fase estacionária e o tempo que percorrem a coluna na fase Mmóvel, de acordo com a equação (1) (COLLINS, 1995; LANÇAS, 1993; PINTO, 1999):

$$k = \left(\frac{t_R - t_M}{t_M} \right) = \frac{t'_R}{t_M} \quad (1)$$

Onde:

t_R = tempo de retenção de um analito, que é o tempo transcorrido desde a injeção até a eluição do ponto máximo do pico;

t_M = tempo de retenção de um analito não retido;

t'_R = tempo de retenção ajustado.

Os valores ideais para k devem variar entre 1 e 10 para dois componentes, e para múltiplos componentes são aceitos valores entre 0,5 e 20 (LANÇAS, 1993; PINTO, 1999).

2.9.2. Resolução (Rs)

A resolução refere-se à separação de dois picos adjacentes e pode ser obtida pela equação (2) (LANÇAS, 1993; PINTO, 1999):

$$R_s = 2 \left(\frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{b1} + W_{b2}} \right) = 1,177 \left(\frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{h1} + W_{h2}} \right) \quad (2)$$

Onde:

t_{R1} e t_{R2} = tempo de retenção de dois picos adjacentes;

W_{b1} e W_{b2} = largura dos picos adjacentes na base, em unidades de tempo;

W_{h1} e W_{h2} = largura dos picos adjacentes a meia-altura, em unidades de tempo.

Considera-se que: $R_s = 1$ tem-se 98% de separação; $R_s = 1,25$ tem-se 99,5% de separação e $R_s = 1,5$ tem-se 100% de separação para picos gaussianos.

2.9.3. Fator de separação (α)

O fator de separação relaciona-se com a separação de dois picos adjacentes, sendo calculado pela razão entre os respectivos fatores de retenção que são, por sua vez, relacionados aos tempos de retenção ajustados, conforme a equação (3) (LANÇAS, 1993; PINTO, 1999):

$$\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} \quad (3)$$

O fator de separação mede a seletividade de um sistema cromatográfico. Assim, quanto mais seletivamente a fase estacionária reter o segundo componente que está sendo analisado, maior será o fator de separação. Se $\alpha = 1$, não existem diferenças termodinâmicas entre os dois componentes de um dado sistema e eles não podem ser separados. Entretanto, quando $\alpha > 1$ não significa

que os dois picos estão totalmente separados, porque eles podem ser largos e estarem sobrepostos. Consequentemente, um valor elevado de α só implica em boa separação se os picos forem estreitos (LANÇAS, 1993; PINTO, 1999).

2.10. Validação de procedimentos analíticos

Para garantir que um novo procedimento analítico gere informações confiáveis, exatas e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação (RIBANI *et al.*, 2004).

O laboratório ao empregar procedimentos emitidos por organismos de normatização, organizações reconhecidas na sua área de atuação ou publicados em livros ou periódicos, necessita demonstrar que tem condições de executar de maneira adequada estes métodos através da validação. (INMETRO, 2003).

O objetivo da validação de um procedimento analítico é demonstrar que este procedimento é aceitável para a aplicação analítica desejada (Francotte *et al.*, 1996).

2.10.1. Curvas analíticas e linearidade

A concentração de uma amostra não é uma grandeza física observável. Em um processo cromatográfico qualquer, a concentração sempre é obtida de forma indireta, a partir de medidas de outras grandezas e por comparações é obtida a concentração real na amostra. Isto significa que para chegar ao valor final da análise, é preciso antes encontrar uma função que relacione as medidas efetivamente realizadas com a concentração procurada. Portanto, em qualquer análise quantitativa é necessário fazer uma calibração (PIMENTEL & BARROS, 1996).

Usualmente se busca obter uma relação linear entre a resposta medida e a concentração do analito, introduzindo assim o conceito de linearidade:

Linearidade é a habilidade de um método analítico produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostra, em uma dada faixa de concentração (INMETRO, 2003).

A relação matemática entre a resposta medida e a concentração do analito nestes casos (modelo linear) pode ser descrita pela equação da reta (x) (INMETRO, 2003):

$$y = ax + b \quad (4)$$

Onde:

y = resposta medida (absorvância, área do pico, etc..)

x = concentração

a = inclinação da curva de calibração

b = intersecção com o eixo y , quando $x = 0$

O grau de concordância entre a variável independente x e a variável dependente y é dado pelo coeficiente de correlação r , que deve assumir valores o mais próximo possível de -1 e $+1$ (JEFFERY *et al*, 1992).

O valor de r é calculado pela equação:

$$r = \frac{n \sum x_1 y_1 - \sum x_1 \sum y_1}{\sqrt{\left[n \sum x_1^2 - (\sum x_1)^2 \right] \left[n \sum y_1^2 - (\sum y_1)^2 \right]}} \quad (5)$$

Mais comumente utilizado para determinar a adequação do ajuste dos dados, usa-se o coeficiente de determinação r^2 , que nada mais é que do que o quadrado do coeficiente de correlação e indicação o percentual da variabilidade de y que é explicado pela variação de x .

Para avaliação da linearidade das curvas analíticas calcula-se a razão entre o sinal (S) e a concentração (Q), definida por $(S/Q)_i = (S_i - b)Q_i$; onde a razão sinal/concentração para o i -ésimo ponto da curva analítica, $(S/Q)_i$ é calculada a partir do sinal medido S_i , da concentração Q_i , correspondente e do intercepto da curva analítica b . A definição exata dos valores S e Q depende da técnica analítica; no caso da cromatografia a curva analítica é geralmente, construída através dos parâmetros área do pico e concentração (PRIMEL, 2003).

Em muitos métodos analíticos, os dados apresentam um comportamento não linear, tornando impossível prever ou explicar estes dados através de uma equação linear. Se estes dados tiverem um comportamento curvilíneo característico, normalmente pode-se adotar uma equação polinomial, do tipo (MILLER, 1991):

$$y = a + bx + bx^2 + bx^3 + \dots$$

Da mesma maneira que o modelo linear, este modelo pode ser avaliado pelo cálculo do coeficiente de correlação ou determinação porém não se aplicando o teste de linearidade.

Um teste mais robusto para testar se o modelo de calibração, seja ele linear ou polinomial, é capaz de descrever corretamente os dados, indicando a validade do modelo e a significância estatística é a Análise de Variância, que permite efetuar o exame dos resíduos, o que é fundamental para avaliação da qualidade do ajuste de qualquer modelo (MILLER, 1991; BENÍCIO, 1995).

Os elementos de cálculo para análise de variância, estão apresentados na Tabela 4 (BENÍCIO, 1995; PIMENTEL E BARROS, 1996; MASSART, 1989).

Tabela 4: Elementos de cálculo da ANOVA.

Fonte de Variação	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F
Regressão	$SQ_{reg} = \sum_i^m \sum_j^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2$	p-1	$MQ_{reg} = \frac{SQ_{reg}}{p-1}$	$\frac{MQ_{reg}}{MQ_{res}}$
Resíduos	$SQ_{res} = \sum_i^m \sum_j^n (y_{ij} - \hat{y}_i)^2$	n-p	$MQ_{res} = \frac{SQ_{res}}{n-p}$	
Falta de Ajuste	$SQ_{faj} = \sum_i^m \sum_j^n (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$	m-p	$MQ_{faj} = \frac{SQ_{faj}}{m-p}$	$\frac{MQ_{faj}}{MQ_{ep}}$
Erro Puro	$SQ_{ep} = \sum_i^m \sum_j^n (y_i - \bar{y}_i)^2$	n-m	$MQ_{ep} = \frac{SQ_{ep}}{n-m}$	
Total	$SQ_T = \sum_i^m \sum_j^n (y_{ij} - \bar{y})^2$	n-1		
% de variação explicada	$\frac{SQ_{reg}}{SQ_T}$			
% máxima de variação explicável	$\frac{SQ_T - SQ_{ep}}{SQ_T}$			

2.10.2. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Um dos principais pontos de discussão é a definição cientificamente correta do limite mínimo, em concentração, no qual é possível afirmar que o analito está presente em uma determinada amostra (matriz), ou seja, a definição de limite de detecção.

O segundo ponto é a definição da concentração mínima a qual um analito pode ser quantificado em uma determinada amostra/matriz, com um determinado grau de confiança. Este seria o conceito de limite de quantificação.

Um conceito que vem sendo cada vez mais utilizado é o *Reporting Limit* (Limite de Reportagem), bem mais conservador que o Limite de Quantificação, é uma forma mais segura de assegurar o resultado, especialmente em análises de rotina onde a comprovação prática e repetida do LOD e LOQ, pode consumir muito tempo e mão de obra.

O *Reporting Limit* considera o menor padrão da curva de calibração, sendo que o sinal deste atinge os critérios de LOD e LOQ e seu sinal encontra-se dentro da faixa de trabalho e atinge os critérios de linearidade e ajuste da curva. A partir do fator de concentração obtido para amostra na etapa de preparação e da demonstração prática em amostras sintéticas ou fortificadas, é estabelecido o *Reporting Limit*, sempre abaixo do parâmetro de aceitação, controle ou valor máximo permitido para concentração do analito na amostra. Constitui-se portanto um limite seguro de aceitação ou rejeição dos resultados, não exigindo o máximo da técnica analítica a disposição na demonstração de rotina do LOD e LOQ. Mas por outro lado, garantindo que os resultados estão abaixo dos limites aceitáveis. Este conceito é bastante útil em métodos multi-resíduos, onde são determinados vários compostos de diferentes classes orgânicas simultaneamente.

O LOD é a menor concentração do analito detectada pelo procedimento em estudo e é geralmente expressa em unidade de concentração. LOQ é a menor concentração de soluto que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis nas condições experimentais e também é geralmente expressa em unidades de concentração (FRANCOTTE, 1996).

Francotte (1996) propõe uma metodologia para determinação do LOD e do LOQ baseado na medição do ruído da linha de base antes e depois do pico de interesse e da altura do próprio pico.

No sinal obtido com o GC-MS e os valores da linha de base podem aparecer censurados, ou seja, o software automaticamente considera um sinal menor que um determinado valor como zero.

Uma outra característica do sinal obtido é que muitas vezes não se obtém um pico bem resolvido para os compostos, especialmente em concentrações muito baixas, e o software considera o sinal do íon pertencente a um espectro de massas característico na janela de tempo de integração.

Dadas estas características do sinal obtido, optamos pelo cálculo do LOD e LOQ por procedimentos estatísticos, conforme proposto na literatura (INMETRO, 2003; EURACHEM, 1998).

O INMETRO (2003) diferencia o conceito de LOD para o equipamento (LDE, Limite de Detecção do Equipamento) e para o método analítico (LDM, Limite de Detecção do Método). Para o primeiro considera que o analito deve produzir um sinal de três a cinco vezes o do ruído do equipamento. Para determinação do LDM é proposta a seguinte fórmula:

$$\text{LDM} = X_m + t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot (s)$$

Onde:

X_m = média dos valores dos brancos de amostra.

$t_{(n-1, 1-\alpha)}$ = valor tabelado de t para o grau de confiança desejado considerando n-1 graus de liberdade.

s = desvio padrão dos resultados de determinações em replicada, sendo no mínimo 7 brancos de amostra ou 7 brancos com a menor concentração aceitável do analito.

Já o limite de quantificação é calculado pela fórmula:

$$\text{LOQ} = X_m + 10s$$

Onde:

X_m = média dos valores dos brancos de amostra.

s = desvio padrão dos resultados de determinações em replicada, sendo no mínimo 7 brancos de amostra ou 7 brancos com a menor concentração aceitável do analito.

Em ambos os casos $X_m = 0$ se forem usados os resultados da menor concentração de padrão.

Já o Eurachem Guide (1998) propõe a determinação do LOD usando a seguinte equação:

$$\text{LOD} = 0 + 3s$$

Onde

x_m = média dos resultados dos brancos da amostra

s = desvio padrão dos resultados de brancos da amostra.

Para o cálculo do LOQ multiplicando-se o valor o desvio padrão dos brancos por 10 e somando ao valor encontrado para o branco.

$$\text{LOQ} = 0 + 10s.$$

A definição do Limite de Detecção está baseada no trabalho de Currie neste campo da química analítica. Um histórico descrevendo este trabalho foi elaborado pelo US-EPA na forma de uma revisão das informações disponíveis sobre este tema (US-EPA, 2003). Neste trabalho está muito bem definido o conceito estatístico de LOD e do LOQ, demonstrado na Figura 2:

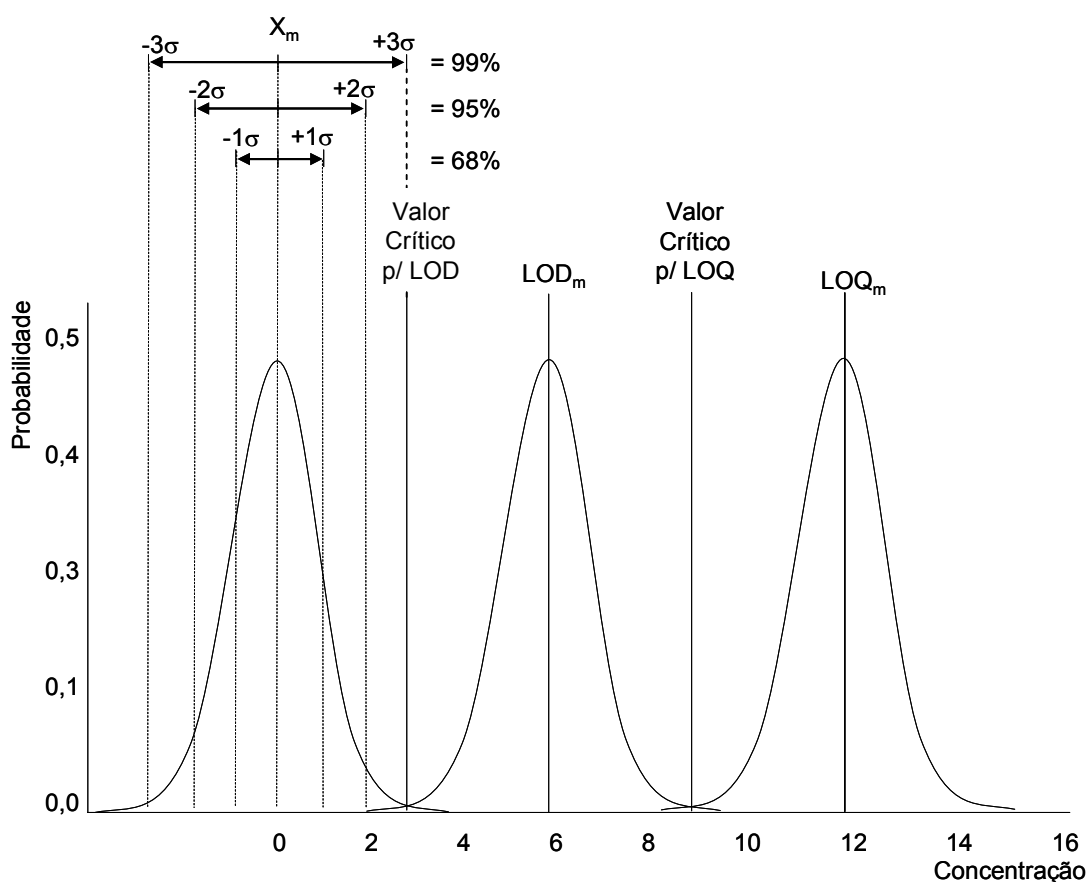


Figura 2: Demonstração da distribuição estatística normal para o valor zero, LOD e LOQ (Adaptado de US-EPA, 2003).

Considerando que os valores da medição repetitiva de uma amostra em branco se distribuem normalmente em torno do valor zero, teremos como Valor Crítico o valor acima do qual é possível afirmar com 99% de confiança que existe alguma concentração do analito na amostra, e que corresponde ao limite para lado direito da curva de distribuição normal dos valores medidos para concentração zero.

Como é esperado que os valores medidos no LOD também se distribuem normalmente, temos a segunda curva, cujo centro (média) representa o valor numérico do LOD. Em termos práticos para 7 replicatas, que é o n mínimo com significância estatística comumente aceito, teremos $n-1 = 6$ graus de liberdade. Se considerarmos um grau de confiança de 99% o valor de $t_{(0,01)}$ tabelado será de 3,143 e o valor do LOQ poderá ser calculado como $X_m + 3,14s$, onde s é o desvio padrão das medições do branco e X_m a média dos resultados do branco. Simplificadamente é dito o sinal correspondente a 3 vezes o desvio padrão do branco.

Já a terceira curva correspondente ao LOQ, segue o mesmo princípio, ou seja, precisa ser estatisticamente diferente do valor de LOD. Novamente considerando 7 replicatas, $n-1 = 6$ graus de liberdade e um valor de $t_{(0,01)} = 3,146$, teremos $LOQ = X_m + 3,143 \times 3,143 \times s$. Onde s é o desvio padrão das medições do branco e X_m a média dos resultados do branco. Como $3,143 \times 3,143 = 9,85 \cong 10$ diz-se 10s, e portanto, o sinal correspondente a 10 vezes o desvio padrão do branco.

Este procedimento de cálculo para o LOQ pressupõe que o desvio padrão (s), é constante na faixa de concentração entre o branco (concentração=0) e a concentração do padrão correspondente ao LOQ, Se o desvio padrão não for constante X_m e s deverão ser calculados a partir da injeção de padrões.

Na cromatografia, por simplificação, é normalmente considerado o pico com relação sinal/ruído 3 para LOD e um pico com relação sinal/ruído 10 para LOQ, sendo este valor obtido do software que processa automaticamente o sinal. Neste trabalho LOD e LOQ foram calculados pelo método estatístico em função do tipo de sinal obtido no sistema GC-MS.

2.10.3. Recuperação

A Recuperação (ou fator de recuperação), R, é definida como a proporção da quantidade do analito, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (THOMPSON, 1999).

A recuperação (R) foi calculada pela equação 6 (CAUSON, 1997):

$$R(\%) = \frac{\text{massa ou concentração obtida} \times 100}{\text{Massa real}} \quad (6)$$

Normas de Referência para análises de princípios ativos, estabelecem critérios bastante flexíveis para aceitação de resultados de recuperação em métodos multiresíduos. O protocolo do US-EPA 8270C (US-EPA, 1996) apresenta dados de recuperação considerados aceitáveis para valores entre Detectado (maior que zero) e 200% para vários compostos (DDT, Endrin Aldeído, Hexaclorobenzeno, e outros).

Já protocolo de análises US-EPA 525.2 (US-EPA, 1995), propõe uma faixa aceitável de 70 a 130% e apresenta dados de recuperação e precisão para fortificações entre 0,5 e 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ de 80 compostos diferentes, onde a maioria tem recuperações nesta faixa, com exceção de alguns compostos que apresentam recuperações aceitas de 21 (Atraton) à 159% (Hexazinona).

Alguns procedimentos mais modernos estabelecem faixas de aceitação em função da concentração a ser analisada, como por exemplo no Guidelines for Single-laboratory Validation of Analytical Methods for Trace-level Concentration of Organic Compounds (FAO, 1999) onde para concentrações menores que 1 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ou $\mu\text{g L}^{-1}$ a recuperação aceita fica entre 50 a 120%.

2.10.4. Exatidão

Exatidão do método é definida com sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos (INMETRO, 2003).

A exatidão é expressa em porcentagem de erro sistemático, podendo ser calculada pela equação 7 (CAUSON, 1997):

$$\text{Exatidão (\%)} = \frac{\text{valor real} - \text{valor obtido} \times 100}{\text{valor real}} \quad (7)$$

2.10.5. Precisão

A precisão determina o desvio nos resultados de uma análise e é um dos critérios mais importantes para o julgamento do desempenho de um procedimento analítico.

Precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas (INMETRO, 2003).

A precisão é geralmente expressa em termos de repetitividade e precisão intermediária.

Repetitividade é o grau de concordância entre os resultados de medições repetidas de um mesmo mensurando, efetuadas sobre as mesmas condições de medição: mesmo procedimento de medição, mesmo observador, mesmo instrumento usado nas mesmas condições, mesmo local e curto espaço de tempo. (FRANCOTTE, 1996; INMETRO, 2003).

A **Precisão Intermediária** refere-se à precisão avaliada sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo

laboratório ou em laboratórios diferentes, variando uma das seguintes condições: diferentes analistas, diferentes equipamentos ou diferentes tempos (FRANCOTTE, 1996; INMETRO, 2003).

O valor numérico usado para avaliar a precisão é o desvio padrão relativo, (RSD, do inglês: Relative Standard Deviation), e pode ser calculado pela equação 8 (CAUSON, 1997).

$$\text{RSD} = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad (8)$$

Onde:

s = estimativa do desvio padrão absoluto: $s = \{\sum(x_i - x_m)^2 / N - 1\}^{1/2}$; x_i = valores individuais; x_m = média das medidas em replicatas e N = número de medidas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Instrumentação

Cromatógrafo a gás Varian modelo 3800 (Estados Unidos), equipado com injetor Varian modelo 1079 com insersor (liner) de quartzo silanizado e coluna analítica CP Sil 8 MS low bleed de 30 m de comprimento x 0,25 mm d.i. e filme de 0,25 μm (Varian, USA).

Amostrador automático modelo AS 8200 (Varian, USA) com carrossel para 48 vials.

Espectrômetro de massas modelo Saturn 2000 (Varian, USA) do tipo Ion Trap com opção MS/MS. Capaz de varredura de 10 a 650 m/z e ionização por impacto de elétrons (EI) a 70 eV.

Sistema de aquisição de dados Saturn GC/MS Workstation, version 5.51 (Varian, USA)

Balança Analítica modelo BP221s (Sartorius, São Paulo, Brasil)

Pesos padrão calibrados (Waagen, São Paulo, Brasil)

Estufa para secagem (Fanen, São Paulo, Brasil).

Sistema SPE Varian (Harbor City, USA) para pré-concentração simultânea de 20 amostras.

Proveta de Vidro Graduada Calibrada 100 mL (Pyrex)

Balão volumétrico calibrado, vários volumes (Brand)

Pipetas volumétricas Classe A calibradas, vários volumes (Brand).

Bomba de Vácuo para pressão negativa de 760 mm Hg (Plimar, São Paulo, Brasil).

Medidor de Fluxo (Varian, USA)

Tubo graduado Kuderna Danish Calibrado 10 mL

Seringa 10 μ L para Cromatografia (Hamilton, Reno, USA).

Frascos para amostras, 2 mL (12 x 32 mm) em vidro limpo com septo de silicone/teflon (Varian, USA).

3.2. Reagentes, solventes e amostras

A água usada no preparo de soluções e fortificações foi purificada por destilação em destilador de vidro e deionização em coluna trocadora mista.

Diclorometano Grau p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Acetona Grau p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Hexano p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Metanol p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Extran Alcalino e Neutro (Merck, São Paulo, Brasil)

Sulfato de Sódio Anidro p.a. (Merck, Darmstadt, Alemanha)

Hélio 99,999% (Air Products, São Paulo, Brasil)

As concentrações e o fornecedores dos padrões analíticos são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Fornecedores e pureza dos padrões utilizados.

