DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA EXPANDIDA PARA PFAS BASEADA NO MÉTODO EPA 1633A: UMA ABORDAGEM DO SANEAMENTO À SAÚDE PÚBLICA

Leonardo Canuto Cappobianco Paiva[1]
Coordenador de Laboratório na EP Engenharia do Processo Ltda, mais de 10 anos de experiência no setor de análises ambientais. Técnico em Química pela Etec Parque Belém (CRQ: 44103339). Especialista em desenvolvimento e validação de métodos analíticos (LC-MS/MS, GC-MS/MS e ICP-MS) , atuando na liderança de projetos de P&D voltados ao desenvolvimento e implantação de metodologias analíticas. Possui ampla experiência na gestão de sistemas de qualidade sob as diretrizes da norma ISO 17025.

Endereço[1]**:** Rua Pedro Francisco Costa, 41 - Jardim Gabriela - Guarulhos - SP - CEP: 07113-230 - Brasil - Tel: +55 (11) 96633-7037 - e-mail: leonardoccpaiva@gmail.com e leonardo.paiva@grupoep.com.br.

RESUMO

As substâncias per e polifluoroalquilas (PFAS), denominadas genericamente "produtos químicos eternos", foram amplamente inseridas na cadeia produtiva global a partir da década de 1940, impulsionadas por suas singulares propriedades hidrofóbicas e lipofóbicas. Contudo, a elevada estabilidade termodinâmica da ligação carbono-flúor confere a tais compostos uma severa persistência ambiental e potencial de bioacumulação, culminando em graves prejuízos à saúde humana e animal. O presente estudo técnico objetiva apresentar o desenvolvimento e a validação interna de uma metodologia analítica expandida para a determinação quantitativa de mais de 46 compostos de PFAS em matrizes complexas, desenvolvida com base nas diretrizes do Método EPA 1633. O processo de validação estatística foi conduzido por meio do software especializado *Conflab*, avaliando-se rigorosamente os parâmetros de seletividade, linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), precisão, exatidão e incerteza de medição. A robustez metodológica obtida por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) confere alta confiabilidade analítica ao laboratório. Os resultados fornecem subsídios técnicos fundamentais face às novas tendências normativas no território brasileiro, consubstanciadas na revisão da diretriz ABNT NBR 10.004 e no Projeto de Lei PL 2726/2023.

PALAVRAS-CHAVE: PFAS, Espectrometria de massas, Saúde pública

INTRODUÇÃO

A classe das substâncias per e polifluoroalquilas (PFAS) compreende uma vasta gama de compostos organofluorados sintéticos que possuem uma cadeia alquílica total ou parcialmente fluorada. A energia de dissociação da ligação de coordenação carbono-flúor (C-F) qualifica-se como uma das mais elevadas na química orgânica, o que confere a essas moléculas uma maior resistência frente aos processos convencionais de degradação térmica, química e biológica. Devido a essa estabilidade e à simultânea capacidade de repelir água e lipídeos, os PFAS foram incorporados como surfactantes e revestimentos em matrizes diversas, tais como polímeros antiaderentes, embalagens alimentícias, têxteis impermeáveis e espumas formadoras de filme aquoso (AFFF) para combate a incêndios.

A dispersão desregulada e contínua desses xenobióticos ao longo das últimas décadas resultou em uma contaminação generalizada dos ecossistemas. Evidências epidemiológicas recentes correlacionam a exposição perene a concentrações traço de PFAS com distúrbios de desregulação endócrina, hepatotoxicidade, hipercolesterolemia, restrição do crescimento fetal intrauterino e manifestações oncogênicas, notadamente os carcinomas renais e testiculares. Diante deste cenário de vulnerabilidade toxicológica, faz-se necessário o estabelecimento de metodologias analíticas robustas aptas a quantificar tais poluentes em níveis de ultratraço. Embora normativas internacionais apontem caminhos técnicos, o desenvolvimento de métodos internos

customizados e validados com critérios estatísticos estabelecidos é essencial para garantir a precisão e a rastreabilidade metrológica nas indústrias nacionais.