Nome comum	Fornecedor	Pureza (%)
PCBTF	Chem Service (West Chester, USA)	97,8
Xileno	Chem Service (West Chester, USA)	99,2
PCT	Chem Service (West Chester, USA)	98,4
3,4-DCBTF	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	98,1
Mononitro	Chem Service (West Chester, USA)	98,1
DDVP	Chem Service (West Chester, USA)	99
Triclorfon	Chem Service (West Chester, USA)	98
DCPI	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	92,8
Diuron	Chem Service (West Chester, USA)	99
Dinitro	Chem Service (West Chester, USA)	96,2
3,4-DCA	Chem Service (West Chester, USA)	99,5
Ketone	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	98,8
Trifluralina	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	99,3
Oxirane	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	98,6
Lindano	Chem Service (West Chester, USA)	98,9
Propanil	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	99,4
2,4-D Éster	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	99,1
Clorpirifós	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	99,4
Bromoketal	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	97,3
Endosulfan I e II	Milenia Agro Ciencias S.A. (Londrina, Brasil)	97,5

3.3. Preparação das soluções analíticas

Preparou-se 100 mL de solução estoque de cada pesticida (listados na Tabela 5), em acetona, obtendo concentrações entre 71 e 654 mg L⁻¹. Esta solução foi preparada através da dissolução do padrão de referência em acetona. A solução foi armazenada em frasco revestido com papel alumínio e estocada a 4 °C. Efetuou-se a correção das pesagens em função da pureza dos padrões de referência.

A partir da solução estoque foram preparados 100 mL das soluções intermediárias A, B, C e D. As soluções A, B e C foram preparadas em acetona e a solução D foi preparada em diclorometano. Os volumes utilizados para cada solução e as concentrações obtidas encontram-se na Tabela 1 do Apêndice 2.

As soluções intermediárias A, B e D foram usadas para preparação das soluções analíticas da curva de calibração, preparadas em diclorometano. Os volumes utilizados para cada solução e as concentrações obtidas encontram-se na Tabela 2 do Apêndice 2. A solução intermediária D foi usada sem diluição como o ponto 10 da curva de calibração.

As soluções intermediárias B e C foram utilizadas para preparação dos três níveis de fortificação, conforme será descrito no item 3.5.

3.4. Amostras de água de superfície e de efluente

Água do Rio Taquari, coletada 200 m à montante do ponto de lançamento do efluente industrial no dia 28/05/04 com teor de cloreto = 3,7 mg Cl⁻ L⁻¹, pH = 7,0, salinidade = <0,01%, oxigênio dissolvido = 6,19 mg O₂ L⁻¹, condutividade = 0,067 mS cm⁻¹, turbidez = 3 NTU.

Amostra de efluente industrial tratado, coletado no dia 01/06/04 com DQO = 63,2 mg O₂ L⁻¹, cloretos = 1421 mg Cl⁻ L⁻¹, fluoretos = 6,3 mg F⁻ L⁻¹, pH = 7,0, sólidos sedimentáveis = 0,1 mL L⁻¹ e sólidos suspensos totais = 18 mg L⁻¹.

3.5. Preparação das fortificações

Foram escolhidos três níveis de concentração para preparação das fortificações, que foram preparadas utilizando provetas graduadas calibradas, também utilizadas para medição dos volumes de amostra a serem extraídos:

Nível de fortificação 1: foi preparado de forma que após a correção pelo fator de concentração obtido na etapa de concentração (100 vezes) o extrato final, considerando uma recuperação ideal de 100%, contivesse concentrações dos analitos equivalente ao ponto 2 da curva analítica (0,5 mL da solução intermediária C adicionados a 100 mL de água). Desta forma se o procedimento levasse à uma recuperação de 50%, o extrato ainda conteria concentração equivalente ao ponto 1 da curva de calibração.

Nível de Fortificação 2: foi preparado de forma que após a correção pelo fator de concentração obtido na etapa de concentração (100 vezes) o extrato final, considerando uma recuperação ideal de 100%, contivesse concentrações dos analitos equivalente à um ponto intermediário da curva de calibração (0,5 mL da solução intermediária B adicionados a 100 mL de água).

Nível de Fortificação 3: foi preparado de forma que após a correção pelo fator de concentração obtido na etapa de concentração (100 vezes) o extrato final, considerando uma recuperação ideal de 100%, contivesse concentrações dos analitos equivalente a um ponto próximo a concentração máxima da curva (1,0 mL da solução intermediária B adicionados a 100 mL de água).

3.6. Sorventes

Dadas as características de polaridade variadas presentes nos compostos analisados, inicialmente foram escolhidos de acordo com a literatura e catálogos de fornecedores 4 tipos de sorventes mais indicados para determinação deste conjunto de compostos, a ver:

1) Strata C18-E 200 mg, 3 mL, 8B-S001-FBJ (Phenomenex, USA).

Sorventes de sílica químicamente ligada são atualmente os mais usados para SPE. Esta fase é preparada pela ligação de um radical não polar (octadecil) através de uma reação covalente com os grupos silano da superfície de uma partícula de sílica. Esta fase tem a característica de ser altamente hidrofóbica e muito atrativa a solutos orgânicos em soluções aquosas (MITRA, 2003).

2) SPE Strata SDB-L 500 mg, 3 mL, 8B-S014-HB (Phenomenex, USA).

Sorvente apolar composto por um copolímero de poliestireno-divinilbenzeno, que apresenta uma capacidade de adsorção maior que as resinas tipo C18, para compostos mais polares e que apresenta uma estabilidade maior a variações de pH (HENION, 1999):

3) SPE Strata X 33 U 200 mg, 6 mL 8B-S100-FCH (Phenomenex, USA).

Este sorvente composto por um polímero de poliestireno-divinilbenzeno e com grande área de superfície ($800 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) com capacidade de adsorção de compostos ácidos, neutros e básicos. Na maioria das aplicações, não requer ajuste de pH (HENION, 1999).

4) Absolut, Nexus, 60 mg, 3 mL, part number 12103101 (Varian, USA).

Um polímero com características lipofílicas e hidrofílicas, com a estrutura ainda não completamente conhecida, com capacidade para extração de compostos ácidos e básicos. Este tipo de resina dispensa o pré-condicionamento antes da etapa de extração. Diferentemente das resinas C-18 que necessitam ser umedecidas, por exemplo permanecendo em contato com água purificada até a aplicação da amostra, este sorvente possui grupos hidrofóbicos e hidrofílicos em uma razão que permite a aplicação direta da amostra aquosa (HENION, 1999).

3.7. Otimização do sistema GC-MS/MS

3.7.1. Escolha da coluna

Teoricamente o GC-MS poder operar com qualquer tipo de coluna cromatográfica capilar usada com outros detectores (FID, ECD, NPD) desde que esta não produza perda excessiva da fase estacionária nas temperaturas de análise. Na prática, a escolha da coluna fica bem mais restrita, pelos seguintes motivos:

Uma vez que o MS pode ser um detector quase que universal, permitindo determinações com variados tipos de compostos, busca-se uma coluna que traga resultados aceitáveis para esta condição. As mais usadas são as com fase composta de 100% dimetilpolisiloxano ou com fase compostos de 5% fenil - 95 % dimetilpolisiloxano.

Na prática a troca de coluna do GC-MS é um procedimento complicado, uma vez que torna-se necessário quebrar o vácuo e abrir o sistema, procedimento este demorado e que pode introduzir contaminantes no sistema.

O sistema com detector de massas do tipo Ion Trap é sensível a variações na vazão de gás, dificultando sua operação com principalmente colunas de 0,53 mm d.i. assim como com colunas de 0,1 mm de diâmetro interno. As colunas mais usadas com o Ion Trap são as de 0,25 mm de diâmetro interno.

Portanto a coluna escolhida para o trabalho foi a VF – 5ms de baixo sangramento (Factor Four), com fase composto de 5% fenil-95% de dimetilpolisiloxano, com diâmetro interno de 0,25 mm, comprimento de 30 m e espessura da fase estacionária de 0,25 μm , do fornecedor Varian (Valnut Creek, Estados Unidos).

3.7.2. Vazão do gás de arraste

O detector de massas tipo Ion Trap apresenta algumas restrições de vazão do gás de arraste, que pode interferir no processo de ionização do analito. Em geral o fabricante recomenda não usar vazões menores que $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ou maiores de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$.

Esta restrição se deve ao fato de que o gás ao sair da coluna em alta temperatura e sob pressão encontra uma ambiente com vácuo, formando um cone de espalhamento de gás/analito que será irradiado pelo feixe de elétrons para ionização. O formato e a diluição do analito neste cone, que são definidos pelo diâmetro da coluna e vazão do gás de arraste podem prejudicar esta ionização.

Adicionalmente a informação obtida com o espectro de massas, permite a separação de picos co-eluídos, sem a necessidade de obter-se uma separação completa dos mesmos pela cromatografia. Esta possibilidade é maximizada com o uso de recursos como o MS/MS ou MRM, portanto o que se busca é uma separação satisfatória, mas não necessariamente total dos picos que permita uma medição aceitável do sinal do analito, com um tempo de análises razoável. Em face disto a vazão escolhida foi de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$.

3.7.3. Programa de temperaturas do cromatógrafo

Para separação cromatográfica dos compostos a serem analisados foi utilizada uma rampa de temperaturas com a coluna a $45 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1,5 min, depois uma aquecimento a taxa de $10 \text{ }^\circ\text{C}$ e no final um segmento isotérmico a $260 \text{ }^\circ\text{C}$ por 4 minutos, completando um tempo total de corrida de 27 minutos.

O injetor foi programado para manter uma temperatura de $250 \text{ }^\circ\text{C}$ durante todo o tempo da corrida, ou seja, 27 minutos. O modo de injeção usado foi o sem divisão (*splitless*) com a seguinte programação: no momento inicial as válvula de divisão (*split*) permanece aberta com uma vazão de 50 mL min^{-1} e em 0,01 min

esta válvula é fechada e assim permanece até 0,80 min, abrindo então com uma vazão de 70 mL min⁻¹ para remoção de restos de solvente e analito volatilizados que possam ter permanecido no injetor.

3.7.4. Desenvolvimento das condições de detecção por MS/MS

Para cada composto analisado foram desenvolvidas as condições de fragmentação no modo MS/MS do espectrômetro de massas. Estas condições são por fim programada no método do sistema de controle do GC-MS em janelas de tempo que correspondam à saída de cada pico de interesse.

Para compostos parcialmente co-eluídos foi utilizada o recurso MRM o qual permite a fragmentação MS/MS alternada em duas condições diferentes a cada novo ponto de aquisição de dados.

3.8. Otimização do sistema SPE

Para otimização do procedimento SPE foram escolhidos os 4 cartuchos dos disponíveis comercialmente e foram realizados testes simples de extração, buscando definir parâmetros tais como: pH da amostra para extração, volume de amostra a ser usado, concentração do analito na amostra, necessidade de filtração da amostra, solvente a ser usado para eluição, procedimento de secagem dos extratos, etc..

3.8.1. Quantidade de Sorvente

Não foram testados procedimentos para diferentes quantidades de sorvente em um mesmo cartucho. Foram testados cartuchos contendo quantidades diferentes de sorventes, 60, 200 e 500 mg e observou-se que quanto maior a quantidade de material sorvente no cartucho mais difícil torna-se o processo de secagem dos mesmos.

Para o cartucho escolhido para o procedimento (Absolut, Nexus, 60 mg, 3 mL) foram realizados testes com variação no volume da amostra para um mesmo nível de fortificação, buscando observar se a capacidade de retenção dos analitos não havia sido ultrapassada para o volume de concentração da amostra escolhido (100 mL).

3.8.2. Volume de amostra

Em função dos parâmetros estabelecidos para os parâmetros analisados e por consequência dos limites de detecção e quantificação desejados, optou-se por usar um volume de amostra de 100 mL, com uma taxa de percolação da amostra de 2 a 3 mL min⁻¹ e um volume final de extrato de 1 mL, provendo assim uma razão de pré-concentração de 100 vezes.

3.8.3. Filtração da amostra

Uma vez que as amostras apresentam sólidos suspensos em baixa concentração, usualmente menor que 100 mg L⁻¹, e que não chegam a dificultar a passagem da amostra pelo cartucho, optou-se por percolar diretamente as amostras sem filtração prévia.

Adicionalmente, à semelhança do que ocorre na LLE, é desejável quantificar todo analito presente na amostra, quer esteja este na fase líquida, quer esteja este aderido aos sólidos presentes na amostra. Em termos de emissão de efluentes líquidos tratados o que importa é a quantidade total de analito que está sendo emitida para o meio ambiente.

3.8.4. pH da amostra

O pH escolhido para trabalho, mais uma vez em função das propriedades do grupo de compostos a serem analisado, foi o pH neutro numa faixa de 6,0 a 8,0, que é a faixa de ajuste para o pH do efluente final tratado.

Faixa esta em que se encontram a maioria das amostras analisada na rotina do laboratório, sejam estas de efluente industrial tratado e água de superfície do rio Taquari, dispensando pré-ajuste do pH antes do procedimento de extração.

3.8.5. Escolha do solvente

Foram testados para condicionamento dos cartuchos os solventes acetona, metanol e diclorometano e misturas destes. Já para eluição o solvente com melhor desempenho foi o diclorometano no qual todos os compostos analisadas apresentam excelente solubilidade. O diclorometano, por não ser miscível com a água também permite a fácil constatação na presença desta nos extratos.

É fundamental que os extratos obtidos não contenham água, pois esta interfere na detecção pelo espectrômetro de massas, prejudicando a fragmentação dos analitos, e portanto a formação dos espectros de massas e consequentemente do sinal obtido.

3.8.6. Secagem do extrato

Durante a otimização do procedimento foram testadas diferentes estratégias para obtenção de um extrato final isento de água:

- Secagem do cartucho com Na_2SO_4 colocado sobre o sorvente e purga pelo sistema de vácuo;
- Secagem posterior a eluição, usando cartuchos com Na_2SO_4 ;
- Secagem prévia do cartucho com Nitrogênio Ultra Puro.

3.9. Procedimento experimental

Após a definição das melhores condições para extração dos analitos, o procedimento final ficou bastante simples para uso na rotina analítica do laboratório. Para extração foi empregado um volume pequeno de amostra (100 mL), sem necessidade de ajuste do pH e filtração. O fator de concentração obtido foi adequado para os LODs esperados para o procedimento.

Não foi necessária a etapa de purificação do extrato, eliminando assim uma fonte de perda do analito, por dois motivos:

1) Na própria extração SPE ocorre uma purificação, uma vez que em condições ideais, somente os analitos de interesse ficam retidos e posteriormente são eluídos do sorvente.

2) O espectrômetro de massas, programado para detecção no modo MS/MS provê uma purificação *on-line*, uma vez que, após a fragmentação de todos os compostos que podem estar saindo da coluna num dado tempo de retenção, o íon do composto de interesse é separado fisicamente dentro do detector e novamente fragmentado. Este novo espectro serve para identificação e quantificação do analito.

3.9.1. Descrição da etapa de extração e pré-concentração

As amostras do Rio Taquari, do efluente industrial tratado e a água destilada e deionizada utilizada nos testes foram estocadas, durante a realização dos experimentos, em frascos de vidro âmbar e mantidas sob refrigeração à 4°C. Antes de iniciar os experimentos as amostras eram retiradas da câmara termostática, aguardando o tempo necessário para que estas atingissem a temperatura ambiente.

Uma fração de 100 mL da amostra é transferida para a proveta graduada calibrada, para medição do volume e posterior transferência ao sistema SPE.

Para preparação das fortificações, foram transferidos 80 mL de amostra (água destilada, água de superfície ou efluente industrial tratado), adicionar o volume a solução intermediária requerido para a fortificação e completar o volume até a marca de 100 mL com a amostra.

Observação:

- para o Nível de Fortificação 1 medir, com pipeta volumétrica, 0,5 mL da solução intermediária C;
- para o Nível de Fortificação 2 medir, com pipeta volumétrica, 0,5 mL da solução intermediária B;
- para o Nível de Fortificação 3 medir, com pipeta volumétrica, 1,0 mL da solução intermediária B.
- A preparação das soluções C e B está descrita no item 3,5.

O cartucho Absolut Nexus 60 mg de 3 mL, segundo as instruções do fornecedor, não necessita da etapa de pré-condicionamento, porém como foi observada contaminação com xileno durante os testes, requer uma etapa de limpeza antes, percolando-se no cartucho sob vácuo, duas porções de 3 mL de acetona e duas porções de água destilada e deionizada. A seguir é adicionada água destilada e deionizada até encher o cartucho.

O recipiente com a amostra é então conectado ao sistema SPE através do tubo de sucção, e a amostra é percolada pela fase contida no cartucho à uma vazão de 2 a 3 mL min⁻¹. A montagem do sistema pode ser vista na Figura 3

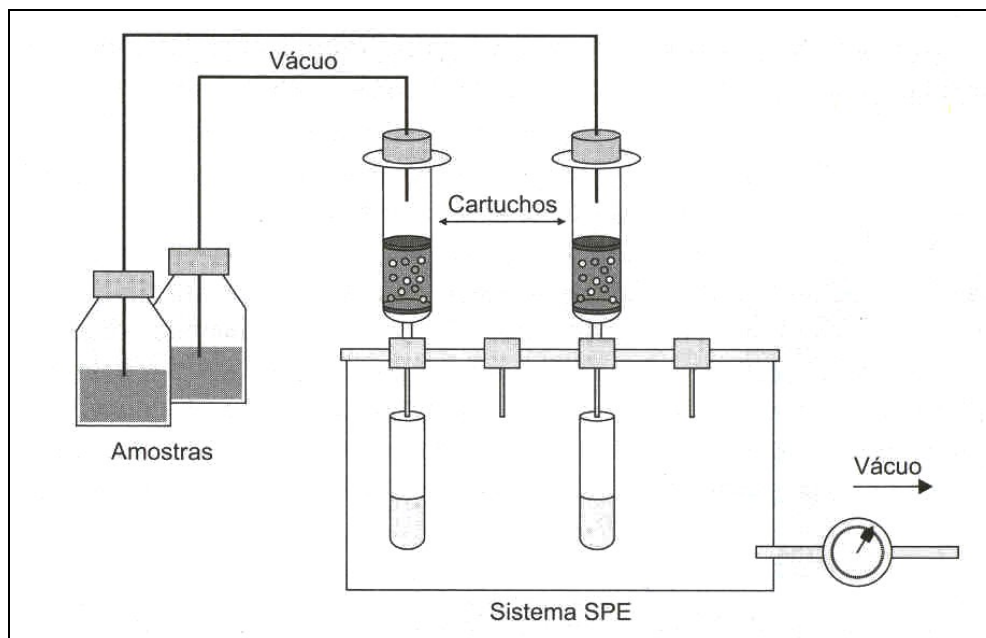


Figura 3: Sistema SPE usando bomba de vácuo (LANÇAS, 2004).

Após a passagem de toda a amostra, mas antes de secar o tubo e o cartucho, são adicionados 5 mL de água destilada e deionizada para lavagem do sistema,

O cartucho é então retirado do sistema de extração e conectado à uma adaptador na linha de gás, na qual é seco pela passagem de N₂, utilizando uma pequena vazão de gás, obtida através da regulagem da pressão em 300 mm Hg.

A seguir o cartucho é novamente conectado ao sistema de extração. A eluição é feita usando 3 porções de 0,5 mL de diclorometano, com o extrato sendo recolhido em um tubo graduado para medição do volume.

Devido a perda de diclorometano durante a extração, seja por volatilização ou no sorvente, o volume adicionado de 1,5 mL resulta em cerca de 0,8 a 0,9 mL de extrato no tubo graduado. O volume final é ajustado em 1 mL, pela adição de pequenos volumes de diclorometano sobre o cartucho.

Quando não injetados imediatamente os extratos são conservados em geladeira a 4 °C.

3.9.2. Validação do procedimento

Definidas as melhores condições de separação para os compostos estudados, o passo seguinte foi a validação do procedimento para análise, segundo os parâmetros que serão descritos a seguir.

3.9.2.1. Curva analítica e linearidade

As curvas analíticas foram obtidas preparando-se soluções analíticas com concentrações entre 11,8 e 6546 $\mu\text{g L}^{-1}$, conforme apresentado na Tabela 2 do Apêndice 2.

Cada padrão foi injetado pelo menos 3 vezes no sistema GC-MS. Os cromatogramas foram processados automaticamente pelo software de controle do sistema. Neste software são definidos os parâmetros de identificação e integração do pico de cada composto de interesse, estes parâmetros são:

- Nome do composto
- tempo de retenção,
- janela de integração
- espectros de referência,
- critérios de aceitação do espectro nos padrões e na amostra,
- íons usados para quantificação
- parâmetros do pico cromatográfico: largura mínima do pico, relação sinal ruído, área mínima, altura mínima do pico integrado e colocação da linha de base.

Uma vez definidos os melhores parâmetros possíveis para os compostos e nas faixas de concentrações analisadas, todos os padrões, brancos, fortificações e amostras foram processados e os resultados transferidos para o programa Microsoft® Office Excel 2003 (Microsoft). Foram então traçados os gráficos com as concentrações do analito no eixo x (abscissas) e as respectivas médias das áreas dos picos no eixo y (ordenadas)

Para cada composto foi calculado e avaliado o modelo mais apropriado para descrever a curva analítica:

Linear: avaliando-se a repetitividade entre as injeções, o teste de linearidade (conforme item 2.9.1), gráfico dos resíduos, o coeficiente de determinação (r^2) e os parâmetros da equação e finalmente a análise da variância com o teste F para significância do modelo.

Polinomial de segunda ordem (quadrático): Onde o modelo linear falhou para os dados obtidos, utilizou-se o modelo quadrático, sendo este avaliado pelo repetitividade entre as injeções, pelo gráfico dos resíduos, pelo coeficiente de determinação (r^2), parâmetros da equação e pela análise de variância com o teste F para significância do modelo.

Dada a variação nas concentrações dos padrões utilizados em alguns casos, onde o uso de todos os pontos afetou a leitura nos extremos da curva, foram traçadas duas curvas de calibração para baixas concentrações e para altas concentrações e estas submetidas a mesma avaliação anteriormente descrita.

3.9.2.2. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O LOD e o LOQ foram determinados estatisticamente conforme descrito no item 2.9.2. Para isto foram injetados brancos de água destilada e deionizada, brancos da matriz (amostra de água de superfície do Rio Taquari) e da injeção do menor nível da curva de calibração.

3.9.2.3. Recuperação

Para avaliação dos compostos em estudo, foram preparadas fortificações em água destilada e deionizada conforme descrito no item 3.5. Foram então analisadas 7 fortificações independentes e cada fortificação foi injetada 6 vezes no GC-MS.

Para verificar a interferência da matriz sobre a extração e quantificação, foram preparadas amostras do efluente tratado e do Rio Taquari, com as mesmas concentrações do Nível de Fortificação 2 (conforme item 3.5). Igualmente foram analisadas 7 fortificações independentes e cada fortificação foi injetada 6 vezes no GC-MS.

Completando este procedimento, foram analisadas amostras em branco (sem fortificação) do efluente tratado e da água do Rio Taquari. Após a análise estas amostras foram seca com N₂ ultra puro e sobre o resíduo contido no vial, foi adicionado 1 mL da solução analítica correspondente ao ponto 7 da curva analítica. A solução assim preparada foi injetada no GC-MS para verificar uma possível interferência da matriz sobre a leitura do padrão. Foram preparadas 7 replicatas independentes e cada uma foi injetada 6 vezes no sistema cromatográfico.

3.9.2.4. Precisão (repetitividade do instrumento)

O estudo de repetitividade do instrumento em termos de desvio padrão relativo entre as áreas dos picos para injeções sucessivas, foi realizado injetando-se cada uma das dez soluções analíticas 6 vezes seguidas no sistema cromatográfico.

3.9.2.5. Precisão (repetitividade do procedimento)

Para determinação da repetitividade do instrumento foram extraídas sete replicatas independentes de cada fortificação e cada replicata foi injetada 6 vezes no sistema cromatográfico (n= 42). A seguir foram calculadas a média e o desvio padrão relativo para cada fortificação.

3.9.2.6. Precisão (precisão intermediária)

Para determinação da precisão intermediária, uma nova fortificação com concentração correspondente ao Nível de Fortificação 2, foi extraída por outro operador e em outro dia. Foram extraídas 3 replicatas independentes desta fortificação e cada replicata foi injetada 3 vezes no sistema cromatográfico (n= 9).

3.9.2.7. Aplicação do procedimento desenvolvido

Para avaliação do procedimento desenvolvido foram analisadas amostras de efluente industrial tratado e do Rio Taquari.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Sistema GC-MS para determinação dos compostos orgânicos

Para otimização das condições de separação pela Cromatografia Gasosa e da detecção pelo espectrômetro de massas, foram preparadas soluções individuais de cada composto na concentração de 10 mg L^{-1} , que foram injetadas buscando uma separação adequada dos compostos e aquisição dos espectros de massas no modo de “full scan” (varredura de 50 a 650 m/z).

Após a aquisição dos espectros e identificação dos compostos assim como de seus respectivos tempos de retenção, buscou-se a otimização da separação dos mesmos, através da injeção de uma mistura de todos os compostos a serem analisados, com concentrações que variaram de 1 a 10 mg L^{-1} .

Uma vez que a separação completa de todos os picos levaria a um tempo muito longo para a corrida cromatográfica, cerca de 45 minutos, optou-se por um tempo menor, sendo os compostos com picos separados através da detecção pelo espectrômetro de massas.

Deste modo, estabeleceram-se as melhores condições cromatográficas para separação e detecção dos compostos a serem analisados, descritas na Tabela 6.

Tabela 6: Condições cromatográficas utilizadas para a separação dos compostos.

Volume de Injeção	1 μ L
Temperatura do Injetor	250 °C
Modo de Injeção	Splitless
Gás de Arraste	Hélio
Vazão do Gás de Arraste	1,2 mL min ⁻¹
Programação de Temperaturas do forno da coluna	45 °C por 1,5 minutos 10 °C min ⁻¹ até 260 °C 260 °C por 4 minutos
Tempo total	27 minutos
Detector	Espectrômetro de massas, tipo Ion Trap operando no modo MS/MS
Temperatura da Linha de Transferência	290 °C
Temperatura do Manifold	80 °C
Temperatura do Ion Trap	240 °C

4.2. Parâmetros de programação do espectrômetro de massas

Após a otimização das condições de separação e identificados os espectros de massas, foram otimizadas as condições de detecção.

Este é um procedimento empírico, no qual é escolhido um íon mais intenso e/ou mais característico para cada composto é selecionado (Íon pai) e submetido à uma nova fragmentação. A energia necessária para esta nova fragmentação deve ser otimizada por injeções sucessivas dos padrões até se obter um ponto em que todo o íon pai é fragmentado e é gerado um espectro MS/MS com íons filhos característicos, um exemplo de cromatograma obtido desta maneira pode ser visto no apêndice 3.

As condições para esta fragmentação são programadas em janelas de tempo ao longo do cromatograma de acordo com os tempos de retenção dos compostos a serem analisados, conforme Tabela 7.

Tabela 7: Programação das condições de fragmentação no MS.

Composto	Segmento de Tempo (minutos)		Íon Pai (precursor)	Amplitude de Excitação (volts)	Íons Filhos (formados)
PCBTF	4,80	6,50	180	0,80	161, 145 e 130
Xileno	4,80	6,50	91	0,63	92 e 65
PCT	6,50	7,10	91	0,53	92 e 65
3,4-DCBTF	7,10	7,80	179	1,20	144, 125 e 109
1,2-dicloro-benzeno	7,80	8,40	146	0,55	159, 111 e 75
Nitrobenzeno	8,70	9,60	77	0,50	124, 107 e 51
Mononitro	9,60	10,70	179	95,00	143, 125 e 109
DDVP+Triclorfon	10,90	11,90	109	0,42	79
DCPI+Diuron	11,90	13,0	159	0,70	124
Dinitro	11,90	13,00	143	70,00	138 e 123
3,4-DCA	13,70	14,50	161	0,65	162, 134 e 126
Dibutil-ftalato	15,50	15,90	149	0,54	177, 150 e 121
Ketone	15,90	16,30	134	0,42	140 e 103
Trifluralina	16,30	17,00	306	0,67	264 e 206
Oxirane	17,00	18,50	138	0,45	139 e 103
Lindano	17,00	18,50	219	0,50	217 e 183
Propanil	18,50	19,50	161	0,44	162, 134 e 126
2,4-D Éster	18,50	19,50	185	0,68	186 e 143
Clorpirifós	19,50	20,00	197	0,50	198 e 169
Bromoketal	20,00	21,00	254	0,60	191 e 173
α - Endosulfan	21,00	22,00	241	100,00	261, 239, 206 e 170
β - Endosulfan	22,00	23,00	241	100,00	261, 239, 206 e 170

O perfil de um cromatograma de separação dos compostos analisados de uma solução contendo cerca de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito em diclorometano, obtido com as condições ótimas definidas, pode ser observado na Figura 4

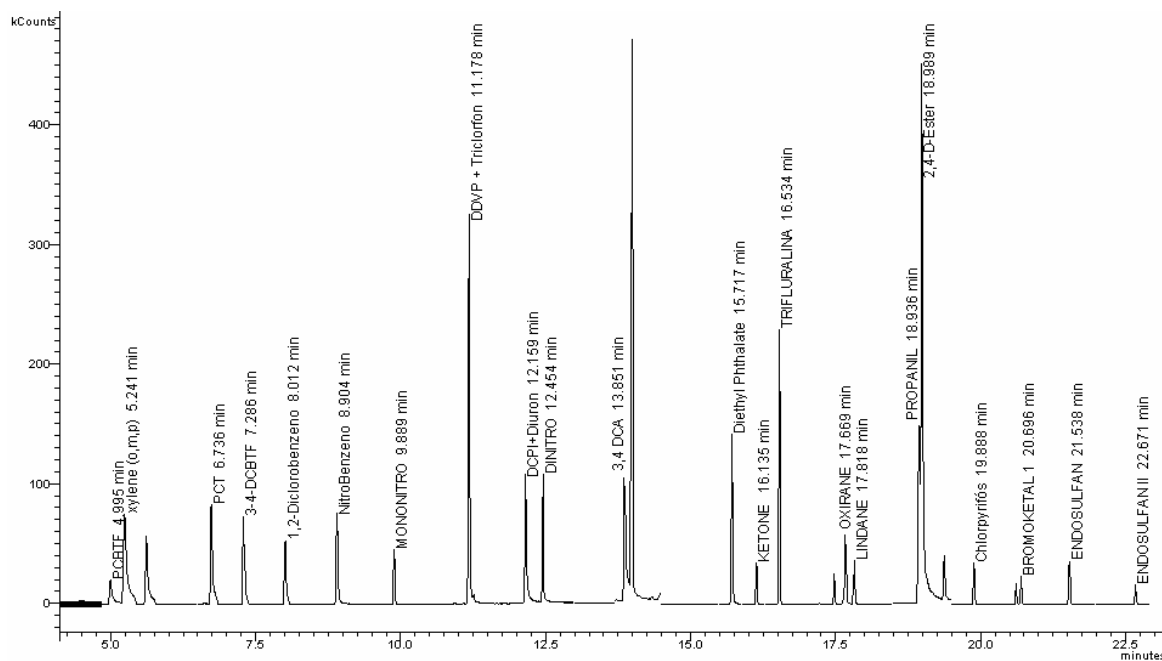


Figura 4: Cromatograma típico de uma solução analítica com $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ obtido nas condições cromatográficas descritas na Tabela 6.

4.3. Avaliação da separação cromatográfica

Os parâmetros cromatográficos t_R , k , R_s , α foram calculados para os compostos do cromatograma apresentado na figura 4 do item 4.9 e podem ser vistos na Tabela 8. O tempo de retenção de uma analito não retido (t_M) foi de 1,33 min, determinado pela injeção de $1 \mu\text{L}$ de ar, com o MS programado para monitorar a faixa de massas de 10 a 40 m/z. Nesta faixa é possível verificar a presença de H_2O (m/z 18), O_2 (m/z=28) e N_2 (m/z=32) presentes no ar.

Tabela 8. Parâmetros cromatográficos t_R , k , R_s e α obtidos.

Composto	t_R (min)	k	R_s	α
t_M	1,33	-	-	-
PCBTF	4,99	2,75	-	-
o+m Xileno	5,27	2,96	0,62	1,08
p-Xileno	5,65	3,25	0,83	1,10
PCT	6,74	4,07	2,98	1,25
3,4-DCBTF	7,29	4,48	1,90	1,10
1,2-dicloro-benzeno	8,01	5,02	2,42	1,12
Nitrobenzeno	8,90	5,69	2,69	1,13
Mononitro	9,89	6,44	3,88	1,13
DDVP+Triclorfon	11,18	7,41	3,80	1,15
DCPI+Diuron	12,33	8,27	2,29	1,12
Dinitro	12,45	8,36	0,29	1,01
3,4-DCA	13,85	9,41	3,00	1,13
Ketone	16,13	11,13	5,96	1,18
Trifluralina	16,53	11,43	2,77	1,03
Oxirane (isômero 1)	17,48	12,14	7,45	1,06
Oxirane (isômero 2)	17,67	12,29	1,40	1,01
Lindane	17,82	12,40	1,10	1,01
Propanil	18,94	13,24	3,66	1,07
2,4-D Éster	18,99	13,28	0,16	1,00
Clorpirifós	19,89	13,95	9,63	1,05
Bromoketal (isômero 1)	20,62	14,50	7,16	1,04
Bromoketal (isômero 2)	20,70	14,56	0,63	1,00
α -Endosulfan	21,54	15,20	7,61	1,04
β -Endosulfan	22,67	16,05	11,08	1,06

* Os compostos bromoketal e Oxirane eluem, cada um, em dois picos cromatográficos, com espectros de massas idênticos e foram quantificados em conjunto.

Apesar da importância de se determinar os parâmetros para avaliar a separação cromatográfica t_R , k , R_s e α para outros detectores usados em conjunto com a Cromatografia Gasosa, quando usamos um espectrômetro de massas operando no modo MS/MS esta avaliação perde seu valor, uma vez que o pico que é efetivamente medido, considera o íon ou íons que o diferenciem de outros compostos presentes na amostra. Um exemplo da visualização do sinal pode ser visto na Figura 5.

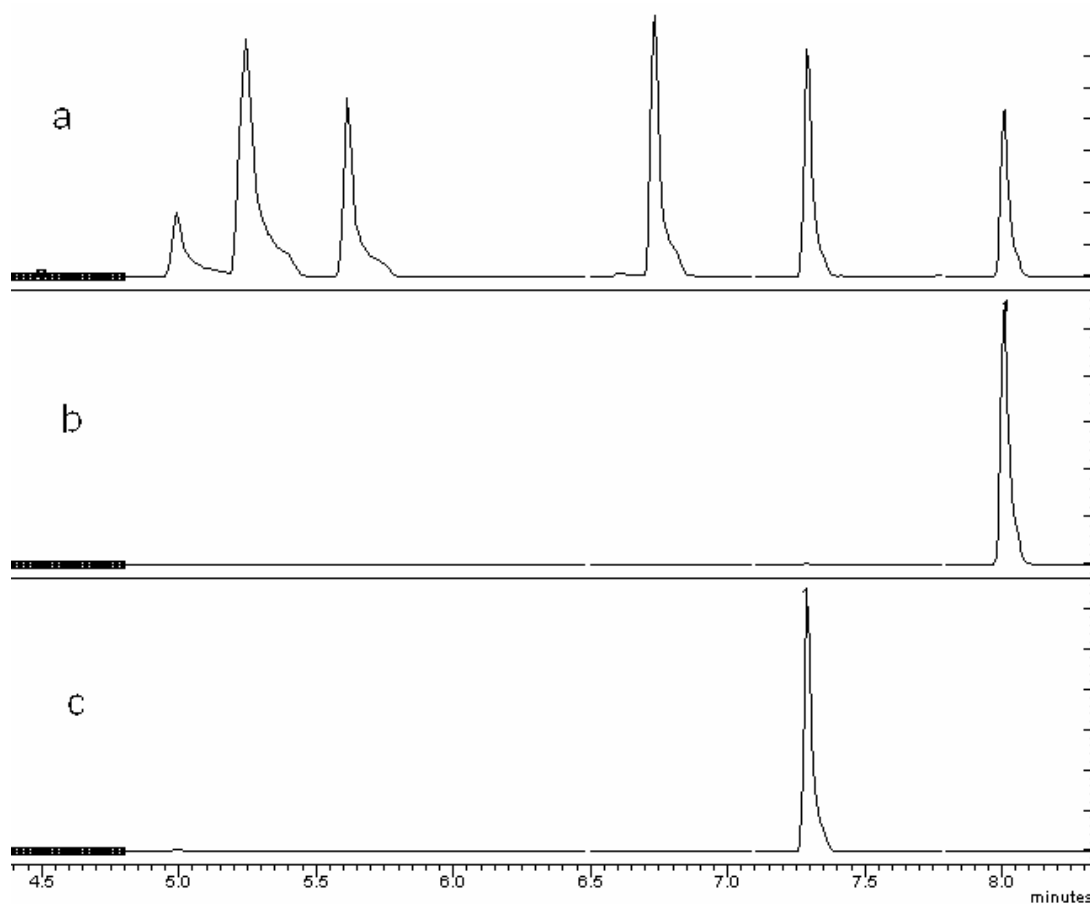


Figura 5: Visualização dos picos cromatográficos. a) Cromatograma com visualização de todos os íons; b) Cromatograma com visualização do íon 111 correspondente ao 1,2-Diclorobenzeno ($t_R = 8,01$ min) e c) Cromatograma visualização do íon 144 correspondente ao 3,4-DCBTF ($t_R = 7,29$ min).

Um outro aspecto da otimização da separação e da resolução dos picos é a baixa frequência de aquisição de sinal no MS, que dependendo da programação pode ser de 0,25 até 1,0 s (muito maior que em outro tipos de detectores) pode não ser desejável a obtenção de picos muito finos. Pois neste caso o pico pode ter muito poucos pontos de dados, o que reduz a precisão do cálculo da área do mesmo. O que se busca na otimização da separação no GC-MS é uma relação ótima entre a melhora na resolução do pico e a leitura de dados do espectrômetro.

4.4. Validação do procedimento

Definidas as melhores condições de separação para os compostos estudados, o passo seguinte foi a avaliação do procedimento para análise, segundo os parâmetros descritos na seqüência.

Exemplos das planilhas de cálculo do Microsoft Office Excel[®] 2003 (Microsoft[®]) com os cálculos da validação do procedimento, são apresentados no Apêndice 4 para o modelo linear de calibração e no Apêndice 5 para o modelo quadrático de calibração.

Os dados de cada composto analisado foram transferidos para esta planilha, considerando o modelo de calibração mais apropriado (linear ou quadrático) e os resultados estão discutidos a seguir.

4.4.1. Níveis de fortificação utilizados

A concentração final obtida para cada compostos em cada fortificação, preparadas conforme o item 3.5, encontra-se na Tabela 9.

Tabela 9: Concentração, em $\mu\text{g L}^{-1}$, para cada composto nos três níveis de fortificação preparadas.

	Nível de Fortificação 1	Nível de Fortificação 2	Nível de Fortificação 3
Nome Comum	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
PCBTF	0,71	7,1	14,3
<i>o+m+p</i> Xileno	2,18	21,8	43,6
PCT	0,87	8,7	17,3
3,4-DCBTF	0,84	8,4	16,9
1,2-dicloro-benzeno	0,80	8,0	16,1
Nitrobenzeno	0,77	7,7	15,3
Mononitro	0,77	7,7	15,4
DDVP+Triclorfon	1,62	16,2	32,3
DCPI+Diuron	1,43	14,3	28,7
Dinitro	0,78	7,8	15,7
3,4-DCA	0,73	7,3	14,5
Ketone	0,78	7,8	15,6
Trifluralina	0,77	7,7	15,4
Oxirane	0,80	8,0	16,1
Lindane	0,73	7,3	14,6
Propanil	0,76	7,6	15,2
2,4-D Éster	0,79	7,9	15,8
Clorpirifós	0,77	7,7	15,3
Bromoketal	0,80	8,0	16,0
α - Endosulfan	0,52	5,2	10,4
β - Endosulfan	0,24	2,4	4,7

4.4.2. Curvas analíticas

A Tabela 10 apresenta as equações do modelo matemático de descrição das curvas analíticas obtidas para cada composto. São apresentadas as faixas de concentração para as quais cada equação se refere, bem como o valor do coeficiente de determinação do modelo (r^2).

As equações obtidas para as curvas analíticas apresentaram, para todos os pesticidas em estudo, os valores de r^2 maiores que 0,99, considerado adequados para análises de resíduos de pesticidas (PIMENTEL e BARROS NETO, 1996).

Tabela 10: Equações do modelo de calibração, faixa de concentração e coeficiente de determinação (r^2) os compostos em estudo.

Nome comum	Faixa de	Equação do Modelo	r^2
PCBTF	35,7 - 2141,8	$y = 16,845x - 174,811$	0,9984
Xileno	109,9 - 6545,5	$y = 64,285x - 407,543$	0,9984
PCT	43,3 - 2597,8	$y = 70,034x - 1635,197$	0,9990
3,4-DCBTF	42,2 - 2531	$y = 25,724x + 94,58$	0,9994
1,2-dicloro-benzeno	40,2 - 2413	$y = 25,978x + 863,278$	0,9990
Nitrobenzeno	38,3 - 2298,4	$y = 38,526x - 846,021$	0,9989
Mononitro	77 - 2310,3	$y = 0,00048x^2 + 1,922x - 31,45$	0,9993
DDVP+Triclorfon	80,8 - 3231,9	$y = 0,00278x^2 + 13,38x - 544,84$	0,9995
DCPI+Diuron	71,7 - 4301,5	$y = 0,00133x^2 + 38,248x - 1635,70$	0,9991
Dinitro	39,2 - 2353,3	$y = 0,00076x^2 + 4,836x + 152,4$	0,9953
3,4-DCA	72,6 - 2179,1	$y = 91,954x - 5419,78$	0,9975
Ketone	39 - 2342,5	$y = 14,047x - 382,30$	0,9978
Trifluralina	38,5 - 1539,2	$y = 0,00107x^2 + 9,68x - 51,62$	0,9993
Oxirane	40,2 - 2410,8	$y = 0,00772x^2 + 35,98x - 239,98$	0,9967
Lindane	36,6 - 2195,6	$y = 0,00057x^2 + 7,893x - 130,21$	0,9975
Propanil	76 - 1520,7	$y = 0,01683x^2 + 1,302x + 1595,70$	0,9984
2,4-D Éster	39,4 - 2363,8	$y = 0,0076x^2 + 9,058x + 231,39$	0,9989
Clorpirifós	38,3 - 2295,7	$y = 0,00183x^2 + 1,015x + 292,70$	0,9959
Bromoketal	39,9 - 2393,6	$y = 0,00196x^2 + 12,624x + 65,51$	0,9995
α -Endosulfan	26,1 - 1563,4	$y = 0,00421x^2 + 8,39x + 296,04$	0,9932
β -Endosulfan	11,8 - 709,1	$y = 0,02659x^2 + 3,963x + 227,42$	0,9922

n = 60 (10 soluções analíticas x 6 injeções cada)

4.4.3. Linearidade

Na Tabela 11 são apresentados os valores do cálculo de linearidade descrito no item 2.10.1, com os valores mínimos, máximos e médios para a razão sinal/concentração (S/Q) sobre o coeficiente angular da equação (para os modelos lineares $y=ax+b$). Observa-se que nas curvas lineares foram obtidos valores máximos maiores que o recomendado pela literatura que é de 5%. (PRIMEL, 2003; RIBANI *et al.*, 2004).

A falta de linearidade constatada na resposta do equipamento pode ser devida a ampla faixa de concentração utilizada ou as características do próprio detector ITD-MS. Este detector, a cada espectro adquirido ao longo do cromatograma, ajusta automaticamente o tempo de ionização (tempo em que o filamento está ligado para ionização das moléculas do eluato da coluna) para obtenção de espectros de melhor qualidade. Como para menores concentrações das soluções analíticas, o tempo de ionização tende a ser maior para produzir uma quantidade maior de íons no interior do detector, a falta de linearidade da resposta pode ser explicada.

O MS poderia operar com tempo de ionização fixo, com uma provável perda da qualidade espectral em baixas concentrações, porém como além da quantificação deseja-se fazer a identificação simultânea dos compostos analisados, optou-se pelo ajuste automático do tempo de ionização.

Portanto, foi feita a análise de variância do modelo, para testar sua significância, através do teste F, para predição de resultados e este foi o critério final de aceitação da equação de calibração usada.

Nos casos em que o modelo linear não passou no teste F, foi calculada a equação quadrática para os dados, e novamente submeteu-se o modelo a análise de variância.

As equações usadas para análise de variância estão descritas no item 2.10.1 e um exemplo da sua aplicação é mostrado nos Apêndices 4 e 5.

Conforme a Tabela 11, os dados passaram no teste F com 95% de confiança, para o modelo linear para o PCBTF, Xileno, PCT, 3,4-DCBTF, 1,2-

Diclorobenzeno, Nitrobenzeno, 3,4-DCA e Ketone.

Os modelos quadráticos propostos para os compostos Mononitro, DDVP+Triclorfon, DCPI+Diuron, Dinitro, Trifluralina, Oxirane, Lindane, Propanil, 2,4-D Éster, Clorpirifós, Bromoketal, α -Endosulfan e β -Endosfan mostraram-se significativos quando submetidos ao teste F com 95% de confiança.

Tabela 11: Resumo dos resultados dos cálculos de linearidade, cálculo dos resíduos em y e do teste F com 95% de confiança.

	100-(Sm/Q x 100)/a			Média Resíduos (%)	Teste F (95% conf.)
	Mín.(%)	Máx.(%)	Média (%)		
PCBTF	0,18	8,02	3,10	-	OK
<i>o+m+p</i> Xileno	0,22	10,0	3,26	-	OK
PCT	0,08	9,65	4,95	-	OK
3,4-DCBTF	0,32	12,52	2,52	-	OK
1,2-dicloro-benzeno	0,28	25,56	9,13	-	OK
Nitrobenzeno	1,05	14,46	5,58	-	OK
Mononitro	-	-	-	5,41	OK
DDVP+Triclorfon	-	-	-	8,05	OK
DCPI+Diuron	-	-	-	5,84	OK
Dinitro	-	-	-	5,81	OK
3,4-DCA	0,5	73,8	26,8	-	OK
Ketone	0,49	13,4	7,42	-	OK
Trifluralina	-	-	-	3,05	OK
Oxirane	-	-	-	18,34	OK
Lindane	-	-	-	10,84	OK
Propanil	-	-	-	9,63	OK
2,4-D Éster	-	-	-	7,92	OK
Clorpirifós	-	-	-	17,5	OK
Bromoketal	-	-	-	3,4	OK
α -Endosulfan	-	-	-	7,78	OK
β -Endosulfan	-	-	-	11,67	OK

n = 60 (10 soluções analíticas x 6 injeções cada)

4.4.4. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O Nível de Fortificação 1, preparado conforme descrito no item 3.5, após a etapa de pré-concentração apresenta concentração equivalente a solução analítica número 2 (ver Apêndice 2).

Os valores de LOD e LOQ foram calculados com as áreas obtidas da injeção da solução analítica 1 apresentada neste mesmo apêndice. O cálculo seguiu a metodologia descrita no item 2.10.2 e a Tabela 12 apresenta os resultados para cada composto.

A sensibilidade do MS foi ajustada de forma que as concentrações da solução analítica 1 produzissem um sinal no mínimo 3 vezes maior que o ruído da linha de base. O ajuste da sensibilidade é feito através da voltagem do eletromultiplicador e da corrente de emissão do filamento. A relação sinal/ruído foi determinada automaticamente pelo Software *Saturn GC/MS Workstation*.

Para a solução analítica 2 o critério o ajuste foi feito de forma a permitir obtenção de um sinal no mínimo 10 vezes maior que o ruído da linha de base para cada composto.