OBJETIVOS

Este trabalho técnico propõe-se a descrever o processo de desenvolvimento e validação analítica interna de um método expandido para determinação de 46 compostos de PFAS, em diversas matrizes ambientais, fundamentado no Método EPA 1633 e estruturado computacionalmente via software *Conflab*, demonstrando a conformidade dos parâmetros de lod, loq, precisão, exatidão e incerteza com as demandas do cenário regulatório brasileiro e internacional.

METODOLOGIA UTILIZADA

O desenvolvimento e a validação interna da metodologia analítica expandida foram baseados nos moldes técnicos e operacionais descritos no protocolo oficial EPA Method 1633A (Dezembro de 2024). O escopo instrumental foi estendido para a determinação simultânea de mais de 46 compostos prioritários de substâncias per e polifluoroalquilas (PFAS). As matrizes ambientais testadas foram água para consumo humano, águas naturais (superficial, subterrânea, salina e salobra), águas residuais (bruta e tratada, efluente), resíduos líquidos e sólidos, solos e sedimentos. O sistema analítico emprega a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em sequência (LC-MS/MS), operando sob ionização por electrospray em modo negativo (ESI-) com resolução de massa unitária no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM).

A arquitetura metodológica divide-se em quatro pilares fundamentais: (a) amostragem e integridade da matriz, (b) processamento físico-químico e extração, (c) calibração por diluição isotópica e (d) tratamento estatístico automatizado via software *Conflab*.

PROCESSAMENTO FÍSICO-QUÍMICO E EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)

A integridade analítica exige que as amostras sejam coletadas em frascos de polietileno de alta densidade (PEAD) com septos isentos de politetrafluorotileno (PTFE) para mitigar contaminações cruzadas. Em conformidade com o método normativo, as matrizes aquosas são processadas em sua totalidade (volume total do frasco, nominalmente 250 mL) para evitar desvios causados pela adsorção de analitos nas paredes do recipiente. Previamente à extração, realiza-se o monitoramento do teor de sólidos suspensos totais (TSS). Amostras com carga de TSS $\leq$ 50 mg são submetidas diretamente ao fluxo de extração. Em cenários com TSS > 50 mg ou em matrizes sólidas (solos e sedimentos), aplica-se a centrifugação a 1400 RCF e extração exaustiva com metanol amoniacal a 0,3% v/v.

O processo de extração e purificação baseia-se em cartuchos de extração em fase sólida (SPE) de troca aniônica fraca (WAX), cujo adsorvente polimérico apresenta um pK_a conjugado superior a 8, assegurando uma carga líquida positiva estável durante todo o gradiente de carregamento. O protocolo operacional de SPE compreende:

1. Condicionamento: Ativação da fase estacionária com 15 mL de hidróxido de amônio metanólico a 1% v/v, seguida por equilíbrio acidificado com 5 mL de ácido fórmico 0,3 M.
2. Carregamento: Percolação da amostra previamente fortificada através do leito polimérico sob fluxo controlado de 5 mL/min.
3. Lavagem: Purificação sequencial com duas porções de 5 mL de água reagente purificada Tipo I e 5 mL de uma solução misturada de ácido fórmico/metanol (1:1, 0,1 M) para eluição de interferentes orgânicos e biomoléculas polares neutras.
4. Eluição: Dessorção dos analitos retidos mediante quebra da interação iônica através da passagem de hidróxido de amônio metanólico a 1% v/v.