Foram ainda analisados amostra em branco (água destilada e deionizada), submetidos ao processo de extração/concentração para verificar os LODs calculados. Para todos os compostos obteve-se sinais menores que os correspondentes da solução analítica 1.

Tabela 12: Limites de Detecção e Limites de Quantificação instrumentais e do procedimento, considerando um fator de pré-concentração de 100 vezes, n= 6.

Composto	Instrumental ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Procedimento ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ
PCBTF	9,7	30,4	0,10	0,30
<i>o+m+p</i> Xileno	34,5	108,4	0,35	1,08
PCT	15,1	47,6	0,15	0,48
3,4-DCBTF	12,1	38,0	0,12	0,38
1,2-dicloro-benzeno	11,5	36,2	0,12	0,36
Nitrobenzeno	35,9	112,9	0,36	1,13
Mononitro	21,3	66,8	0,21	0,67
DDVP+Triclorfon	34,5	108,3	0,35	1,08
DCPI+Diuron	32,9	103,4	0,33	1,03
Dinitro	30,4	95,5	0,30	0,96
3,4-DCA	33,7	106,2	0,34	1,06
Ketone	16,6	52,2	0,17	0,52
Trifluralina	9,5	29,8	0,09	0,30
Oxirane	12,9	40,4	0,13	0,40
Lindane	9,5	29,9	0,10	0,30
Propanil	77,6	243,8	0,78	2,44
2,4-D Éster	11,2	35,1	0,11	0,35
Clorpirifós	24,3	76,3	0,24	0,76
Bromoketal	13,9	43,7	0,14	0,44
α -Endosulfan	15,4	48,3	0,15	0,48
β -Endosulfan	6,6	20,6	0,07	0,21

4.4.5. Recuperação

A Tabela 13 apresenta os valores das recuperações obtidas, com o respectivo RSD%, para os níveis de fortificação 1, 2 e 3 em água destilada e para nível de fortificação 2 em duas matrizes: água do Rio Taquari e efluente industrial tratado.

Os compostos PCT, Nitrobenzeno, Mononitro, DDVP+Triclorfon, Ketone, Trifluralina, Lindane, Clorpirifós, Bromoketal, α -Endosulfan e β -Endosulfan, apresentam recuperações e RSD satisfatórios, pois estão dentro dos valores aceitos, conforme descrito na literatura para métodos cromatográficos aplicados para determinação de pesticidas (US-EPA, 1995), os quais devem estar entre 70 e 130%, com valores de RSD de $\pm 30\%$ em todas as fortificações.

Os compostos PCBTF e 3,4-DCBTF apresentaram resultados sempre abaixo do mínimo aceito para recuperação (70%). Porém a uniformidade das recuperações e RSD obtidos nos três níveis de fortificação e nas duas matrizes testadas, sugerindo a possibilidade de testar a utilização um fator de correção para obter a concentração correta para análises de amostras reais.

O 1,2-diclorobenzeno apresentou recuperação abaixo do aceito somente para o nível de fortificação 1, cuja concentração era de $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$. Neste nível de concentração $<1 \mu\text{g L}^{-1}$ a literatura sugere uma faixa mais ampla de aceitação para recuperação: 50 a 120% (FAO,1999).

O 2,4-Éster apresentou recuperação baixa na fortificação para concentração de $0,79 \mu\text{g L}^{-1}$ (69,8%) e para concentração de $15,8 \mu\text{g L}^{-1}$ (67,7%).

O Dinitro e o Oxirane apresentaram recuperações altas(149,1% e 172,1%) para o nível de fortificação 1 ($0,79$ e $0,80 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente).

Finalmente observa-se que o DCPI+Diuron, 3,4-DCA e Propanil apresentaram boas recuperações nas fortificações em água destilada e deionizada, com exceção do Propanil para a concentração de $1 \times \text{LOQ}$ (não determinado por ficar abaixo do LOQ). Nas fortificações com as matrizes observa-se uma perda de recuperação para DCPI+Diuron e 3,4-DCA e um aumento nas recuperações de Propanil. As estruturas destes compostos podem

ser observadas na Tabela 2, e sua similaridade indica que pode estar ocorrendo interconversão entre as espécies em algum ponto do procedimento analítico, muito provavelmente na etapa de separação cromatográfica, que envolve altas temperaturas.

A Tabela 14 apresenta uma comparação das recuperações obtidas para os compostos em estudo, para um nível de fortificação equivalente em água destilada e deionizada, utilizando-se a LLE e a SPE. Para estas condições a SPE se mostrou mais precisa (com valores de RSD menores) em relação a LLE, porém apresentou recuperações menores para PCBTF, *o+m+p* Xileno, 3,4-DCBTF e DCPI + Diuron.

Tabela 13: Recuperações e RSD para os compostos em estudo.

	Nível de Fortificação 1		Nível de Fortificação 2		Nível de Fortificação 3		Nível de Fortificação 2		Nível de Fortificação 2	
	H ₂ O		H ₂ O		H ₂ O		Rio Taquari		Efluente	
	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)
PCBTF	79,8	12,1	60,3	3,2	62,0	7,9	57,7	4,9	50,0	7,3
<i>o+m+p</i> Xileno	124,9	32,5	57,7	4,7	88,0	8,3	77,7	9,6	66,6	6,1
PCT	107,7	14,2	83,9	5,2	83,4	8,2	78,3	9,0	71,7	6,9
3,4-DCBTF	50,6	12,6	57,7	3,9	62,3	9,2	51,7	8,5	47,7	7,6
1,2-dicloro- benzeno	62,1	8,6	98,8	7,3	97,4	7,7	90,6	11,0	85,9	5,8
Nitrobenzeno	93,0	22,8	114,7	11,3	111,5	7,3	122,4	11,3	99,9	6,9
Mononitro	89,7	20,1	128,8	8,5	115,6	6,0	105,9	12,7	111,8	6,9
DDVP+ Triclorfon	120,7	14,6	113,3	9,0	105,7	7,7	99,3	12,5	102,2	6,7
DCPI+Diuron	94,8	4,7	67,4	6,3	76,4	7,6	44,9	7,8	50,2	6,8
Dinitro	149,1	37,8	129,1	8,3	119,3	3,5	79,4	10,5	93,1	7,7
3,4-DCA	117,0	20,5	85,3	9,1	94,5	5,1	74,4	9,8	61,4	6,1
Ketone	127,7	13,1	107,2	8,4	101,5	5,8	102,9	6,6	107,2	7,4
Trifluralina	108,3	14,3	107,6	5,2	92,4	5,8	83,5	6,5	101,0	10,4
Oxirane	172,1	36,7	110,6	6,4	94,1	7,0	94,6	10,7	92,3	9,1
Lindane	109,6	15,7	112,0	9,9	111,4	6,5	113,1	10,2	115,7	8,7
Propanil	-	-	81,7	5,7	86,1	6,2	155,3	16,0	132,4	9,7
2,4-D Éster	69,8	15,7	85,8	4,1	67,7	3,3	126,7	12,6	118,4	10,2
Clorpirifós	104,9	16,4	115,7	2,0	97,5	6,7	96,3	14,1	96,6	12,7
Bromoketal	93,7	13,1	102,4	5,6	91,8	8,7	95,0	9,9	84,9	10,8
α -Endosulfan	78,8	12,4	106,6	6,5	97,2	6,8	111,7	10,2	111,3	11,9
β -Endosulfan	95,6	13,8	110,8	7,0	105,3	9,0	121,0	9,5	118,3	10,9

n = 42 (7 extrações x 6 injeções)

Tabela 14: Comparação das Recuperações e RSD para os compostos em estudo obtidas com a LLE e a SPE.

	LLE		SPE	
	(concentração equivalente ao Nível de Fortificação 2 em H ₂ O)		(Nível de Fortificação 2 em H ₂ O)	
	n = 48 (16 extrações x 3 injeções)		n = 42 (7 extrações x 6 injeções)	
	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)
PCBTF	74,6	8,9	60,3	3,2
o+m+p Xileno	87,5	15,3	57,7	4,7
PCT	88,6	10,1	83,9	5,2
3,4-DCBTF	85,0	11,4	57,7	3,9
1,2-dicloro-benzeno	96,8	16,3	98,8	7,3
Nitrobenzeno	108,1	16,4	114,7	11,3
Mononitro	104,0	9,6	128,8	8,5
DDVP+ Triclorfon	106,8	12,0	113,3	9,0
DCPI+Diuron	100,7	12,3	67,4	6,3
Dinitro	100,8	10,6	129,1	8,3
3,4-DCA	90,0	10,3	85,3	9,1
Ketone	101,1	14,8	107,2	8,4
Trifluralina	100,9	10,5	107,6	5,2
Oxirane	103,1	9,1	110,6	6,4
Lindane	102,9	10,4	112,0	9,9
Propanil	100,9	16,1	81,7	5,7
2,4-D Éster	100,0	13,9	85,8	4,1
Clorpirifós	99,1	15,4	115,7	2,0
Bromoketal	105,0	13,6	102,4	5,6
α -Endosulfan	102,5	14,0	106,6	6,5
β -Endosulfan	97,9	11,4	110,8	7,0

4.4.6. Precisão

A **repetitividade do instrumento** foi avaliada pela injeção das 10 soluções analíticas 6 vezes cada uma. A Tabela 14 apresenta os resultados com o mínimo e o máximo observado entre os 10 pontos e com a média entre estes.

Apresentaram valores de RSD acima do recomendado pela literatura os compostos DDVP+Triclorfon, Propanil e 2,4-Éster. Os demais compostos apresentaram o RSD dentro do aceitável que deve ser $\leq 15\%$ (CAUSON, 1997).

A avaliação da **repetitividade do procedimento** e da **precisão intermediária** do procedimento foi executada conforme descrito nos itens 3.9.2.5 e 3.9.2.6, respectivamente e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 15.

Para todos os compostos analisados os valores de repetitividade e precisão intermediária ficaram dentro de recomendado pela literatura, que é, para ambos $\leq 15\%$ (CAUSON, 1997; RIBANI, 2004).

Tabela 15: Valores de RSD para 6 injeções de cada uma das 10 soluções analíticas.

Composto	RSD (%)		
	Faixa de Variação		Média
PCBTF	3,5	8,9	6,9
<i>o+m+p</i> Xileno	4,9	9,5	7,5
PCT	6,0	10,9	7,8
3,4-DCBTF	6,0	9,7	8,2
1,2-dicloro-benzeno	4,5	10,8	7,7
Nitrobenzeno	3,1	14,5	8,4
Mononitro	4,7	14,9	8,4
DDVP+Triclorfon	16,7	39,7	25,5
DCPI+Diuron	3,0	12,5	7,2
Dinitro	5,0	14,6	9,2
3,4-DCA	2,9	17,0	8,9
Ketone	4,5	14,3	7,0
Trifluralina	5,4	12,5	8,3
Oxirane	3,8	12,4	6,7
Lindane	3,9	14,8	6,3
Propanil	7,0	45,3	27,4
2,4-D Éster	21,9	48,0	29,2
Clorpirifós	0,5	16,5	5,0
Bromoketal	3,7	14,9	6,4
α -Endosulfan	3,6	15,0	9,7
β -Endosulfan	4,1	14,6	10,1

n = 60 (10 soluções analíticas x 6 injeções cada)

Tabela 16: Resultados da avaliação da repetitividade e da precisão intermediária do procedimento.

Composto	Nível de Fortificação 2 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Repetitividade		Precisão Intermediária	
		Recuperação (%)	RSDr	Recuperação (%)	RSDpi
PCBTF	7,1	60,3	3,2	52,7	5,0
<i>o+m+p</i> Xileno	21,8	57,7	4,7	58,0	8,5
PCT	8,7	83,9	5,2	73,5	1,3
3,4-DCBTF	8,4	57,7	3,9	46,4	5,5
1,2-dicloro-benzeno	8,0	98,8	7,3	101,0	11,6
Nitrobenzeno	7,7	114,7	11,3	118,7	5,8
Mononitro	7,7	128,8	8,5	110,2	7,2
DDVP+Triclorfon	16,2	113,3	9,0	117,0	5,3
DCPI+Diuron	14,3	67,4	6,3	65,1	13,1
Dinitro	7,8	129,1	8,3	108,4	4,8
3,4-DCA	7,3	85,3	9,1	77,2	1,4
Ketone	7,8	107,2	8,4	99,6	5,8
Trifluralina	7,7	107,6	5,2	96,8	10,4
Oxirane	8,0	110,6	6,4	107,7	11,1
Lindane	7,3	112,0	9,9	104,5	7,9
Propanil	7,6	81,7	5,7	97,7	11,9
2,4-D Éster	7,9	85,8	4,1	90,1	7,1
Clorpirifós	7,7	115,7	2,0	89,2	6,2
Bromoketal	8,0	102,4	5,6	93,3	7,2
α -Endosulfan	5,2	106,6	6,5	111,4	5,4
β -Endosulfan	2,4	110,8	7,0	107,9	5,0

Obs.: n = 42 (7 extrações x 6 injeções) para RSDr e n = 9 (3 extrações x 3 injeções para RSD_{pi})

4.5. Aplicação do procedimento desenvolvido

O procedimento desenvolvido foi aplicado para determinar se as matrizes apresentavam algum nível de concentração dos compostos analisados. Os resultados obtidos para estas amostras encontram-se na Tabela 16.

Nenhum dos compostos do estudo foi detectado nas duas amostras utilizadas como matrizes nos testes de fortificações. No Rio Taquari, que é regularmente monitorando utilizando a LLE e a quantificação por GC-MS não se encontram historicamente, concentrações destes compostos.

E o no caso Efluente Industrial Tratado, que também é regularmente monitorado utilizando-se a LLE e a GC-MS, a amostra foi coletada em um período em que a contaminação do efluente estava bastante baixa.

Desta maneira foram obtidas as duas matrizes para os testes de fortificação, praticamente isentas dos analitos de interesse.

O procedimento desenvolvido foi aplicado para determinação dos compostos em 5 amostras coletadas em diferentes pontos do Rio Taquari e em cinco amostras de efluente industrial tratado, coletados em dias diferentes, os resultados obtidos são apresentados nas Tabelas 17 e 18, respectivamente. No Apêndice 6 é apresentado um cromatograma para uma amostra de efluente industrial tratado que apresentou contaminação com Xileno, bem abaixo do limite permitido para este composto: $300 \mu\text{g L}^{-1}$ (MILENIA, 2004).

A partir dos resultados analíticos do efluente industrial, são feitos ajustes nos parâmetros operacionais da estação de tratamento e efluentes para atender os parâmetros exigidos. Nos casos em que a estação de tratamentos não tem capacidade para remoção do composto de interesse, são tomadas medidas corretivas no processo industriais para redução/eliminação do efluente bruto, ou ainda a segregação deste, que é posteriormente sofre outras tipo de destinação final, como por exemplo incineração.

Tabela 17: Resultados analíticos para as matrizes usadas nas fortificações.

Composto	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
	Amostra do Rio Taquari 28/05/04	Amostras de Efluente Tratado 01/09/04
PCBTF	n.d.	n.d.
<i>o+m+p</i> Xileno	n.d.	n.d.
PCT	n.d.	n.d.
3,4-DCBTF	n.d.	n.d.
1,2-dicloro-benzeno	n.d.	n.d.
Nitrobenzeno	n.d.	n.d.
Mononitro	n.d.	n.d.
DDVP+Triclorfon	n.d.	n.d.
DCPI+Diuron	n.d.	n.d.
Dinitro	n.d.	n.d.
3,4-DCA	n.d.	n.d.
Ketone	n.d.	n.d.
Trifluralina	n.d.	n.d.
Oxirane	n.d.	n.d.
Lindane	n.d.	n.d.
Propanil	n.d.	n.d.
2,4-D Éster	n.d.	n.d.
Clorpirifós	n.d.	n.d.
Bromoketal	n.d.	n.d.
α -Endosulfan	n.d.	n.d.
β -Endosulfan	n.d.	n.d.

Tabela 18: Valores de concentração, em $\mu\text{g L}^{-1}$, dos compostos estudados encontrados em cinco amostras de água do Rio Taquari.

Composto	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)				
PCBTF	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>o+m+p</i> Xileno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PCT	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,4-DCBTF	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mononitro	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
DDVP+Triclorfon	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
DCPI+Diuron	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Dinitro	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,4-DCA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ketone	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Trifluralina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Oxirane	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Lindane	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Propanil	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2,4-D Éster	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Clorpirifós	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Bromoketal	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
α -Endosulfan	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
β -Endosulfan	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Tabela 19: Valores de concentração, em $\mu\text{g L}^{-1}$, dos compostos estudados encontrados em cinco amostras de efluente industrial tratado.

Composto	Amostra Saída pra o Rio, Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)				
	12/05/04	21/05/04	25/05/04	04/06/04	08/06/04
PCBTF	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>o+m+p</i> Xileno	1,6	1,6	2,0	2,3	1,5
PCT	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,4-DCBTF	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Mononitro	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
DDVP+Triclorfon	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
DCPI+Diuron	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Dinitro	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3,4-DCA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Ketone	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Trifluralina	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Oxirane	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Lindane	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Propanil	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
2,4-D Éster	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Clorpirifós	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Bromoketal	n.d.	<LOQ	n.d.	<LOQ	n.d.
α -Endosulfan	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
β -Endosulfan	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que o procedimento analítico proposto é eficiente considerando as recuperações obtidas e preciso considerando os estudos de repetitividade para determinação de PCT, Nitrobenzeno, Mononitro, DDVP+Triclorfon, Ketone, Trifluralina, Lindane, Clorpirifós, Bromoketal, α -Endosulfan e β -Endosulfan em amostras de efluente industrial tratado e de água de superfície

Os resultados obtidos para o PCBTF e o 3,4-DCBTF, que apresentaram resultados sempre abaixo do mínimo aceito para recuperação (70%), requerem uma otimização do procedimento experimental ou a validação de uma metodologia usando fator de correção para determinação da concentração real destes compostos.

Os compostos 1,2-diclorobenzeno, 2,4-D Éster, Dinitro e o Oxirane apresentaram recuperações baixas nas menores concentrações, sugerindo a necessidade de reavaliar o limite de detecção obtido e/ou os volumes de amostra e de extrato final obtido, para situar a resposta destes analitos em um ponto mais alto da curva de calibração, possivelmente melhorando suas recuperações.

Da mesma maneira o procedimento terá de ser otimizado para determinação dos compostos DCPI+Diuron, 3,4-DCA e Propanil, que apresentaram problemas de recuperação nas matrizes fortificadas, o que sugere a ocorrência de uma reação durante a preparação da amostra ou a degradação térmica, devido às altas temperaturas usadas na separação cromatográfica e na detecção.

Comparando as recuperações obtidas para o Nível de Fortificação 2, é possível verificar que a SPE levou à resultados muito semelhantes à LLE, com valores menores de RSD, indicando que a técnica é aceitável para substituição da LLE nas análises de rotina para concentrações equivalentes as testadas, com ressalva feita aos compostos PCBTF, *o+m+p* Xileno, 3,4-DCBTF e DCPI + Diuron. Para estes compostos o resultado deve ser cuidadosamente avaliado em relação ao parâmetro de controle adotado, considerando a recuperação obtida na

avaliação da concentração real do analito no Corpo Receptor ou no Efluente Tratado.

O procedimento desenvolvido se mostrou rápido e econômico, permitindo a preparação simultânea de até 8 amostras, além das reduções da quantidade de solvente utilizado em relação à extração líquido-líquido, da redução do tempo total de análise, da vidraria utilizada na análise e conseqüentemente da necessidade de limpeza e descontaminação da mesma.

Para o processo de validação foram adotadas as etapas e o número de replicatas e injeções propostas na literatura (EURACHEM, 1998; INMETRO, 2003; RIBANI *et al.*, 2004), de forma a obter dados suficientes para avaliar estatisticamente os resultados obtidos. O número de replicatas e de injeções de cada replicata (n= 42, 7 replicatas x 6 injeções cada), demandou uma quantidade muito grande de injeções e de tempo de uso contínuo do GC-ITD-MS/MS não levando a melhora significativa nos resultados finais obtidos em comparação aos resultados obtidos com n=9 (3 extrações e 3 injeções de cada) descrito em artigos pesquisados na revisão da literatura para embasamento deste trabalho.

Com base na avaliação realizada o método analítico proposto se mostrou adequado para monitoramento dos compostos no efluente tratado e nos corpos d'água receptores deste efluente, desde que observadas as limitações apresentadas para alguns compostos, e ressaltando-se que o uso do GC-ITD-MS/MS dá a informação sobre a identidade do composto e apresenta uma excelente seletividade, tornando bastante confiável o processo analítico, dispensando outros procedimentos de confirmação dos analitos, além da comparação com os padrões analíticos usados na calibração.

A aplicação do procedimento desenvolvido para controle da qualidade do efluente final tratado e das águas de superfície receptores deste efluente em substituição a LLE, devido a rapidez na preparação das amostras, permitirá um controle mais eficaz da estação de tratamento de efluentes, permitindo ajustes corretivos em menor tempo, e um melhor gerenciamento das correntes de efluentes gerados na fábrica, reduzindo o risco de contaminação ambiental nos corpos receptores. Uma avaliação inicial demonstrou que devido as reduções no consumo de reagentes, na limpeza e material e na geração de resíduos, no

procedimento de extração por SPE representa uma economia de 25% no custo dos materiais e reagentes utilizados, sem contabilizar os custos de mão-de-obra.

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Investigar o efeito tempo de ionização sobre a linearidade das curvas analíticas;
- Testar maiores razões de concentração para obtenção de menores LODs e LOQs (menor volume final e/ou maior volume de amostra);
- Investigar a estabilidade dos analitos retidos no sorvente;
- Testar cartucho Nexus com analitos mais polares, ex. 2,4-D ácido.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agilent Technologies. **Basics of LC/MS**. New York, 2001. 36 p.

AHMED, F. E., **Trends Anal. Chem.**, v. 20, p. 649, 2001.

ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, The Royal Society of Chemistry, **Analyst**, v. 119, p. 2363, 1994.

AVILLA, V. L., **Crit. Rev. Anal. Chem.**, v. 29, p. 195, 1999.

NETO, B. B., SCARMINO, I.S. & BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. Campinas, SP, Editora da Unicamp, 1995, p. 299.

BALINOVA, A., **J. Chromatogr. A** , v. 754, p. 125, 1996.

BRINKMAN, U. A., GEUS, & H., BOER, J. **Trends Anal. Chem.**, v. 15, p. 168, 1996.

BUIARELLI, F., CARTONI, G.P., COCCIOLI, F., DE ROSSI, A. & NERI, B. **J. Chromatogr. B**. v. 784, p. 1, 2003.

CARNEY, M., **European Drinking Water Standards – Journal AWWA**. p. 28, 1991.

CASTILLO, M., DOMINGUES, R., APENDURADA, M. F. & BARCELO, D. **Anal.**

Chim. Acta, v. 353, p. 133, 1997.

CATALINA, M. I., DALLÚGE, J., VREULS, R. J. J., BRINKMAN, U. A. TH., J. **Chromatogr. A** , v. 877, p. 153, 2000.

CAUSON, R., **J. Chromatogr. B**, v. 689, p. 175, 1997.

Chemservice. **MSDS On-line**, 2004. Disponível em <<http://www.chemservice.com>>. Acesso em 29/06/04.

CHIRON, S., ALBA, A. F., BARCELÓ, D., **Environ. Sci. Technol.**, v. 27, p. 2352, 1993.

COLINA, C., SÁNCHEZ-RASERO, F., CANCELA, G. D., TABOADA, E. R., PEÑA, A., **Analyst**, v. 120, p. 1723, 1995.

CONAMA. **Conselho Nacional do Meio Ambiente**, 2004. Disponível em:<<http://www.mma.gov.br/conama/>>.Acesso em 27/06/04.

CONG, A., YE, C., **J. Chromatogr. A** v. 827, p. 57, 1998.

COLLINS, C., BRAGA, G. L., BONATO, P. S., **Introdução a Métodos Cromatográficos**, Campinas, Editora Unicamp, 1995. 279 p.

DEAN, J. R. **Methods for Environmental Trace Analysis**. West Sussex: John Willey & Sons, 2003. p. 34.

DEAN, J. R., WADE, G., BARNABAS, I. J., **J. Chromatogr. A**, v. 733, p. 295, 1996.

DEGER, F. B., GREMM, T. J., FRIMMEL, F. H **Acta Hydrochim. Hydrobiol.**v. 28, p. 292, 2000

DIKSHITH, T. S. S., DIWAN, D. V., **Industrial Guide to Chemical and Drug Safety**. New Jersey: John Willey & Sons, 2003. p. 157.

DOONG, R., CHANG, S., SUN Y., **J. Chromatogr. A**, v. 879, p. 177, 2000.

Eurachem Working Group, **The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide for Method Validation and Related Topics**, 1998.

EEC. **European Environmental Comssion- The EU Water Framework Directive**, 2000. Disponível em: <http://europa.eu.int/comm/environment/water/water-framework/index_en.html>.Acessado em 26/06/04.

FAO, IAEA, AOAC Int. e IUPAC , **Guidelines for Single-laboratory Validation of Analytical Methods for Trace-level Concentration of Organic**. Budapeste: FAO, IAEA, AOAC Int. e IUPAC, 1999. 72 p.

FELTES, J., LEVSEN, K., VOLMER, D., SPIEKERMANN, M. **J. Chromatogr.**, v. 518, p. 21, 1990.

FEPAM. **Legislação,2004**. Disponível em: <<http://www.fepam.rs.gov.br/legislacao/legisResult.asp?idCompetencia=3&idTipoLegislacao=6>>.Acesso em 27/06/04.

FONT G., MAÑES J., MOLTÓ J. C., PICÓ Y., **J. Chromatogr.**, v. 642, p. 135, 1993.

FRANCOTTE, E., DAVATZ, A., RICHERT, P., **J. Chromatogr. B**, v. 686, p. 77, 1996.

GOTTLIEB, O. R. **Introdução à Espectrometria de Massas das Substâncias Orgânicas**. Rio de Janeiro: UFRJ, 1968. 175p.

HANKEMEIER, T., LEEUWEN, S. P. J., VREULS, R. J. J., BRINKAMN, U. A.. v. **J. Chromatogr. A**, v.11, p. 117, 1998.

HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro : LTC, 2001. 862p.

HEBERER, T., **Journal of Hydrology**, v. 266, p. 175, 2001.

HENNION, M. C., **J. Chromatogr. A**, v. 856, p. 3, 1999.

HOAI, P. M., TSUNOI, S., IKE, M., KURATANI, Y., KUDOU, K., VIET, P. H., FUJITA, M., TANAKA, M., **J. Chromatogr. A**, v. 1020, p. 161, 2003.

HOGENDOORN, E., ZONEN, P. **J. Chromatogr. A**, v. 892, p. 435, 2000.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos: DOQ – CGCRE-008**. Brasília, Mar. 2003. 35p.

IUPAC. **Pure Appl. Chem.**, v. 75, p. 1123, 2003.

JEFFERY, G. H., BASSET, J., MENDHAM, J., DENNEY, R. C., **VOGEL- Análise Química Quantitativa**. 5 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Kogan, 1992. p. 120.

JENKINS, T.F., MIYARES, P.H., MYERS, K. F., McCORMICK, E. T., STRONG, A. B., **Anal. Chim. Acta**, v. 289, p. 69, 1994.

KEITH, L., TELLIARD, W .A., **Environ. Sci. Technol.**, v. 13, p. 416, 1979

KELLY, C., **J. Chromatogr. A**, v. 872, p. 309, 2000.

LANÇAS, F. M., **Cromatografia em Fase Gasosa**, São Carlos, Editora Acta, 1993. 31 p.

LARINI, L. **Toxicologia dos Praguicidas**. São Paulo : Manole, 1999. p. 230.

LIEM, A. K. D. **Trends Anal. Chem.**, v. 18, p. 499, 1999

MA, W. T., FU, K.K., CAI, Z., JIANG, G.B., **Chemosphere**, v. 52, p. 1627, 2003.

MARQUEZ, M. C., ARREBOLA, F. J., GONZALEZ, F. J. E., CANO, M. L. C., VIDAL, J. L. M., **J. Chromatogr. A**, v. 939, p. 79, 2001.

MASSART, D. L., **Chemometrics: a textbook**. New York: Elsevier, 1989. p. 81.

McNEIL. E.E., OTSON R., MILES W.F., RAJABALEE F.J.M., **J. Chromatogr.**, v. 132, p. 277, 1977.

MILENIA Agro Ciências S.A. **FISQP Produtos e Matérias-Primas**, 2004.

MILLER, J., **Analyst**, v, 116, p. 3, 1991.

MITRA, S., **Sample preparation techniques in analytical chemistry**. New Jersey: John Willey & Sons, 2003. p. 88.

MOURABIT, F., DEGER, A.B., GREMM, T.J., OUASSINI, A., FRIMMEL, F.H. **Acta Hydrochim. Hydrobiol.**, v. 30. p.1085, 2002.

MUKHERJEE, I., GOPAL, M., **J. Chromatogr. A**, v. 754, p. 33, 1996.

NAMIENSIK, J., ZYGMUNT, B., **Chromatographia**, v. 56, p. 9, 2002.

NORÉN, K., SJÖVALL, J., **J. Chromatogr. A**, v. 642, p. 243, 1993.

PAN – **Pesticide Database – Chemicals**, 2004. Disponível em <http://data.pesticideinfo.org/Search_Chemicals.jsp#Chemsearch>. Acesso em 29/06/04.

PIHLSTRÖM, T., HELLSTRÖM A., AXELSSON, V., **Anal. Chim. Acta**, v. 356, p. 155, 1997.

PIMENTEL, M. F., BARROS NETO, B., **Quím. Nova**, v. 19, p. 268, 1996.

PINTO, G. M. F., **Determinação de Resíduos de Herbicidas em Águas Utilizando Extração em Fase Sólida Seguida de Separação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**, Dissertação de Mestrado, UNICAMP, Campinas, SP, 1999. 93 p.

PRIMEL, E. G., **Aplicação de Extração em Fase Sólida e Técnicas Cromatográficas para a Determinação de Herbicidas em Águas de Superfície e Acompanhamento da Degradação a Campo e no Laboratório**, Tese de Doutorado, UFSM, Santa Maria, RS, 2003. 170 p.

QUINTANA, J., MARTI, I., VENTURA, F., **J. Chromatogr. A**, v. 938, p. 3, 2003.

RANTAKOKKO, P., YRITYS, M., VARTIAINEN, T. **J. Chromatogr. A**, v. 1028, p. 179, 2004.

REDANT, G. **Trends Anal. Chem.**, v. 13, p 252, 1994.

REEVE, R.N, **Introduction to Environmental Analysis**. West Sussex: John Willey & Sons, 2002. p. 78-104.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, H. C. **Validação em Métodos Cromatográficos**. Quím. Nova, 2004 (*no prelo*).

ROCHA, J. C., ROSA, A. H., CARDOSO, A. A. **Introdução a Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2004. p. 119.

RODRIGUEZ, I., CELA, R. **J. Chromatogr. A**, v. 743 p. 283, 1996.

RODRIGUEZ, I., CELA, R. **Trends Anal. Chem.**, v. 16 p. 463, 1997.

RUIZ, R., RUIZ-ANGEL, M. A., GARCIA-ALVAREZ-COQUE, C., RAFOLS, C., ROSES, M., BOSCH, E., **J. Chromatogr. A**, v. 1028, p. 139, 2004

SABIK, H., RONDEAU, B., GAGNON P., JEANNOT R., DOHRENDORF, K., **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**. v. 83, p. 457, 2003.

SAFAROVA, V.I., SAPELNIKOVA, S.V., DJAZHENKO, E.V, TEPLOVA, G.I., SHAJDULINA, G.F., KUDASHEVA, F.Kh., **J. Chromatogr. A**, v. 800, p 325, 2004.

SAKAMATO, M., TSUTSUMI, T., **J. Chromatogr. A**, v. 1028, p. 63, 2004.

SCHRODER, H. F., **Waste Management**, v. 19, p. 111, 1999.

SHORT, P. COLBORN, T., **Toxicology and Industrial Health**, v. 15, p. 240, 1999.

SHREVE, R. N., BRINK Jr, J.A. **Indústrias de Processos Químicos**, 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabarra, 1977. p. 374 – 377.

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. **Informações do Setor, 2003**. Disponível em :<<http://www.sindag.com.br/new/setor/index.php>>. Acesso em : 26/06/04.

SKOOG, D. A. & LEARY, J. J. **Principels of Instrumental Analysis**. 4.ed. Orlando: Saunders College Publishing, 1992. p. 423

STAJNBAHER, D., ZUPANCIC-KRALJ, L., **J. Chromatogr. A**, v. 1015, p. 185, 2003.

TERNES, T. A., ANDERSEN, H., GILBERG, D., BONERZ, M., **Anal. Chem.**, v. 74, p. 3498, 2002.

TERNES, T. A., **Trends Anal. Chem.** v. 20, p, 419, 2001.

THOMPSON, M., ELLISON, S. L., FAJGELJ, A., WILLETS, P., WOOD, R., **Pure Appl. Chem.** v. 71, p. 337, 1999.

TOMLIN, C. D. S. (Ed.) **The e-Pesticide Manual**. Versão 2.0, 20th ed., British Crop Protection Council, 2000-2001.

US- EPA 525.2 **Determination of Organic Compounds in Drinking Water by Liquid-Solid Extraction and Capillary Column Gás Chromatography/Mas Spectrometry**. Rev. 2.0. Cincinnati: US-EPA, 1995. 60p.

US-EPA -**Technical Support Document for the Assessment of Detection and Quantitation Approaches**. Washington. Fevereiro. 2003. 150p.

US-EPA – **Method 8270C - Semivolite Organic Compounds by Gás Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)**. Washington: 1996, 78p.

US-EPA. 1998-1999 **Pesticide Market Estimates: Usage**, 1999. Disponível em:

<<http://www.epa.gov/oppbead1/pestsales/99pestsales/usage1999.html>>. Acesso em 26/06/04.

US-EPA. **About EPA**, 2004. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epahome/aboutepa.htm>>. Acesso em 27/06/04.

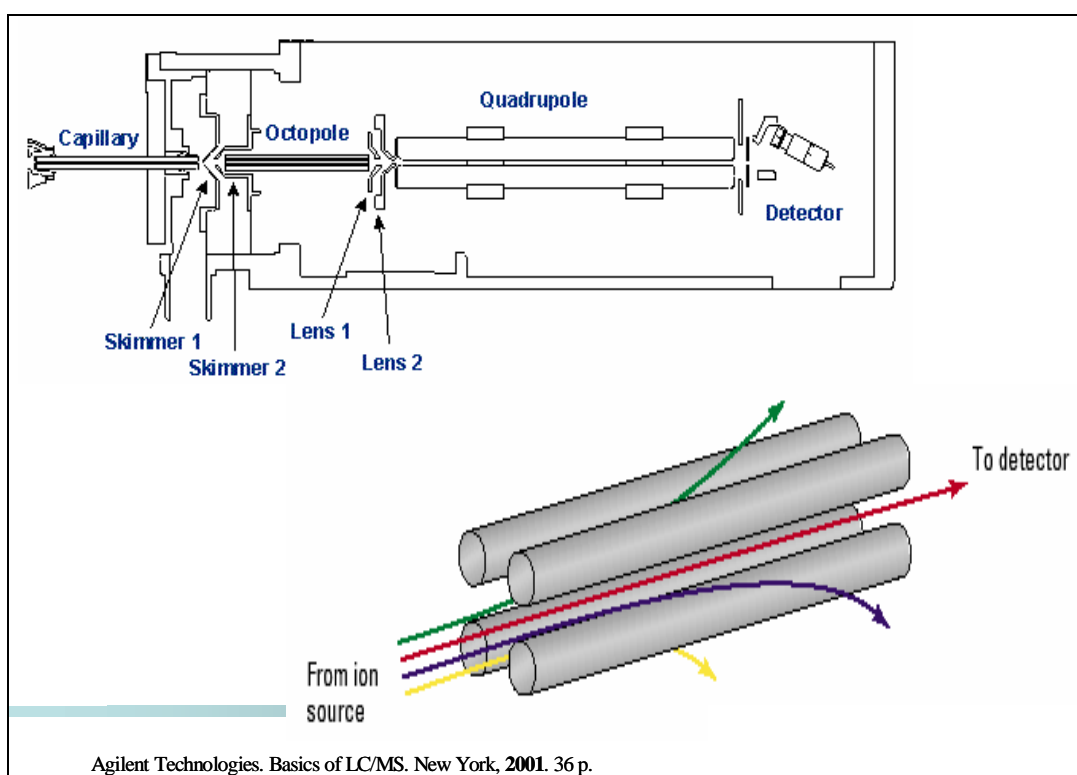
VÉKEY, K., **J. Chromatogr. A**. v. 921, p. 227, 2001.

VIDAL, J. L. M., ESPADA, M. C. P., FRENICH, A. G., ARREBOLA, F. J. J. **Chromatogr. A**. v. 867, p. 235, 2000.

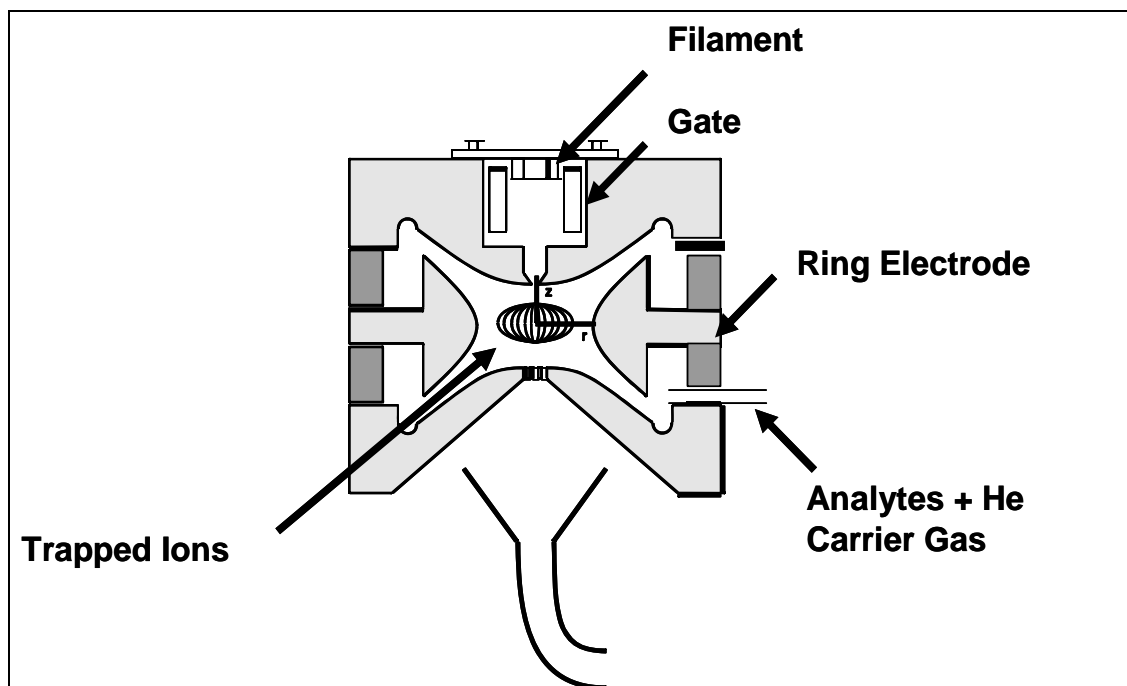
APÊNDICES

Apêndice 1:

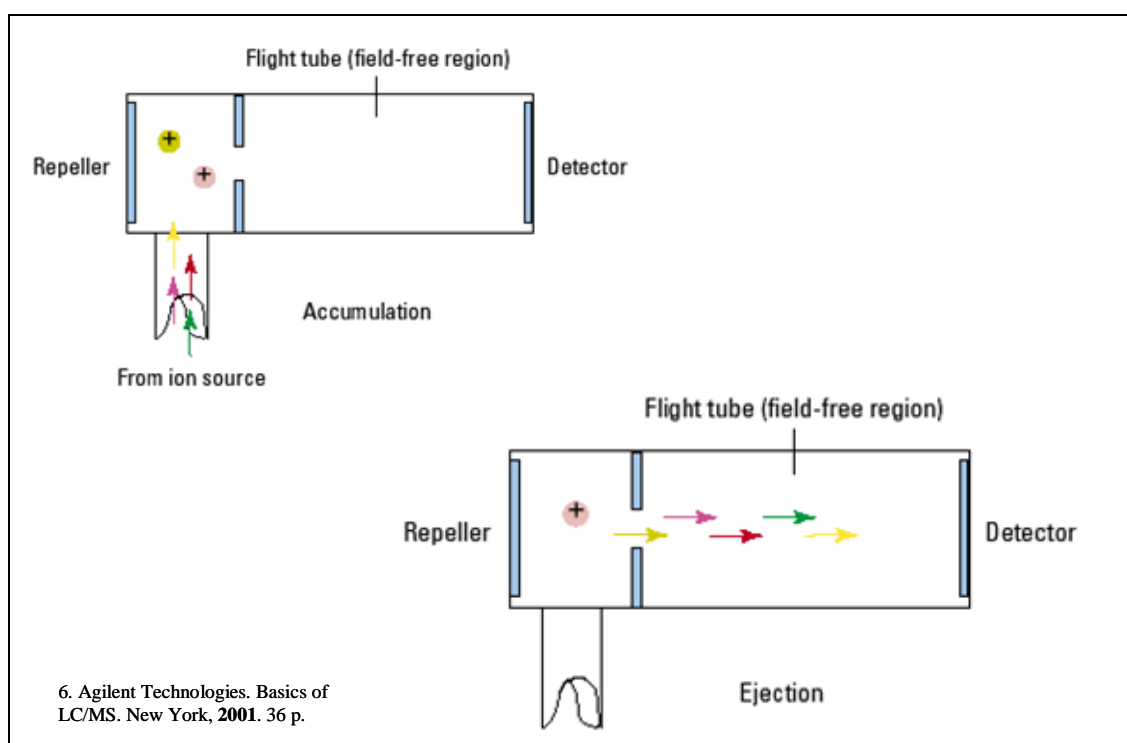
Tipos de espectrômetros de massas:



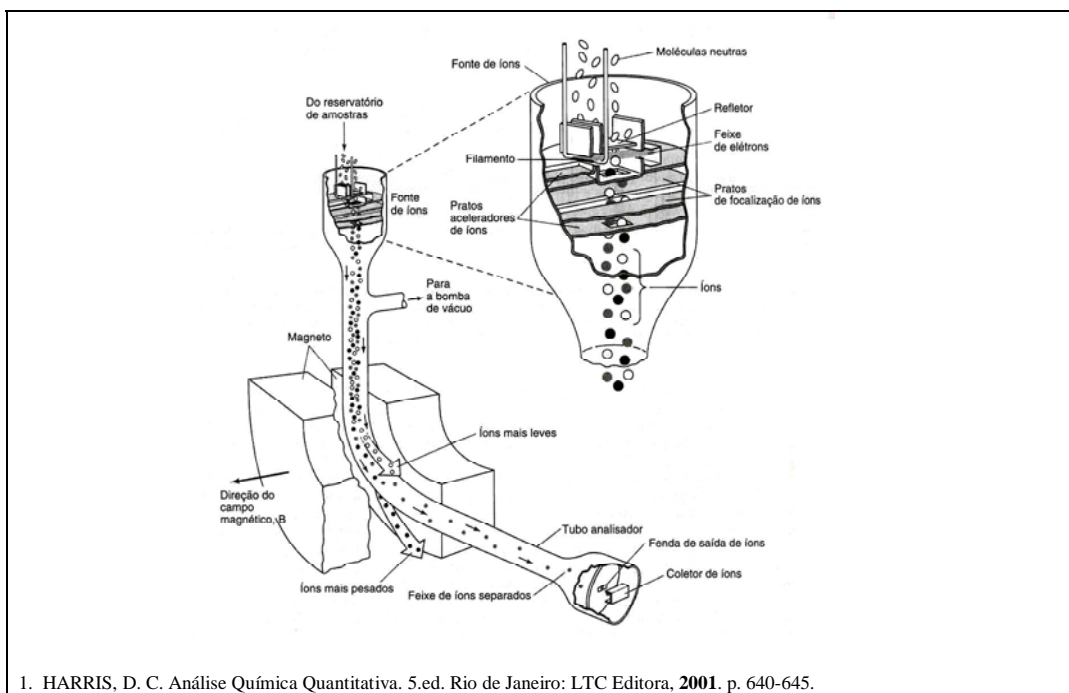
Espectrômetro de Massa Quadrupolar.



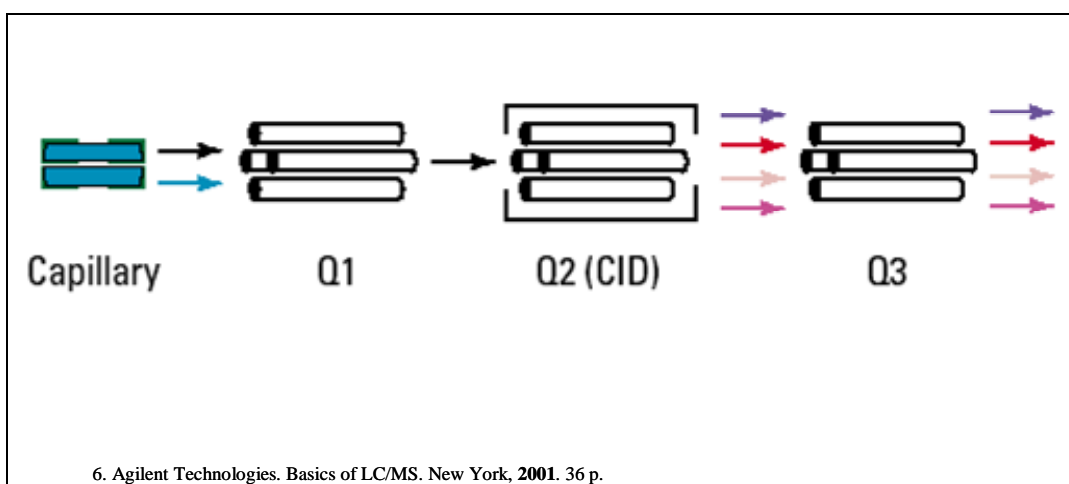
Espectrômetro de Massa Ion Trap.



Espectrômetro de Massa TOF.



Espectrômetro de Massa Setor Magnético.



Espectrômetro de Massa Triplo Quadrupolo.

Apêndice 2:**Tabela 1:** Preparação da solução estoque e das soluções intermediárias A, B, C e D.