FUNDAMENTOS DA DILUIÇÃO ISOTÓPICA E QUANTIFICAÇÃO ESTRUTURAL

Para anular os efeitos de supressão ou aprimoramento de sinal causados pelo efeito de matriz no processo de ionização hídrica, o método adota a calibração por diluição isotópica verdadeira e quantificação por padrão interno extraído. Previamente ao início da etapa de preparo das amostras, todas as amostras, brancos e padrões de calibração são fortificados com uma mistura de padrões internos extraídos (EIS), constituídos por análogos idênticos estruturalmente, porém enriquecidos de forma estável com carbono-13 (^{13}C), oxigênio-18 (^{18}O) ou deutério (D).

O método EPA 1633A estabelece dois critérios de quantificação matemática para os analitos nativos:

- Diluição isotópica verdadeira (ID): Aplicada a 24 compostos que dispõem de análogos isotópicos exatos comerciais. O cálculo baseia-se na razão de resposta direta entre o analito nativo e seu respectivo par marcado.
- Quantificação por padrão interno extraído (EIS): Aplicada a 16 compostos que não possuem análogos isotópicos comerciais idênticos. Neste caso, a resposta do analito nativo é normalizada pelo EIS de outra substância estruturalmente análoga e com comportamento cromatográfico e tempo de retenção similares.

Imediatamente antes da injeção no sistema LC-MS/MS, o extrato final purificado recebe uma segunda fortificação contendo os padrões internos não extraídos (NIS). A função metrológica do NIS é quantificar de forma independente a eficiência de recuperação de cada composto de EIS adicionado no início do processo, servindo como o indicador primário de controle de qualidade e robustez global do ensaio, sem interferir no cálculo final do teor dos analitos nativos.

PROTOCOLO ESTATÍSTICO COMPUTACIONAL VIA SOFTWARE *CONFLAB*

O tratamento matemático dos dados, as curvas de calibração e os parâmetros de validação instrumental foram integralmente processados através do software especializado *Conflab*. Esse sistema computacional realiza o tratamento estatístico multivariado de dados químicos em observância ao guia metrológico internacional ISO GUM (Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement). O *Conflab* calculou de forma automatizada:

- Os limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) baseados na modelagem estatística do ruído instrumental e na razão sinal/ruído (S/N) empírica de replicatas sequenciais;
- A linearidade e adequação do modelo de calibração através do cálculo do erro padrão relativo (RSE) ou desvio padrão relativo (RSD) dos fatores de resposta, rejeitando o uso de coeficientes lineares (r e r^2) em conformidade com as restrições normativas da EPA;
- Os parâmetros de precisão analítica por meio do cálculo do desvio padrão relativo percentual (DPR%) sob condições de repetitividade e reprodutibilidade intermediária;
- A exatidão metrológica calculada pelas taxas percentuais de recuperação de matrizes de referência certificadas e ensaios de fortificação;
- A estimativa matemática da incerteza expandida de medição (U), ponderando os componentes de incerteza sistemática associados à curva de calibração, erro volumétrico, pesagem e eficiência de recuperação do método.

RESULTADOS OBTIDOS

A modelagem estatística implementada via software *Conflab* validou a conformidade metrológica do método analítico interno expandido para os 46 compostos de PFAS. Os modelos matemáticos lineares gerados pelo sistema exibiram desvios analíticos controlados, com erro padrão relativo inferior ao limite crítico normativo de 20% estabelecido pelo Método 1633A.

A sensibilidade instrumental alcançou patamares de ultratraço, com razões sinal/ruído superiores a 10:1 para os íons quantificadores primários e acima de 3:1 para as transições eletrônicas confirmadoras secundárias em todos os limites inferiores validados. A Tabela 1 expõe os dados metrológicos definitivos calculados e

consolidados estruturalmente pelo software para os principais compostos de PFAS monitorados no escopo laboratorial.

Tabela 1 - Parâmetros de validação estatística calculados via software *Conflab* para compostos na matriz de água potável.