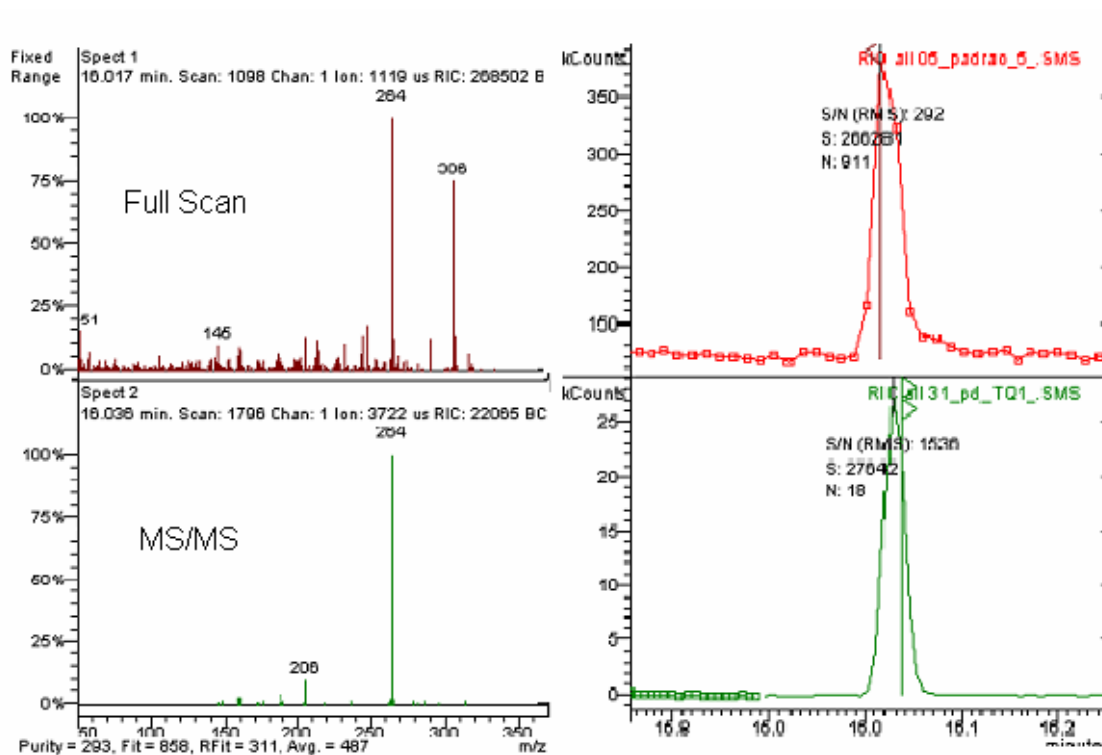
	Solução Estoque	Solução Intermediária A	Solução Intermediária B	Solução Intermediária C	Solução Intermediária D
Solução Usada	-	Sol. Estoque	Sol. Estoque	Sol. Estoque	Sol. Int. A
Volume medido (mL)	-	10	10	1	10
Volume da solução (mL)	100	100	100	100	100
Composto	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	mg L ⁻¹	µg/L
PCBTF	142,8	14,3	1,43	0,143	1428
xylene (o+m+p)	436,4	43,6	4,36	0,436	4364
PCT	173,2	17,3	1,73	0,173	1732
3,4-DCBTF	168,7	16,9	1,69	0,169	1687
1,2-Diclorobenzeno	160,9	16,1	1,61	0,161	1609
Nitrobenzeno	153,2	15,3	1,53	0,153	1532
Mononitro	154,0	15,4	1,54	0,154	1540
DDVP+Triclorfon	323,2	32,3	3,23	0,323	3232
DCPI + Diuron	286,8	28,7	2,87	0,287	2868
Dinitro	156,9	15,7	1,57	0,157	1569
3,4-DCA	145,3	14,5	1,45	0,145	1453
Ketone	156,2	15,6	1,56	0,156	1562
Trifluralina	153,9	15,4	1,54	0,154	1539
Oxirane	160,7	16,1	1,61	0,161	1607
Lindane	146,4	14,6	1,46	0,146	1464
Propanil	152,1	15,2	1,52	0,152	1521
2,4-D Éster	157,6	15,8	1,58	0,158	1576
Chlorpyrifos	153,0	15,3	1,53	0,153	1530
Bromoketal	159,6	16,0	1,60	0,160	1596
Endosulfan I	104,2	10,4	1,04	0,104	1042
Endosulfan II	47,3	4,7	0,47	0,047	473

Tabela 2: Preparação das soluções analíticas da curva de calibração de 1 a 10.

Ponto da curva	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Solução Intermediária	C	C	B	B	C	C	B	B	B	B
Volume medido (mL)	5	5	1	2	15	20	5	2	10	15
Volume da solução (mL)	200	10	100	100	100	50	100	25	100	100
Composto	Concentrações, $\mu\text{g L}^{-1}$									
PCBTF	35,7	71,4	143	286	428	571	714	1142	1428	2142
xylene (o,m,p)	109,1	218,2	436	873	1309	1745	2182	3491	4364	6546
PCT	43,3	86,6	173	346	520	693	866	1385	1732	2598
3-4-DCBTF	42,2	84,4	169	337	506	675	844	1350	1687	2531
1,2-Diclorobenzen	40,2	80,4	161	322	483	643	804	1287	1609	2413
NitroBenzeno	38,3	76,6	153	306	460	613	766	1226	1532	2298
MONONITRO	38,5	77,0	154	308	462	616	770	1232	1540	2310
DDVP + Triclorfon	80,8	161,6	323	646	970	1293	1616	2586	3232	4848
DCPI+Diuron	71,7	143,4	287	574	860	1147	1434	2294	2868	4302
DINITRO	39,2	78,4	157	314	471	628	784	1255	1569	2353
3,4 DCA	36,3	72,6	145	291	436	581	726	1162	1453	2179
KETONE	39,0	78,1	156	312	469	625	781	1249	1562	2343
TRIFLURALINA	38,5	77,0	154	308	462	616	770	1231	1539	2309
OXIRANE	40,2	80,4	161	321	482	643	804	1286	1607	2411
LINDANE	36,6	73,2	146	293	439	585	732	1171	1464	2196
PROPANIL	38,0	76,0	152	304	456	608	760	1217	1521	2281
2,4-D-Ester	39,4	78,8	158	315	473	630	788	1261	1576	2364
Chlorpyrifós	38,3	76,5	153	306	459	612	765	1224	1530	2296
BROMOKETAL 1	39,9	79,8	160	319	479	638	798	1277	1596	2394
ENDOSULFAN	26,1	52,1	104	208	313	417	521	834	1042	1563
ENDOSULFAN II	11,8	23,6	47,3	94,5	142	189	236	378	473	709

Apêndice 3:

Cromatogramas e espectros de massas no modo de aquisição Full Scan e MS-MS para a Trifluralina demonstrando o ganho na relação sinal ruído no modo MS/MS.



Apêndice 4

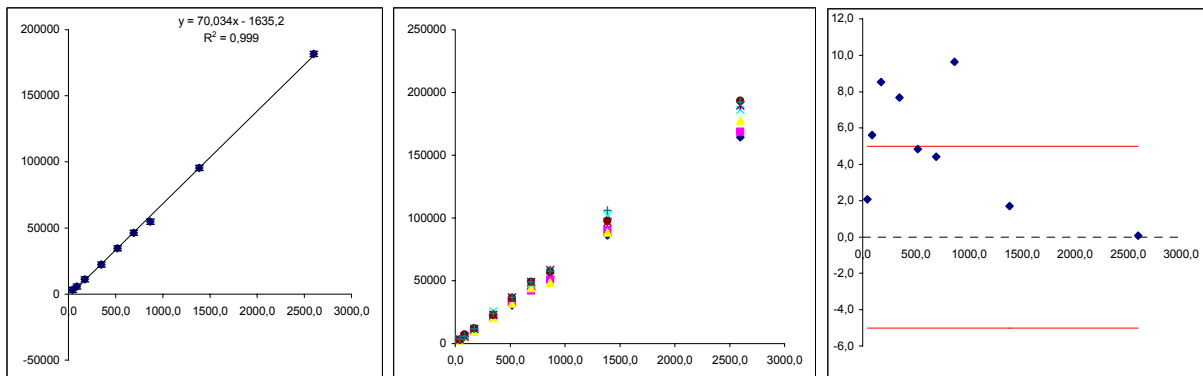
Planilha do Microsoft Excel usada para cálculo dos resultados para o modelo de curva analítica linear.

PCT

05_05 e 05_11

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Instrumento (ug/L) 43,3 2597,8 Fator de Concentração 100 Método (ug/L) 0,43 25,98
 Faixa de Trabalho Faixa Linear de Reposta



	0	1	TQA_5 2	TQA_4 3	TQA_3 4	5	6	TQA_2 7	8	TQA_1 9	10	Total
xi	0	43,3	86,6	173,2	346,4	519,5	692,7	865,9	1385,5	2597,8		
y	0	2925	5418	10330	20623	30507	42963	53391	86329	164305		
	1	2985	5232	10450	20623	33442	42162	50856	90176	168749		
	2	2679	5119	9560	20305	32039	44351	48606	88373	177715		
	3	3608	6003	11721	25510	36821	48087	56991	102170	186210		
	4	3184	5489	11868	23081	36689	49033	58597	96747	189674		
	5	2753	7065	12020	22718	36199	49135	57219	97807	193459		
	6	3536	5743	11712	23928	36702	48871	57896	106056	192412		
	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Média	0	3096	5724	11094	22398	34628	46372	54794	95380	181789		

Repetitividade do Instrumento (Injeções)

SD	337,3	613,4	893,1	1823,5	2417,8	2861,8	3596,8	6823,7	10843,6	Média
RSD	10,9	10,7	8,0	8,1	7,0	6,2	6,6	7,2	6,0	7,8

Teste de Linearidade (Calculo dos Resíduos)

((S- b)/(Q*100))/a	102,09	94,39	91,47	92,33	95,17	95,58	90,35	98,30	99,92	Média
((S- b)/(Q*100))/a-100	2,1	5,6	8,5	7,7	4,8	4,4	9,6	1,7	0,1	5,0

Parâmetros da Curva de Calibr

a = 70,0343
 b = -1635,1967
 r² = 0,9990

Teste F

Total y	0	21670	40069	77661	156788	242399	324602	383556	667658	0	1272524	3186927	1,6121E+11
xi^2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
y^2	0	1874,890	7497,83	29991,31	119972,173	269932,19	479888,694	749817,417	1919527,04	0	6748357,07	0	2,6996E+10
	0	8555625	29354724	106708900	425308129	930677049	1845819369	2850598881	7452696241	0	2,8476E+10	0	3,1583E+10
	0	8910225	27373824	109202500	425308129	1118367364	1777634244	2586332736	8131710976	0	3,4674E+10	0	3,5976E+10
	0	7177041	26204161	91393600	412293025	1026497521	1967011201	2362543236	7809787129	0	3,7426E+10	0	3,7022E+10
	0	13017664	36036009	137381841	650760100	1355786041	2312359569	3247974081	1,0439E+10	0	0	0	0
	0	10137856	30129121	140849424	532732561	1346082721	2404235089	3433608409	9359982009	0	0	0	0
	0	7579009	49914225	144480400	516107524	1310367601	2414248225	3274013961	9566209249	0	0	0	0
	0	12503296	32982049	137170944	572549184	1347036804	2388374641	3351946816	1,1248E+10	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Soma	0	67880716	231994113	867187609	3535058652	8434815101	1,511E+10	2,1107E+10	6,4007E+10	0	2,3215E+11	3,4551E+11	
Soma/ n level	0	67084128,6	229360680	861604417	3511782421	8393896457	1,5052E+10	2,1016E+10	6,3681E+10	0	2,3133E+11	3,4414E+11	
n	9	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	63	
n * xi	0	303,099993	606,129972	1212,25995	2424,58997	3636,84992	4849,17993	6061,43988	9698,2898	0	18184,3201	46976,1595	
n * xi^2	0	13124,2294	52484,7919	209939,17	839805,214	1889525,33	3359220,86	5248721,92	13436689,3	0	47238499,5	72288010,3	
x * soma y	0	938310,978	3469574,55	13449331,4	54306658,8	125938398	224864786	332128805	925020110	0	3305711959	4985827933	

b = 70,0343
 nt = 63 número total de observações
 ni = 7 repetições no nível n
 p = 2 parâmetros do modelo
 k = 9 níveis de variável x

Source of Variation	Degrees of Freedom	MS	F	Test
Due to regression	SSreg = 1,8275E+11	1	MS reg 1,8275E+11	MSreg/MSr 7207 Pass
Lack of fit	SSlof = #####	7	MSlof 25241476	MSlof/MSpe 0,99
Pure Error	SSpe = 1370124654	54	MSpe 25372678,8	DFpe = 54 INVF(prob;DFlof;DFpe) DFlof = 7
Residues	SSr = #####	61	MSr 25357622,7	F Tab 0,1 1,83 Pass F Tab 0,05 2,18 Pass F Tab 0,01 2,99 Pass
Total	SSt = 1,843E+11	62		

% da variação explicada: 99,16 0,9990

LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO E LIMITE DE DETECÇÃO

Cálculo da Incerteza da Regressão

Nível	X	média y	xy	x ²	ycalc	y-ycalc	d = desvio vertical = y-ycalc	d ²	0
Incluir o zero? =	n								
n =	9	43,3	3096	134044	1875	1397	1698,4	2884644	1
	9	86,6	5724	495654	7498	4429	1295,1	1677197	2
		173,2	11094	1921333	29991	10493	601,1	361295	3
		346,4	22398	7758094	119972	22623	-224,3	50316	4
		519,5	34628	17991200	269932	34751	-122,7	15059	5
		692,7	46372	32123541	479889	46880	-508,7	258753	6
		865,9	54794	47446972	749817	59009	-4215,2	17768120	7
		1385,5	95380	132145730	1919527	95395	-15,6	242	8
		0,0	0	0	0	0	0,0	0	9
		2597,8	181789	472244566	6748357	180297	1491,9	2225849	10
y = mx+b	6710,9	455275,286	712261133	10326859	455275,2857	-2,18279E-10	0	25241476	
y=ax+b									
D =	dv-pd(y)								
	47905818,1	1898,9274							
m =	dv-dp(m)								
	70,0343	0,8231							
b =	dv-dp(b)								
	-1635,1967	881,6543							
r2 =	0,9990								

Encontrando a incerteza em x com a Eq. 5-15

Número de valores repetidos de y medido(k) = 7

Incerteza em x = 13,8 2,41 %

x calculado = 573,02

Cálculos do DL, LD e LQ e RL

	S/N	Colins	Volum de Amostra		Eurachem	Guid. (p.43)	CUADROS	Observações	Injeção do Menor Padrão		
			100 mL	1 mL							
Instrumental	-	-	INMETRO		-	1,895	9	R = a + bc	Conc. = 43,3 ug/L		
			Bc	Pd							
DL	43,3	41,5	30,8	15,14	2,6	23,9	76,1	R = y	Áreas(y)	X calc	
LD	86,6	125,9	36,7	47,6	8,7	31,35	-	a = b	1	2925	65,1
LQ	86,6							b = a	2	2985	66,0
RL	86,6							c = x	3	2679	61,6
								Guidelines = t vem dos pontos da curva	4	3608	74,9
								Considerar em sinal, ou seja	5	3184	68,8
								o sinal que produz resposta 0	6	2753	62,7
									7	3536	73,8
									8		
									9		
									s =	337,3	4,817

INTERFERÊNCIA DA EXTRAÇÃO NA RESPOSTA DO PADRÃO

BRANCO EXTRAÍDO	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	206	667	501	134	94	561	269	26,3	32,9	30,5	25,3	24,7	31,4	27,2
2	462	538	187	459	396	228	442	29,9	31,0	26,0	29,9	29,0	26,6	29,7
3	195	497	149	455	197	113	634	26,1	30,4	25,5	29,8	26,2	25,0	32,4
4	30	172	497	402		314	192	23,8	25,8	30,4	29,1		27,8	26,1
5	140	283	325				89	25,3	27,4	28,0				24,6
6	859						321	35,6						27,9
7														
8														
9														
Média	315,333333	431	332	363	229	304	325	27,9	29,5	28,1	28,5	26,6	27,7	28,0
s =	302	200	166	155	154	190	193	4,3	2,9	2,4	2,2	2,2	2,7	2,8
MÉDIA														28,0
S =														0,9
RSD =														3,11

BRANCO EXTRAÍDO, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	61326	60452	61297	51556	51484	51500	50797	899,0	886,5	898,6	759,5	758,5	758,7	748,7
2	60154	59278	60742	50960	50684	52934	49563	882,3	869,8	890,7	751,0	747,1	779,2	731,0
3	58328	58505	60401	52806	51022	53858	50547	856,2	858,7	885,8	777,4	751,9	792,4	745,1
4	58470	62428	59226	52338	52046	52496	51018	858,2	914,7	869,0	770,7	766,5	772,9	751,8
5	60589	59347	60987	51384	52258	53675	50463	888,5	870,7	894,2	757,0	769,5	789,8	743,9
6	59529	59729	56801	50815	52878	52892	50632	873,3	876,2	834,4	748,9	778,4	778,6	746,3
7														
8														
9														
Média	59732,6667	59957	59909	51643	51729	52893	50503	876,3	879,4	878,8	760,7	762,0	778,6	744,5
s =	1188	1367	1682	783	819	854	501	17,0	19,5	24,0	11,2	11,7	12,2	7,2
MÉDIA														811,5
S =														63,2
RSD =														7,78

Teste t para Interferência no BRANCO EXTRAÍDO, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Área	P (xCalc)	B+P	Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
						d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m))^2		
1	53391	785,7	876,3	F. Calc. =	0,77	sp =	59,45	90,6	84,8	7194,31
2	50856	749,5	879,4	(vogel p. 116)		t Calc =	0,18	129,9	124,2	15428,58
3	48606	717,4	878,8					161,4	155,7	24230,26
4	56991	837,1	760,7	F. Tabel.0,10	3,05 pass	t. Tabel.0,10 :	1,78 pass	-76,4	-82,1	6739,05
5	58597	860,0	762,0	F. Tabel.0,05	4,28 pass	t. Tabel.0,05 :	2,18 pass	-98,1	-103,8	10774,95
6	57219	840,4	778,6	F. Tabel.0,01	8,47 pass	t. Tabel.0,01 :	3,05 pass	-61,8	-67,5	4557,38
7	57896	850,0	744,5					-105,6	-111,3	12385,30
8										
9										
Média	54794	806	811			Soma d		40,1		81309,84
S	3885,0	55,5	63,2			Média d		5,73		
RSD	7,09	6,88	7,78			n =		7		
n =		7	7			sd		116,41		
gl =		6	6			t calc =		0,130		
						t. Tabel.0,10 :		1,94 pass		
						t. Tabel.0,05 :		2,45 pass		
						t. Tabel.0,01 :		3,71 pass		

TESTE DE RECUPERAÇÃO EM TRÊS NÍVEIS

Fortificação 1 x LOQ

Volume Inicial =	100	100	100	100	100	100	100									
Volume final =	1	1	1	1	1	1	1									
Conc. Real =	86,6	86,6	86,6	86,6	86,6	86,6	86,6	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
Áreas								Conc.								
Replicatas	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7		
Injeções	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7		
1	4617		3594	5987	5275	5636	4764	0,89		0,75	1,09	0,99	1,04	0,91		
2	4329		3566	5407	4929	5929	4696	0,85		0,74	1,01	0,94	1,08	0,90		
3	5090		3253	5371	5457	5331	3972	0,96		0,70	1,00	1,01	0,99	0,80		
4	5065		3141	5659	4701	5812	5048	0,96		0,68	1,04	0,90	1,06	0,95		
5	4002		3596	5528	5101	6006	4968	0,80		0,75	1,02	0,96	1,09	0,94		
6	4792		3215	5411	5755	6131	5097	0,92		0,69	1,01	1,06	1,11	0,96		
7																
8																
9																
Média	4649		3394	5561	5203	5808	4758	0,90		0,72	1,03	0,98	1,06	0,91		
s =	427		213	234	377	288	416	0,06		0,03	0,03	0,05	0,04	0,06		
MÉDIA							4895									0,93
S =							855,5									0,12
RSD =							17,48									13,2
Recovery (%)								103,6		82,9	118,7	112,8	122,7	105,4		
Mean Recovery (%)																107,7
Estimativa da Incerteza =				±	0,129 ug/L	n =		6								
(Intervalo de Confiança)				13,8 %		gl (n-1)=		5	Expressão do Resultado = 0,93 ± 0,129 ug/L							
						t (0,05;gl)=		2,57	ou 0,93 ug/L ± 13,8 %							

Fortificação 1 0x LOQ

Volume Inicial =	100	100	100	100	100	100	100									
Volume final =	1	1	1	1	1	1	1									
Conc. Real =	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	8,66	8,66	8,66	8,66	8,66	8,66	8,66	8,66	8,66
Áreas								Conc.								
Replicatas	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7		
Injeções	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7		
1	56383	49721	51576	46628	44697	49044	48648	8,28	7,33	7,60	6,89	6,62	7,24	7,18		
2	56462	48328	47228	46939	42865	48215	48547	8,30	7,13	6,98	6,94	6,35	7,12	7,17		
3	55174	52346	49688	48988	46220	49239	48167	8,11	7,71	7,33	7,23	6,83	7,26	7,11		
4	55225	49510	49220	49358	44779	48607	47495	8,12	7,30	7,26	7,28	6,63	7,17	7,02		
5	55212	49836	47754	49164	46345	45444	48760	8,12	7,35	7,05	7,25	6,85	6,72	7,20		
6	54634	51603	49883	49304	45386	48112	47986	8,03	7,60	7,36	7,27	6,71	7,10	7,09		
7																
8																
9																
Média	55515	50224	49225	48397	45049	48110	48267	8,16	7,40	7,26	7,14	6,67	7,10	7,13		
s =	737	1477	1570	1260	1275	1379	480	0,11	0,21	0,22	0,18	0,18	0,20	0,07		
MÉDIA							49255									7,27
S =							3192,0									0,45
RSD =							6,48									6,3
Recovery (%)								94,2	85,5	83,9	82,5	77,0	82,0	82,3		
Mean Recovery (%)																83,9
Estimativa da Incerteza =				±	0,421 ug/L	n =		7								
(Intervalo de Confiança)				5,8 %		gl (n-1)=		6	Expressão do Resultado = 7,27 ± 0,421 ug/L							
						t (0,05;gl)=		2,45	ou 7,27 ug/L ± 5,8 %							

Fortificação 20x LOQ

Volume Inicial =	100	100	100	100	100	100	100									
Volume final =	1	1	1	1	1	1	1									
Conc. Real =	1731,8	1731,8	1731,8	1731,8	1731,8	1731,8	1731,8	17,32	17,32	17,32	17,32	17,32	17,32	17,32	17,32	17,32
Áreas								Conc.								
Replicatas	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7		
Injeções	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7		
1	102939	109156	101562	106941	99673	84882	94157	14,93	15,82	14,74	15,50	14,47	12,35	13,68		
2	99375	106090	101104	107833	101763	80072	89923	14,42	15,38	14,67	15,63	14,76	11,67	13,07		
3	103326	109246	103014	112272	99632	82692	89389	14,99	15,83	14,94	16,26	14,46	12,04	13,00		
4	100485	107039	100451	112361	99589	82268	87713	14,58	15,52	14,58	16,28	14,45	11,98	12,76		
5	96475	108138	103646	112932	98807	84171	88303	14,01	15,67	15,03	16,36	14,34	12,25	12,84		
6	101310	115676	105102	112450	101140	84861	89798	14,70	16,75	15,24	16,29	14,67	12,35	13,06		
7																
8																
9																
Média	100652	109224	102480	110798	100101	83158	89881	14,61	15,83	14,87	16,05	14,53	12,11	13,07		
s =	2527	3388	1753	2667	1112	1867	2268	0,36	0,48	0,25	0,38	0,16	0,27	0,32		
MÉDIA							99470									14,44
S =							9555,8									1,42
RSD =							9,61									9,8
Recovery (%)								84,3	91,4	85,8	92,7	83,9	69,9	75,5		
Mean Recovery (%)																83,4
Estimativa da Incerteza =				±	1,312 ug/L	n =		7								
(Intervalo de Confiança)				9,1 %		gl (n-1)=		6	Expressão do Resultado = 14,44 ± 1,312 ug/L							
						t (0,05;gl)=		2,45	ou 14,44 ug/L ± 9,1 %							