Composto Analisado	Faixa Linear (ng/L)	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)	Incerteza (U)
Ácido 11-Cloroeicosafluoro-3-oxaundecano-1-sulfônico	10 a 250	3,0	10,0	19,74%
Ácido 9-Clorohexadecafluoro-3-oxanonano-1-sulfônico	4 a 100	1,21	4,0	19,42%
Ácido 4,8-Dioxa-3H-Perfluorononânico	4 a 100	1,21	4,0	19,79%
Ácido dimérico de óxido de hexafluoropropileno	4 a 100	1,21	4,0	15,02%
Ácido nonafluoro-3,6-dioxaheptanôico	4 a 100	1,21	4,0	15,58%
Ácido Perfluorobutanôico	20 a 500	6,0	20,0	18,92%
Ácido Perfluorobutanolssulfônico	4 a 100	1,21	4,0	16,17%
Ácido 1H,1H, 2H, 2H-Perfluorodecanossulfônico	100 a 1000	30,30	100,0	16,15%
Ácido Perfluorodecanoico	4 a 100	1,21	4,0	18,31%
Ácido Perfluorododecanôico	4 a 100	1,21	4,0	18,97%
Ácido Perfluoro(2-etoxietano)sulfônico	4 a 100	1,21	4,0	19,22%
Ácido Perfluoroheptanossulfônico	4 a 100	1,21	4,0	19,71%
Ácido Perfluoroheptanôico	4 a 100	1,21	4,0	16,44%
Ácido 1H, 1H, 2H, 2H Perfluorohexanossulfônico	40 a 500	12,12	40,0	19,47%
Ácido Perfluorohexanossulfônico	10 a 250	3,0	10,0	18,11%
Ácido Perfluorohexanôico	4 a 100	1,21	4,0	17,74%
Ácido Perfluoro-3-metoxipropanôico	4 a 100	1,21	4,0	14,45%

Ácido Perfluoro-4-metoxibutanôico	4 a 100	1,21	4,0	18,09%
Ácido Perfluorononanôico	4 a 100	1,21	4,0	18,81%
1H,1H, 2H, 2H-Ácido Perfluorooctanosulfônico	40 a 500	12,12	40,0	18,15%
Ácido Perfluorooctanossulfônico	4 a 100	1,21	4,0	17,16%
Ácido Perfluorooctanôico	4 a 100	1,21	4,0	15,79%
Ácido Perfluoropentanôico	4 a 100	1,21	4,0	18,76%
Ácido Perfluoropentanossulfônico	4 a 100	1,21	4,0	13,57%
Ácido perfluoroundecanôico	4 a 100	1,21	4,0	18,15%
N-Ácido Etil Perfluorooctanasulfonamidoacético	10 a 250	3,0	10,0	17,57%
N-Ácido Metil Perfluorooctanasulfonamidoacético	10 a 250	3,0	10,0	16,34%
Ácido Perfluorotetradecanôico	4 a 100	1,21	4,0	19,17%
Ácido Perfluorotridecanôico	10 a 250	3,0	10,0	17,69%
Ácido Perfluorononanossulfônico	10 a 250	3,0	10,0	19,52%
Ácido Perfluorodecanossulfônico	10 a 250	3,0	10,0	18,73%
Ácido perfluorododecanossulfônico	4 a 100	1,21	4,0	17,42%
Perfluorooctanossulfonamida	4 a 100	1,21	4,0	18,08%
N-Metil perfluorooctanosulfonamida	4 a 100	1,21	4,0	17,74%
N-Etil perfluorooctanosulfonamida	4 a 100	1,21	4,0	14,61%
N-Metil perfluorooctanosulfonamidaetanol	4 a 100	1,21	4,0	15,29%
N-Etil perfluorooctanosulfonamidaetanol	4 a 100	1,21	4,0	18,02%
Ácido 3-Perfluoropropil	4 a 100	1,21	4,0	18,21%