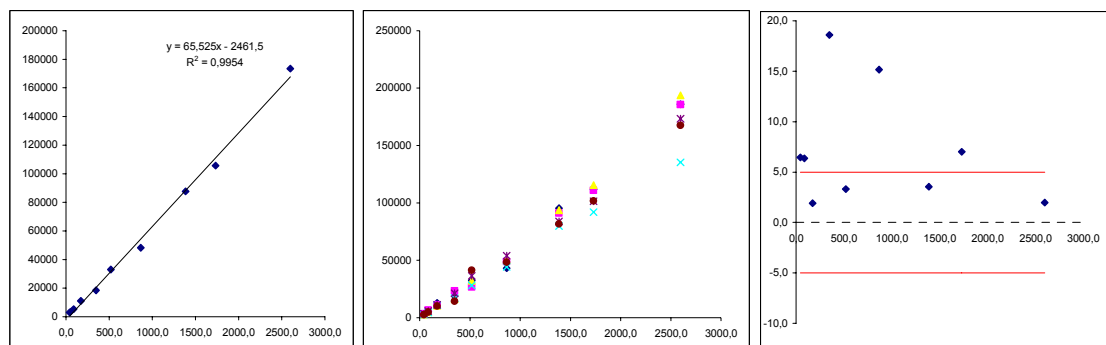
Mean Total Recovery (%) **91,7**

Mean RSD (%) **9,8**

PCT
06_02

CURVA DE CALIBRAÇÃO

Faixa de Trabalho Instrumento (ug/L) Fator de Concentração Método (ug/L)
 Faixa Linear de Reposta 43,3 2597,8 100 0,43 25,98



	0	1	TQA_5 2	TQA_4 3	TQA_3 4	5	6	TQA_2 7	8	TQA_1 9	10	Total	TQA_2 7
xi	0	43,3	86,6	173,2	346,4	519,5	865,9	1385,5	1731,8	2597,8			865,9
y	0	3202	5298	13054	18962	32608	43107	95473	111782	185881			43107
	1	3414	6590	11174	23137	26582	48964	91214	110919	185608			48964
	2	2823	4908	10311	16235	32244	50115	93545	115436	193766			50115
	3	2836	4503	11015	16898	28106	44285	79762	92060	135476			44285
	4	3324	5826	11156	21280	36566	54084	83856	101427	173229			52047
	5	2525	4759	10079	14335	41357	48317	81570	101600	167401			48317
	6												52047
	7												
	8												
	9												
Média	0	3021	5314	11132	18475	32911	48145	87570	105537	173560			

Repetitividade do Instrumento (Injeções)

SD	315,8	709,6	956,8	3013,4	4972,8	3654,5	6085,4	7958,0	19121,0	Média
RSD	10,5	13,4	8,6	16,3	15,1	7,6	6,9	7,5	11,0	10,8

Teste de Linearidade (Calculo dos Resíduos)

((S- b)/(Q*100))/a	106,47	93,66	98,10	81,40	96,67	84,85	96,46	93,00	101,96	Média
((S- b)/(Q*100))/a-100	6,5	6,3	1,9	18,6	3,3	15,1	3,5	7,0	2,0	7,1

Parâmetros da Curva de Calibr

a = 65,5250
 b = -2461,5012
 r² = **0,9954**

Teste F

Source of Variation		Degrees of Freedom	MS	F	Test
Due to regression	SSreg =	1,5901E+11	1	MS reg 1,5901E+11	MSreg/MSr 2161 Pass
Lack of fit	SSlof =	#####	7	MSlof 105599859	MSlof/MSpe 1,54
Pure Error	SSpe =	3087955917	45	MSpe 68621242,6	DFpe = 45 DFlof = 7 INVF(prob;DFlof;DFpe)
Residues	SSr =	#####	52	MSr 73599133,2	F Tab 0,1 1,85 Pass F Tab 0,05 2,22 Pass F Tab 0,01 3,07 Pass
Total	SSst =	1,6284E+11	53		

% da variação explicada: 97,65 0,9955

% máxima de variação explicável: 98,10

FORTIFICAÇÃO DE ÁGUA DO RIO TAQUARI

BRANCO Extraído Matriz 1 - Rio Taquari

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	691	719	569	212	237	610	1027	48,1	48,5	46,2	40,8	41,2	46,9	53,2
2	861	661	756	406	668	933	567	50,7	47,7	49,1	43,8	47,8	51,8	46,2
3	770	321	629	562	837	873	886	49,3	42,5	47,2	46,1	50,3	50,9	51,1
4	479	323	841	266	814	1323	1185	44,9	42,5	50,4	41,6	50,0	57,8	55,7
5	969	545	1314	602	909	469	556	52,4	45,9	57,6	46,8	51,4	44,7	46,1
6	525	790	957	882	764	759	852	45,6	49,6	52,2	51,0	49,2	49,1	50,6
7														
8														
9														
Média	715,8	560	844	488	705	828	846	48,5	46,1	50,5	45,0	48,3	50,2	50,5
s =	190	201	270	247	243	296	250	2,9	3,1	4,1	3,8	3,7	4,5	3,8
MÉDIA					p1 =	3021	712							48,44
S =							263							2,18
RSD =							36,9							4,5

BRANCO EXTRAÍDO Matriz 1 - Rio Taquari, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	48476	49366	53068	54623	55796	57423	55964	777,4	791,0	847,5	871,2	889,1	913,9	891,7
2	43146	49090	56614	53728	56278	60134	57069	696,0	786,7	886,3	857,5	896,4	955,3	908,5
3	52835	53527	54918	53961	57084	57590	56667	843,9	854,5	875,7	861,1	908,7	916,5	902,4
4	49458	52385	53200	56244	55106	57942	56187	792,4	837,0	849,5	895,9	878,6	921,8	895,1
5	46533	48917	55122	54656	56406	57091	56019	747,7	784,1	878,8	871,7	898,4	908,9	892,5
6	48920	49992	55342	55396	57112	58021	54264	784,2	800,5	882,2	883,0	909,2	923,0	865,7
7														
8														
9														
Média	48228	50546	54544	54768	56297	58034	56028	773,6	809,0	870,0	873,4	896,7	923,2	892,6
s =	3224	1936	1117	932	770	1084	963	49,2	29,5	17,0	14,2	11,8	16,5	14,7
MÉDIA							54064							862,65
S =							3580							52,78
RSD =							6,6							6,1

Teste t para Interferência no BRANCO EXTRAÍDO Matriz 1 - Rio Taquari, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Área	P (xCalc)	B+P Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
					d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m))^2		
1	43107	695,4	725,1 F. Calc. =	1,00	sp=	52,55	29,7	-28,1	790,30
2	48964	784,8	855,1 (vogel p. 116)		t Calc =	1,90	70,3	12,5	155,76
3	50115	802,4	819,5				17,1	-40,6	1651,14
4	44285	713,4	828,4 F.Tabel.0,10	3,45 pass	t.Tabel.0,10 =	1,81 fail	115,0	57,2	3270,82
5	52047	831,9	848,4 F.Tabel.0,05	5,05 pass	t.Tabel.0,05 =	2,23 pass	16,5	-41,2	1700,49
6	48317	774,9	873,0 F.Tabel.0,01	10,97 pass	t.Tabel.0,01 =	3,17 pass	98,1	40,3	1625,06
7									
8									
9									
Média	47806	767	825		Soma d		346,7		9193,56
S	3446,7	52,6	52,5		Média d		57,78		
RSD	7,21	6,86	6,36		n=		6		
n =		6	6		sd		42,88		
gl =		5	5		t calc =		3,300		
					t.Tabel.0,10 =		2,02 fail		
					t.Tabel.0,05 =		2,57 fail		
					t.Tabel.0,01 =		4,03 pass		

Fortificação 10 x LOQ, Matriz 1 - Rio Taquari

865,9								8,66	8,66	8,66	8,66	8,66	8,66	8,66
	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Replicatas	100	100	100	100	100	100	100							
Injeções	35843	44125	36392	44681	39049	50979	40216	5,85	7,11	5,93	7,19	6,34	8,16	6,51
	36385	44132	35329	44029	41291	47709	38943	5,93	7,11	5,77	7,10	6,68	7,66	6,32
	37216	46987	35672	45606	40208	50698	39160	6,06	7,55	5,82	7,34	6,51	8,11	6,35
	35234	44434	35840	48364	40678	47220	38907	5,75	7,16	5,85	7,76	6,58	7,58	6,31
	35643	45619	36707	46109	39600	48944	39648	5,82	7,34	5,98	7,41	6,42	7,85	6,43
	38318	47023	37195	47070	41318	50587	38608	6,22	7,55	6,05	7,56	6,68	8,10	6,27
7														
8														
9														
Média	36440	45387	36189	45977	40357	49356	39247	5,94	7,30	5,90	7,39	6,53	7,91	6,37
s =	1147	1369	700	1583	917	1637	587	0,16	0,19	0,10	0,22	0,13	0,23	0,08
MÉDIA							41850							6,76
S =							4907,5							0,78
RSD =							11,73							11,5
Recovery (%)								68,6	84,3	68,1	85,4	75,5	91,3	73,5
Mean Recovery (%)														78,1

Teste t para Interferência na Fortificação 10 x LOQ, Matriz 1 - Rio Taquari

	Área	P (xCalc)	B+P Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
					d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m))^2		
1	43107	695,4	593,7 F. Calc. =	0,40	sp=	69,55	-101,7	-17,5	305,68
2	48964	784,8	730,2 (vogel p. 116)		t Calc =	2,10	-54,6	29,7	880,40
3	50115	802,4	589,9				-212,5	-128,3	16450,78
4	44285	713,4	739,2 F.Tabel.0,10	3,45 pass	t.Tabel.0,10 =	1,81 fail	25,8	110,1	12117,82
5	52047	831,9	653,5 F.Tabel.0,05	5,05 pass	t.Tabel.0,05 =	2,23 pass	-178,4	-94,1	8861,15
6	48317	774,9	790,8 F.Tabel.0,01	10,97 pass	t.Tabel.0,01 =	3,17 pass	15,9	100,1	10025,11
7									
8									
9									
Média	47806	767	683		Soma d		-505,6		48640,93
S	3446,7	52,6	83,1		Média d		-84,27		
RSD	7,21	6,86	12,17		n=		6		
n =		6	6		sd		98,63		
gl =		5	5		t calc =		2,093		
					t.Tabel.0,10 =		2,02 fail		
					t.Tabel.0,05 =		2,57 pass		
					t.Tabel.0,01 =		4,03 pass		

FORTIFICAÇÃO DE EFLUENTE DA SAÍDA PARA O RIO

BRANCO Extraído Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	716	826	716	699	406	723	570	48,5	50,2	48,5	48,2	43,8	48,6	46,3
2	892	823	756	633	655	810	86	51,2	50,1	49,1	47,2	47,6	49,9	38,9
3	949	742	561	576	1406	976	895	52,0	48,9	46,1	46,4	59,0	52,5	51,2
4	1104	1023	858	1010	877	692	372	54,4	53,2	50,7	53,0	51,0	48,1	43,2
5	1126	963	752	950	1024	56	538	54,8	52,3	49,0	52,1	53,2	38,4	45,8
6	908	819	542	651	490	472	634	51,4	50,1	45,8	47,5	45,0	44,8	47,2
7														
8														
9														
Média	949,16667	866	698	753	810	622	516	52,1	50,8	48,2	49,1	49,9	47,1	45,4
s =		151	105	123	181	373	271	2,3	1,6	1,9	2,8	5,7	4,9	4,1
MÉDIA					p1=	3021	745							48,93
S =							280							2,25
RSD =							34,9							4,6

BRANCO EXTRAÍDO Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

Desconta valor do branco

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	43642	45007	47719	41725	40403	46662	47563	655,1	674,3	717,3	626,1	610,4	701,1	717,2
2	44100	46072	47528	39542	51454	48949	49444	659,4	690,6	713,8	593,8	775,3	734,7	753,3
3	47147	46790	47093	44564	46596	41980	48114	705,0	702,8	710,1	671,3	689,7	625,8	720,6
4	43784	45686	46716	43905	48068	48678	50444	651,4	681,6	699,9	654,6	720,2	732,3	764,2
5	46906	46668	45820	47790	47336	44522	48334	698,7	697,5	687,8	714,8	706,8	678,6	729,4
6	46672	48258	44898	48899	52074	49587	50595	698,4	724,0	676,9	736,3	787,2	749,6	762,5
7														
8														
9														
Média	45375,1667	46414	46629	44404	47655	46730	49082	730,1	745,9	749,2	715,2	764,8	750,7	786,6
s =	1693	1116	1084	3543	4194	2977	1271	25,1	17,5	15,9	53,5	64,1	46,0	21,3
MÉDIA							46613							748,94
S =							2756							23,02
RSD =							5,9							3,1

Teste t para Interferência no BRANCO EXTRAÍDO Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Área	P (xCalc)	B+P	Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
						d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m))²/2		
1	43107	695,4	782,1	F. Calc. =	9,42	sp=	39,12	86,7	61,6	3799,98
2	48964	784,8	796,7	(vogel p. 116)		t Calc =	1,11	11,9	-13,2	173,31
3	50115	802,4	797,4					-5,0	-30,0	900,79
4	44285	713,4	764,3	F.Tabel.0,10	3,45	fail	t.Tabel.0,10 =	1,81	pass	50,9
5	52047	831,9	814,8	F.Tabel.0,05	5,05	fail	t.Tabel.0,05 =	2,23	pass	-17,1
6	48317	774,9	797,8	F.Tabel.0,01	10,97	pass	t.Tabel.0,01 =	3,17	pass	22,8
7										
8										
9										
Média	47806	767	792					150,1		7322,00
S	3446,7	52,6	17,1					25,02		
RSD	7,21	6,86	2,16					n=	6	
n =		6	6					sd	38,27	
gl =		5	5					t calc =	1,602	
								t.Tabel.0,10 =	2,02	pass
								t.Tabel.0,05 =	2,57	pass
								t.Tabel.0,01 =	4,03	pass

Fortificação 10 x LOQ, Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio

	Área	P (xCalc)	B+P	Teste F	Teste t	Conc.									
						1	2	3	4	5	6	7			
Volume Inicial =	100														
Volume final =	1														
Conc. Real =	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	865,9	
Replicatas															
Injeções	1	36533	31870	41651	37162	43091	43474	43791	5,47	4,74	6,25	5,56	6,51	6,52	6,60
2	40255	36214	25310	40531	46648	42909	47608	6,01	5,40	3,75	6,09	7,02	6,42	7,25	7,25
3	43468	36606	38815	44108	44987	42981	46306	6,49	5,47	5,84	6,64	6,65	6,41	6,93	6,93
4	43062	37345	40576	44574	46441	43835	47599	6,40	5,54	6,06	6,65	6,95	6,58	7,21	7,21
5	39791	36159	44299	42866	49494	43673	37534	5,90	5,37	6,65	6,37	7,40	6,66	5,65	5,65
6	42610	34766	36261	41337	45517	46165	47382	6,36	5,18	5,45	6,21	6,87	6,97	7,13	7,13
7															
8															
9															
Média	40953	35493	37819	41730	46030	43840	45037	6,11	5,28	5,67	6,25	6,90	6,60	6,79	6,79
s =	2642	1964	6696	2723	2123	1198	3953	0,36	0,27	0,93	0,37	0,28	0,19	0,56	0,56
MÉDIA							41557								6,23
S =							4823,8								0,60
RSD =							11,61								9,6
Recovery (%)								70,5	61,0	65,4	72,2	79,7	76,2	78,5	78,5
Mean Recovery (%)															71,9

Teste t para Interferência na Fortificação 10 x LOQ, Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio

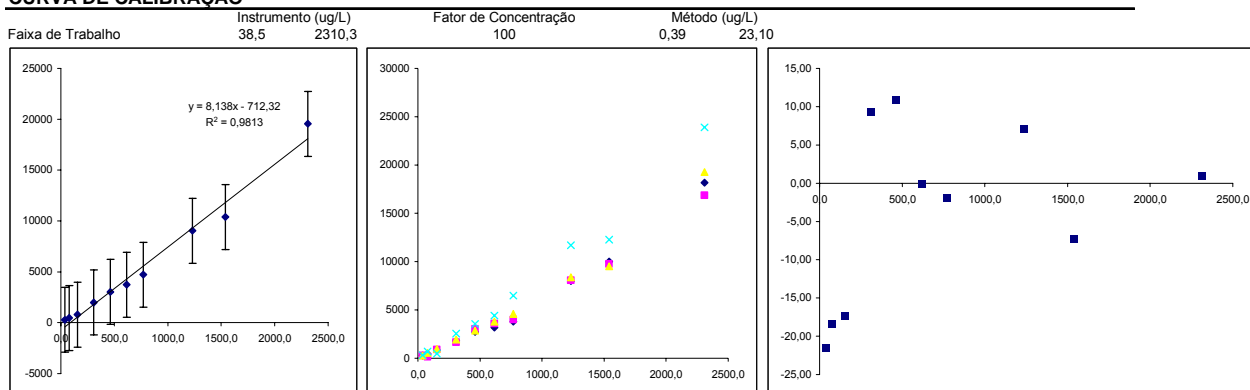
	Área	P (xCalc)	B+P	Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
						d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m))²/2		
1	43107	695,4	662,6	F. Calc. =	0,80	sp=	55,81	-32,9	71,3	5089,64
2	48964	784,8	579,2	(vogel p. 116)		t Calc =	3,23	-205,6	-101,4	10275,56
3	50115	802,4	614,7					-187,7	-83,4	6963,32
4	44285	713,4	674,4	F.Tabel.0,10	3,45	pass	t.Tabel.0,10 =	1,81	fail	-39,0
5	52047	831,9	740,0	F.Tabel.0,05	5,05	pass	t.Tabel.0,05 =	2,23	fail	-91,8
6	48317	774,9	706,6	F.Tabel.0,01	10,97	pass	t.Tabel.0,01 =	3,17	fail	-68,3
7										
8										
9										
Média	47806	767	663					-625,3		28022,01
S	3446,7	52,6	58,8					-104,21		
RSD	7,21	6,86	8,88					n=	6	
n =		6	6					sd	74,86	
gl =		5	5					t calc =	3,410	
								t.Tabel.0,10 =	2,02	fail
								t.Tabel.0,05 =	2,57	fail
								t.Tabel.0,01 =	4,03	pass

Apêndice 5

Planilha do Microsoft Excel usada para cálculo dos resultados para o modelo de curva analítica quadrático.

Mononitro

CURVA DE CALIBRAÇÃO



	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total	Média
xi	0	38,5	77,0	154,0	308,0	462,0	616,1	770,1	1232,1	1540,2	2310,3	770,1	770,1
y	0	268	459	832	1808	2741	3181	3780	8015	10004	18181	1	4565
	1	0	279	133	902	1645	3022	3581	3987	8065	9747	2	4163
	2	0	278	538	954	1940	2854	3778	4593	8385	9534	3	4358
	3	0	313	689	480	2537	3539	4401	6489	11685	12259	4	3780
	4	0										5	3987
	5	0										6	0,9914
	6	0											
	7	0											
	8	0											
	9	0											
Média	0	285	455	792	1983	3039	3735	4712	9038	10386	19556		

Repetitividade do Instrumento (Injeções)

SD	17,0	203,3	185,3	336,8	305,5	440,5	1068,4	1535,1	1094,1	2643,8	Média	17,7
RSD	6,0	44,7	23,4	17,0	10,1	11,8	22,7	17,0	10,5	13,5		

Cálculo dos Resíduos

y calc	362,67	556,79	958,23	1814,03	2740,53	3737,66	4805,43	8432,50	11203,69	19367,96		
ym-ycalc	-78,17	-102,04	-166,23	168,47	298,47	-2,41	-93,18	605,00	-817,69	187,79		9,33

Cálculos do Modelo Quadrático

	y	x	y	x	x2
1	285	38,5	285	39	1482
2	455	77,0	455	77	5931
3	792	154,0	792	154	23722
4	1983	308,0	1983	308	94882
5	3039	462,0	3039	462	213490
6	3735	616,1	3735	616	379542
7	4712	770,1	4712	770	593039
8	9038	1232,1	9038	1232	1518169
9	10386	1540,2	10386	1540	2372124
10	19556	2310,3	19556	2310	5337301

x^i	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	38,5	77,0	154,0	308,0	462,0	616,1	770,1	1232,1	1540,2	2310,3
	1482,25	5930,54041	23722,1616	94882,4803	213490,191	379542,254	593038,65	1518169,02	2372123,76	5337301,31

$x^i x^j$	10	7508,3401	10539682,6		$x^i y$	53979,5	$y = b_0x^2 + b_1x + b_2$
	7508,3401	10539682,6	1,8677E+10			80423367,7	$y = ax^2 + bx + c$
	10539682,6	1,8677E+10	3,697E+13			1,478E+11	

$(x^i x^j)^{-1}$	0,37373912	-0,0007393	2,6695E-07	$b =$	$(x^i x^j)^{-1} x^i y$	173,014444	$b_2 = c$
	-0,0007393	2,3684E-06	-9,857E-10			4,86884538	$b_1 = b$
	2,6695E-07	-9,857E-10	4,4894E-13				$b_0 = a$

							$y = 0,00149x^2 + 4,869x + 173,01$
							$x = 64$
							$x = -22,5$
							$x^i = -3247,6$

Teste F (Bruns)

nt =	40	número total de observações
ni =	4	repetições no nível n
p =	3	parâmetros do modelo
k =	10	níveis de variável x

Source of Variation		Degrees of Freedom	MS	F	Test
Due to regression	SSreg =	2	MS reg = 268861987,1	MSreg/MSr = 390	Pass
Lack of fit	SSlof =	7	MSlof = 688548,4	MSlof/MSpe = 1,00	
Pure Error	SSpe =	30	MSpe = 689582,3	DFpe = 30	INVF(prob;DFlof;DFpe)
Residues	SSr =	37	MSr = 689386,7	DFlof = 7	
Total	SSt =	39		F Tab 0,1 = 1,93	Pass
				F Tab 0,05 = 2,33	Pass
				F Tab 0,01 = 3,30	Pass

% da variação explicada: 95,47 $r^2 = 0,9914$

% máxima de variação explicável: 96,33

LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO E LIMITE DE DETECÇÃO

Cálculo da Incerteza da Regressão

Nível	X	média y	xy	x ²	y _{calc}	y-y _{calc}	d = desvio vertical = y-y _{calc}	d ²	
Incluir o zero? =	n								
n =	10	38,5	285	10953	1482	3234	-2949,1	8696913	
	10	77,0	455	35020	5931	3270	-2815,1	7924516	
		154,0	792	121984	23722	3342	-2550,3	6503980	
		308,0	1983	610669	94882	3487	-1504,8	2264295	
		462,0	3039	1404170	213490	3632	-593,2	351926	
		616,1	3735	2301175	379542	3777	-42,0	1761	
		770,1	4712	3628857	593039	3922	790,1	624199	
		1232,1	9038	11135465	1518169	4357	4680,4	21906072	
		1540,2	10386	15996206	2372124	4647	5738,9	32935528	
		18181,0	19556	355543091	330548761	20311	-755,1	570111	
y = mx+b	23379,1	53979,5	390787591	335751142	53979,5	1,81899E-12	0	81779301	
y=ax+b									
D =	dv-pd(y)								
2810930037	3197,2508								
m =	dv-dp(m) =	Encontrando a incerteza em x com a Eq. 5-15							
0,9413	0,1907	Número de valores repetidos de y medido(k) =							
b =	dv-dp(b) =	y medido =	2						
3197,3134	1104,9953	79	Incerteza em x =						
r2 =	0,7528	x calculado	2869,3 -86,61 %						