propanoico				
Ácido 2H,2H,3H,3H Perfluorooctanoico	4 a 100	1,21	4,0	19,25%
Ácido Perfluorohexadecanoico	4 a 100	1,21	4,0	18,55%
Ácido perfluorooctadecanoico	4 a 100	1,21	4,0	17,45%
8:2 ácido carboxílico insaturado de fluotelômero	4 a 100	1,21	4,0	16,99%
8:2 Diester de polifluoalquilfofato	4 a 100	1,21	4,0	19,07%
Ácido 1H, 1H, 2H, 2H-Perfluorododecanossulfônico	4 a 100	1,21	4,0	17,83%
Perfluorooctanosulfonil	4 a 100	1,21	4,0	17,01%

Fonte: Dados experimentais internos gerados e consolidados por rotina automatizada do sistema *Conflab* (2026).

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A validação interna de uma metodologia analítica capaz de identificar e quantificar um amplo escopo de PFAS (mais de 46 compostos) representa um avanço relevante para o monitoramento e a gestão de potenciais passivos industriais e ambientais. Historicamente, limitações em técnicas convencionais — como a seletividade insuficiente para discriminar misturas isoméricas complexas (estruturas lineares e ramificadas) e congêneres de cadeia curta — dificultavam a detecção precisa de contaminações ao longo dos processos. Além disso, a tendência dessas substâncias de interagir com materiais de uso rotineiro, ou a sua presença em certos materiais, evidencia a necessidade de instrumentação de elevada sensibilidade, bem como de rigoroso controle de qualidade nas etapas de preparo e análise. Tais lacunas analíticas podem ter contribuído para o atraso no diagnóstico de episódios relevantes de contaminação hídrica, a exemplo do caso histórico em Parkersburg (EUA), no qual o descarte inadequado de resíduos contendo PFOA culminou na contaminação de águas subterrâneas destinados ao abastecimento público.

Os dados gerados neste estudo demonstram que as etapas críticas de extração SPE com cartuchos WAX mitigam o efeito de supressão iônica na fonte do espectrômetro de massas. Conforme preconizado na revisão do método 1633A da EPA, a calibração fundamentada no princípio de diluição isotópica verdadeira corrige matematicamente e em tempo real quaisquer perdas físicas de analitos que possam ocorrer durante a concentração ou processamento laboratorial. O tratamento estatístico realizado por meio do *Conflab* (Tabela 1) auxilia no controle metrológico das taxas de recuperação dos padrões internos marcados (EIS e NIS), favorecendo a conformidade com os critérios de aceitação estabelecidos em diretrizes internacionais da agência ambiental norte-americana.

No cenário regulatório do território brasileiro, a consolidação metrológica deste método interno confere suporte técnico estratégico para a adequação indústrias nacionais frente à diretrizes da norma ABNT NBR 10.004, que estabelece limites de corte restritivos para descarte de PFOS (50 mg/kg) e PFOA/PFHxS (40 mg/kg). Ademais, a expansão do escopo laboratorial para 46 analitos antecipa e atende de forma proativa as demandas de fiscalização hídrica e ambiental que serão compulsórias após a aprovação e promulgação do

Projeto de Lei PL 2726/2023, o qual institui a Política Nacional de Controle dos PFAS. A validação instrumental robusta combinada ao cálculo sistemático de incertezas expandidas credencia a infraestrutura laboratorial aos parâmetros de acreditação internacional sob a norma ISO/IEC 17025.

CONCLUSÕES / RECOMENDAÇÕES

O desenvolvimento e a validação do método analítico interno demonstraram a viabilidade técnica no monitoramento quantitativo das substâncias per e polifluoroalquilas. A integração dos preceitos operacionais do método EPA 1633A com o processamento estatístico automatizado via software *Conflab* proporcionou a sustentação metrológica necessário para certificar a exatidão, a reprodutibilidade e o controle de incertezas associados ao escopo expandido de compostos organofluorados.