Cálculos do DL, LD e LQ e RL

	S/N	Colins	Volume de Amostra			Guid. (p.43)	CUADROS	Observações	Injeção do Menor Padrão		
			Bc	Pd	Eurachem				Conc. =	Áreas(y)	X calc
Instrumental						t _{7,0,005} = 1,895	10	R = a + bc	38,5 ug/L		
DL	-							R = y			
LD	78,7	3873,9	-11,0	21,3	10,6	-8,68	9607,3	a = b	1	268	19,4
LQ	156,9	11739,2	12,8	66,8	35,3	-	-	b = a	2	279	21,6
RL	156,9							c = x	3	278	21,4
								Guidelines = t vem dos pontos da curva	4	313	28,5
								Considerar em sinal, ou seja	5	243	14,3
								o sinal que produz resposta 0	6	347	35,4
Teórico						t _{7,0,005} = 1,895	10		7		
DL	-								8		
LD	0,79	38,74	-0,11	0,21	0,11	-0,09	96,07	FALTA CALCULAR PARA RIO E EFLUENTE	9		
LQ	1,57	117,39	0,13	0,67	0,35	-	-				
RL	1,57								s =	33,4	6,765

INTERFERÊNCIA DA EXTRAÇÃO NA RESPOSTA DO PADRÃO**BRANCO EXTRAÍDO**

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	68	59	104	77	86	69	125	-21,7	-23,6	-14,2	-19,8	-18,0	-21,5	-9,9
2	4	91	74	58	15	115	101	-35,1	-16,9	-20,5	-23,8	-32,8	-12,0	-14,9
3	97	74	117	7	65	8	21	-15,7	-20,5	-11,5	-34,5	-22,3	-34,3	-31,5
4		66	74	16	91	62			-22,1	-20,5	-32,6	-16,9	-23,0	
5		30	90	48					-29,6	-17,1	-25,9			
6			100							-15,1				
7														
8														
9														
Média	56,3333333	64	93	41	64	64	82	-24,16	-22,55	-16,49	-27,31	-22,51	-22,67	-18,76
s =	48	22	17	29	35	44	54	9,9	4,7	3,6	6,1	7,2	9,1	11,3
MÉDIA							67							-22,1
S =							35							3,5
RSD =							52,1							-16,00

BRANCO EXTRAÍDO, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	5032	5032	5111	5052	4994	5193	4714	801,5	801,5	812,4	804,3	796,3	823,6	757,3
2	5153	4753	5096	4848	4780	5120	4723	818,1	762,8	810,3	776,0	766,5	813,6	758,6
3	5233	4784	4839	4936	5182	5591	5173	829,1	767,1	774,8	788,3	822,1	877,4	820,9
4	5457	4977	4868	5184	4873	5738	5108	859,4	793,9	778,8	822,4	779,5	897,0	812,0
5	5659	5193	5366	4880	5552	5189	4945	886,5	823,6	847,1	780,5	872,2	823,1	789,5
6	5573	5311	4474	4959	5524	5586	4856	875,0	839,7	723,4	791,4	868,4	876,7	777,1
7														
8														
9														
Média	5351	5008	4959	4977	5151	5403	4920	844,93	798,10	791,13	793,81	817,50	851,89	785,89
s =	249	220	305	124	329	265	193	33,7	30,4	42,4	17,1	44,9	35,8	26,7
MÉDIA							5110							811,9
S =							295							26,9
RSD =							5,8							3,32

Teste t para Interferência no BRANCO EXTRAÍDO, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Área	P (xCalc)	B-P Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
					d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m)) ²		
1	4565	736,3	844,9 F. Calc. =	3,10	sp=	38,18	108,6	-18,0	325,07
2	4163	678,7	798,1 (vogel p. 116)		t Calc =	5,75	119,4	-7,2	52,27
3	4358	706,8	791,1				84,3	-42,3	1791,78
4	3780	622,4	793,8 F. Tabel.0,10	3,45 pass	t. Tabel.0,10 =	1,81 fail	171,4	44,8	2003,09
5	3987	653,0	817,5 F. Tabel.0,05	5,05 pass	t. Tabel.0,05 =	2,23 fail	164,5	37,9	1433,47
6	4593	740,2	851,9 F. Tabel.0,01	10,97 pass	t. Tabel.0,01 =	3,17 fail	111,6	-15,0	225,86
7									
8									
9									
Média	4241	690	816	118,4 %			Soma d	760,0	5831,53
S	324,2	46,9	26,7				Média d	126,67	
RSD	7,65	6,81	3,27				n=	6	
n =		6	6				sd	34,15	
gl =		5	5				t calc =	9,086	
							t. Tabel.0,10 =	2,02 fail	
							t. Tabel.0,05 =	2,57 fail	
							t. Tabel.0,01 =	4,03 fail	

Teste F (Bruns)

n	9	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	54
ym	652,666667	962,166667	1858,5	3898,5	8171,16667	11022,5	20862,3333	24414,5	43745,1667			12843,1
y-calc	464,66	945,18	1932,03	4009,32	8579,07	11071,40	19378,02	25607,18	43600,63			
(y-calc-ygm)^2	153224639,0	141559382,0	119050416,2	78034854,5	18181564,5	3138759,0	42705747,2	162922933,3	946028251,2	0,0		
	153224639,0	141559382,0	119050416,2	78034854,5	18181564,5	3138759,0	42705747,2	162922933,3	946028251,2	0,0		
	153224639,0	141559382,0	119050416,2	78034854,5	18181564,5	3138759,0	42705747,2	162922933,3	946028251,2	0,0		
	153224639,0	141559382,0	119050416,2	78034854,5	18181564,5	3138759,0	42705747,2	162922933,3	946028251,2	0,0		
	153224639,0	141559382,0	119050416,2	78034854,5	18181564,5	3138759,0	42705747,2	162922933,3	946028251,2	0,0		
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
Resíduos	16215,09	949,72	210650,83	42982,27	276601,34	3611524,91	5494246,94	357822,15	211022,81	0,00		
	324146,31	26,86	162435,49	1178697,45	1368733,92	1248585,56	2056301,51	2335341,35	3938747,56	0,00		
	88602,38	1382,54	6078,87	461477,92	2420915,12	1648,26	8369339,08	2142762,06	22585041,39	0,00		
	6294,60	1666,06	848301,53	468296,14	4853521,74	358084,06	8202604,82	37017275,10	101719888,41	0,00		
	158673,55	8615,08	117626,46	329106,83	638514,43	5662490,21	6759901,21	42511,17	13369057,56	0,00		
	63171,03	407,34	8,80	567493,53	7274191,86	814684,50	6244906,05	41283,08	16559789,99	0,00		
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
Lack of Fit	35345,94	288,46	5407,08	12281,44	166385,93	2391,33	2203189,04	1422491,23	20891,48	0,00		
(y-calc-ym)^2	35345,94	288,46	5407,08	12281,44	166385,93	2391,33	2203189,04	1422491,23	20891,48	0,00		
	35345,94	288,46	5407,08	12281,44	166385,93	2391,33	2203189,04	1422491,23	20891,48	0,00		
	35345,94	288,46	5407,08	12281,44	166385,93	2391,33	2203189,04	1422491,23	20891,48	0,00		
	35345,94	288,46	5407,08	12281,44	166385,93	2391,33	2203189,04	1422491,23	20891,48	0,00		
	35345,94	288,46	5407,08	12281,44	166385,93	2391,33	2203189,04	1422491,23	20891,48	0,00		
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		
Pure Error	3680,444444	191,361111	283556,25	9312,25	872044,6944	3428052,25	739026,7778	353430,25	99120,02778	0		
	145415,1111	491,361111	108570,25	1431612,25	2489558,028	1141692,25	2533,444444	112560,25	4533350,694	0		
	235872,1111	2934,027778	22952,25	323192,25	3856641,361	8010,25	1984341,778	7056992,25	21232128,03	0		
	11808,44444	568,027778	718256,25	328902,25	3222623,361	301950,25	18908002,78	23926772,25	104656310	0		
	44240,11111	5750,694444	173472,25	468540,25	153011,3611	5897612,25	1244712,111	973182,25	12332973,36	0		
	4011,111111	1381,361111	5852,25	412806,25	5240284,028	905352,25	1029548,444	979110,25	15404316,69	0		
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

nt = 54 número total de observações
 ni = 6 repetições no nível n
 p = 3 parâmetros do modelo
 k = 9 níveis de variável x

Source of Variation	SS	Degrees of Freedom	MS	F	Test
Due to regression	SSreg = 9989079282,0	2	MS reg 4994539641,0	MSreg/MSr	940 Pass
Lack of fit	SSlof = 23212031,6	6	MSlof 3868671,9	MSlof/MSpe	0,70
Pure Error	SSpe = 247828613,2	45	MSpe 5507302,5	DFpe = 45 DFlof = 6	INVF(prob;DFlof;DFpe)
Residues	SSr = 271040644,8	51	MSr 5314522,4	F Tab 0,1 1,91 F Tab 0,05 2,31	Pass
Total	SSt = 10260119926,8	53		F Tab 0,01 3,23	Pass

% da variação explicada: 97,36 $r^2 = 0,9977$

% máxima de variação explicável: 97,58

FORTIFICAÇÃO DE ÁGUA DO RIO TAQUARI

BRANCO Extraído Matriz 1 - Rio Taquari

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	108	87	121	116	15	9	107	0,09	0,08	0,11	0,10	0,02	0,01	0,09
2	176	107	156	90	98	74	96	0,15	0,09	0,13	0,08	0,09	0,07	0,08
3	246	26	96	94	82	82	155	0,21	0,03	0,08	0,08	0,07	0,07	0,13
4	129	83	95	93			94	0,11	0,07	0,08	0,08			0,08
5	96		73	14			112	0,08		0,07	0,02			0,10
6						6	12						0,01	0,02
7														
8														
9														
Média	151	76	108	81	65	43	96	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1
s =	61	35	32	39	44	41	47	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
MÉDIA							92							0,08
S =							51							0,03
RSD =							55,4							36,2

BRANCO EXTRAÍDO Matriz 1 - Rio Taquari, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	10258	10162	11002	10977	11749	12333	12020	720,8	714,9	765,9	764,4	810,5	845,0	826,6
2	10637	9942	11602	11337	12361	11952	11830	743,8	701,4	801,8	786,0	846,6	822,6	815,3
3	10690	11256	10357	11011	12628	11625	13558	747,1	781,2	726,8	766,5	862,2	803,2	915,9
4	9767	9960	11832	11511	12338	13232	11885	690,5	702,5	815,5	796,4	845,3	897,2	818,6
5	10827	10956	11076	11713	12563	12474	12119	755,4	763,1	770,4	808,4	858,4	853,2	832,4
6	11298	11119	11832	11027	12419	11964	12383	783,7	773,0	815,5	767,4	850,0	823,3	847,9
7														
8														
9														
Média	10579,5	10566	11284	11263	12343	12263	12299	740,21	739,32	782,64	781,52	845,50	840,73	842,78
s =	521	609	580	307	313	562	647	31,7	37,0	34,8	18,3	18,4	32,9	37,6
MÉDIA							11514							796,10
S =							884							47,17
RSD =							7,7							5,9

Teste t para Interferência no BRANCO EXTRAÍDO Matriz 1 - Rio Taquari, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

Área	P (xCalc)	B+P	Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
					d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m)) ²		
1	9171	653,4	740,2 F. Calc. =	3,87	sp=	70,59	86,8	64,4	4144,51
2	9954	702,1	739,3 (vogel p. 116)		t Calc =	0,57	37,2	14,8	220,15
3	11112	772,5	782,6				10,1	-12,3	150,99
4	10473	733,9	781,5 F. Tabel.0,10	3,40 fail	t. Tabel.0,10 =	1,80 pass	47,6	25,2	637,24
5	13451	909,8	845,5 F. Tabel.0,05	4,95 pass	t. Tabel.0,05 =	2,20 pass	-64,3	-86,6	7507,62
6	11974	823,9	840,7 F. Tabel.0,01	10,67 pass	t. Tabel.0,01 =	3,11 pass	16,9	-5,5	30,52
7									
8									
9									
Média	11023	766	788		Soma d		134,4		12691,04
S	1528,6	91,5	46,5		Média d		22,40		
RSD	13,87	11,94	5,90		n=		7		
n =		7	6		sd		45,99		
gl =		6	5		t calc =		1,288		
					t. Tabel.0,10 =		1,94 pass		
					t. Tabel.0,05 =		2,45 pass		
					t. Tabel.0,01 =		3,71 pass		

Fortificação 10 x LOQ, Matriz 1 - Rio Taquari

770,1								770,1						
Replicatas	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	9714	11469	10024	11698	10737	14954	12254	6,9	7,9	7,1	8,1	7,5	9,9	8,4
2	10009	12243	9789	12339	10678	14329	11781	7,1	8,4	6,9	8,5	7,5	9,6	8,1
3	10164	13453	10111	12147	10436	15151	10711	7,1	9,1	7,1	8,3	7,3	10,1	7,5
4	10151	12995	10528	13246	11189	14510	12405	7,1	8,8	7,4	9,0	7,8	9,7	8,5
5	10285	12886	10397	14099	11726	15844	11367	7,2	8,8	7,3	9,5	8,1	10,4	7,9
6	10961	13056	10963	13134	10856	15134	12131	7,6	8,9	7,6	8,9	7,6	10,0	8,3
7														
8														
9														
Média	10214	12684	10302	12777	10937	14987	11775	7,18	8,65	7,23	8,71	7,62	9,96	8,12
s =	415	712	418	877	458	538	641	0,23	0,38	0,23	0,46	0,25	0,27	0,35
MÉDIA							11954							8,21
S =							1682,5							0,99
RSD =							14,08							12,1
Recovery (%)								93,2	112,3	93,9	113,0	98,9	129,4	105,4
Mean Recovery (%)														106,6

Teste t para Interferência na Fortificação 10 x LOQ, Matriz 1 - Rio Taquari

Área	P (xCalc)	B+P	Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
					d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m)) ²		
1	9171	653,4	718,0 F. Calc. =	0,71	sp=	100,33	64,5	7,9	62,40
2	9954	702,1	865,2 (vogel p. 116)		t Calc =	0,98	163,1	106,5	11336,64
3	11112	772,5	723,3				-49,2	-105,8	11196,22
4	10473	733,9	870,5 F. Tabel.0,10	3,45 pass	t. Tabel.0,10 =	1,81 pass	136,6	80,0	6400,30
5	13451	909,8	761,9 F. Tabel.0,05	5,05 pass	t. Tabel.0,05 =	2,23 pass	-147,9	-204,5	41819,85
6	11974	823,9	996,4 F. Tabel.0,01	10,97 pass	t. Tabel.0,01 =	3,17 pass	172,6	115,9	13441,17
7									
8									
9									
Média	11023	766	823		Soma d		339,8		84256,59
S	1528,6	91,5	108,5		Média d		56,63		
RSD	13,87	11,94	13,18		n=		6		
n =		6	6		sd		129,81		
gl =		5	5		t calc =		1,069		
					t. Tabel.0,10 =		2,02 pass		
					t. Tabel.0,05 =		2,57 pass		

FORTIFICAÇÃO DE EFLUENTE DA SAÍDA PARA O RIO

BRANCO Extraído Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	438	298	394	440	380	293	203	0,36	0,25	0,33	0,37	0,32	0,25	0,17
2	476	433	417	285	318	293	294	0,39	0,36	0,35	0,24	0,27	0,25	0,25
3	403	388	307	371	292	297	314	0,34	0,32	0,26	0,31	0,24	0,25	0,26
4	489	415	481	420	298	303	265	0,40	0,34	0,40	0,35	0,25	0,25	0,22
5	510	471	335	160	330	327	241	0,42	0,39	0,28	0,14	0,28	0,27	0,20
6	474	434	281	379	348	284	197	0,39	0,36	0,24	0,32	0,29	0,24	0,17
7														
8														
9														
Média	465	407	369	343	328	300	252	0,39	0,34	0,31	0,29	0,27	0,25	0,21
s =	38	60	75	104	33	15	48	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0
MÉDIA														0,29
S =														0,06
RSD =														19,4

BRANCO EXTRAÍDO Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

	Áreas							Conc.						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	9854	9814	10339	9434	9287	11482	11402	695,9	693,5	725,7	669,9	660,7	794,7	789,9
2	10089	10405	10938	9799	12420	11704	12559	710,4	729,7	762,1	692,5	850,1	807,9	858,2
3	11356	11318	11128	10374	10759	9658	12676	787,2	784,9	773,5	727,8	751,2	683,8	865,0
4	10063	10691	10934	10283	11784	10865	12786	708,8	747,1	761,8	722,3	812,6	757,7	871,4
5	10550	10348	10464	12526	12244	10346	12834	738,6	726,3	733,3	856,3	839,7	726,1	874,2
6	11025	11579	10800	11684	12984	12744	11821	767,3	800,5	753,7	806,7	882,9	868,9	814,8
7														
8														
9														
Média	10489,5	10693	10767	10683	11580	11133	12346	734,69	746,98	751,69	745,91	799,54	773,18	845,57
s =	598	656	304	1183	1348	1087	592	36,3	39,7	18,4	71,3	81,1	65,2	34,8
MÉDIA														771,08
S =														39,32
RSD =														5,1

Teste t para Interferência no BRANCO EXTRAÍDO Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio, Seco com N2 + 1 mL de pd nível 7

Área	P (xCalc)	B+P	Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
					d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m))²		
1	9171	653,4	734,7 F. Calc. =	14,92	sp=	66,82	81,3	88,5	7834,49
2	9954	702,1	747,0 (vogel p. 116)		t Calc =	0,19	44,9	52,2	2719,74
3	11112	772,5	751,7				-20,8	-13,6	184,51
4	10473	733,9	745,9 F. Tabel.0,10	3,45 fail	t. Tabel.0,10 =	1,81 pass	12,0	19,3	372,19
5	13451	909,8	799,5 F. Tabel.0,05	5,05 fail	t. Tabel.0,05 =	2,23 pass	-110,2	-103,0	10600,04
6	11974	823,9	773,2 F. Tabel.0,01	10,97 fail	t. Tabel.0,01 =	3,17 pass	-50,7	-43,4	1884,96
7									
8									
9									
Média	11023	766	759		Soma d		-43,6		23595,93
S	1528,6	91,5	23,7		Média d		-7,26		
RSD	13,87	11,94	3,12		n=		6		
n =		6	6		sd		68,70		
gl =		5	5		t calc =		0,259		
					t. Tabel.0,10 =		2,02 pass		
					t. Tabel.0,05 =		2,57 pass		
					t. Tabel.0,01 =		4,03 pass		

Fortificação 10 x LOQ, Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio

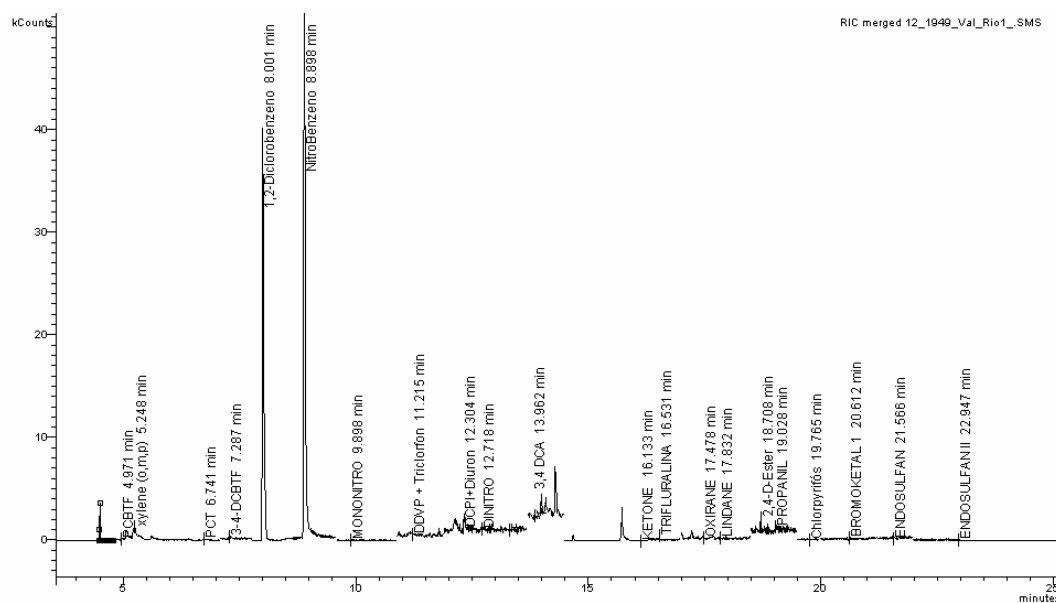
	1	2	3	4	5	6	7	Conc.							
Volume Inicial =	100	100	100	100	100	100	100								
Volume final =	1	1	1	1	1	1	1								
Conc. Real =	770,1	770,1	770,1	770,1	770,1	770,1	770,1	7,70	7,70	7,70	7,70	7,70	7,70	7,70	7,70
Replicatas															
Injeções	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	
1	11845	10161	12318	11239	13762	13057	11865	8,2	7,1	8,4	7,8	9,3	8,9	8,2	
2	13321	12989	7648	10775	14530	13391	12638	9,0	8,8	5,6	7,5	9,7	9,1	8,6	
3	14812	12686	11243	13058	13395	13205	12755	9,9	8,7	7,8	8,9	9,1	9,0	8,7	
4	14723	12910	12308	13643	13758	12978	13560	9,8	8,8	8,4	9,2	9,3	8,8	9,2	
5	12395	13482	12415	12507	14856	12842	9923	8,5	9,1	8,5	8,6	9,9	8,7	7,0	
6	13879	12018	11487	12772	13887	13200	14353	9,3	8,3	7,9	8,7	9,3	9,0	9,6	
7															
8															
9															
Média	13496	12374	11237	12332	14031	13112	12516	9,12	8,47	7,78	8,44	9,43	8,90	8,54	
s =	1213	1184	1825	1104	548	194	1529	0,64	0,64	1,03	0,59	0,28	0,10	0,82	
MÉDIA															8,67
S =															0,54
RSD =															6,2
Recovery (%)								118,4	109,9	101,0	109,6	122,4	115,6	111,0	
Mean Recovery (%)															112,6

Teste t para Interferência na Fortificação 10 x LOQ, Matriz 2 - Efluente Saída para o Rio

Área	P (xCalc)	B+P	Teste F	Teste t	Teste T Emparelhado				
					d(diferença)	d-d(m)	(d-d(m))²		
1	9171	653,4	911,6 F. Calc. =	1,62	sp=	58,69	258,2	141,2	19925,68
2	9954	702,1	846,7 (vogel p. 116)		t Calc =	3,15	144,6	27,5	758,33
3	11112	772,5	778,2				5,6	-111,4	12416,29
4	10473	733,9	844,3 F. Tabel.0,10	4,11 pass	t. Tabel.0,10 =	1,86 fail	110,4	-6,6	43,65
5			F. Tabel.0,05	6,39 pass	t. Tabel.0,05 =	2,31 fail			
6	11974	823,9	890,3 F. Tabel.0,01	15,98 pass	t. Tabel.0,01 =	3,36 pass	66,4	-50,7	2566,50
7									
8									
9									
Média	10537	737	854		Soma d		585,3		35710,46
S	1073,0	65,2	51,3		Média d		117,06		
RSD	10,18	8,85	6,01		n=		5		
n =		5	5		sd		94,49		
gl =		4	4		t calc =		2,770		
					t. Tabel.0,10 =		2,13 fail		
					t. Tabel.0,05 =		2,78 pass		
					t. Tabel.0,01 =		4,60 pass		

Apêndice 6:

Cromatograma de uma amostra de água do Rio Taquari.



* Os compostos 1,2-diclorobenzeno e nitrobenzeno foram adicionados as amostras (Surrogate Standard).

Cromatograma de uma amostra de efluente industrial tratado