Recomenda-se a adoção de protocolos analíticos de elevada sensibilidade para o monitoramento sistemático de matrizes industriais e ambientais, auxiliando na mitigação de eventuais riscos de inconformidade legal frente às diretrizes da ABNT NBR 10.004 e às propostas do Projeto de Lei PL 2726/2023. Sugere-se, por fim, o fomento a programas integrados de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) focados no acoplamento de sistemas analíticos LC-MS/MS com processos de separação por membranas de ultrafiltração e técnicas de oxidação avançada, viabilizando não apenas o monitoramento em nível de ultratraço, mas a destruição metódica e definitiva dessas estruturas moleculares resistentes em prol da preservação ecossistêmica e da saúde pública.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Potential Health Effects of PFAS. Atlanta: CDC, 2024. Disponível em: https://www.atsdr.cdc.gov/pfas/health-effects/overview.html. Acesso em: 12 ago. 2024.

2. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR 10.004: Resíduos sólidos - Classificação. Rio de Janeiro, 2026.

3. BRASIL. Projeto de Lei nº 2726 de 2023. Institui a Política Nacional de Controle das Substâncias Per e Polifluoroalquil (PFAS). Brasília, DF: Câmara dos Deputados, 2023.

4. COMPANHIA DE AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO (CETESB). Substâncias Per e Polifluoroalquilas (PFAS): PFOA, PFOS, POSF, PFBS, GenX. São Paulo: CETESB, 2021. Disponível em: https://cetesb.sp.gov.br/laboratorios/wp-content/uploads/sites/24/2021/12/PFAS_PFOA_PFOS_POSF_PFBS_GENX.pdf. Acesso em: 12 ago. 2024.
5. EUROPEAN CHEMICALS AGENCY (ECHA). Perfluoroalkyl chemicals (PFAS). Helsinki: ECHA, 2024. Disponível em: https://echa.europa.eu/pt/hot-topics/perfluoroalkyl-chemicals-pfas. Acesso em: 12 ago. 2024.
6. HAYNES, T. O preço da verdade (Dark Waters). Direção: Todd Haynes. Produção: Mark Ruffalo, Christine Vachon. Estados Unidos da América: Participant, Killer Films, Paris Filmes, 2020. 1 DVD (126 min), son., color.
7. MARIUSSO, C.; PAIVA, L. PFAS: do desenvolvimento à regulamentação. Grupo EP, 2026. Disponível em: https://grupoep.com.br/artigos/pfas-do-desenvolvimento-a-regulamentacao/. Acesso em: 10/06/2026.
8. NATIONAL INSTITUTE OF ENVIRONMENTAL HEALTH SCIENCES (NIEHS). Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS). Research Triangle Park: NIH, 2024. Disponível em: https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/pfc. Acesso em: 12 ago. 2024.
9. PFAS EXCHANGE. O que são PFAS? 2024. Disponível em: https://pfas-exchange.org/o-que-sao-pfas/?lang=pt-br. Acesso em: 12 ago. 2024.
10. RICH, N. The Lawyer Who Became DuPont's Worst Nightmare. The New York Times Magazine, Nova York, 6 jan. 2016. Disponível em:

https://www.nytimes.com/2016/01/10/magazine/the-lawyer-who-became-duponts-worst-nightmare.html. Acesso em: 13 ago. 2024.

11. SAMORA, S.; LUCAS, S. The history of PFAS: From World War II to your Teflon pan. Manufacturing Dive, 2024. Disponível em: https://www.manufacturingdive.com/news/the-history-behind-forever-chemicals-pfas-3m-dupont-pfte-pfoa-pfos/698254/. Acesso em: 13 ago. 2024.
12. THE GUARDIAN. DuPont, Chemours and Corteva reach $1.18bn settlement over PFAS 'forever chemicals' water contamination. London, 2 jun. 2023. Disponível em: https://www.theguardian.com/environment/2023/jun/02/dupont-pfas-settlement-water-chemical-contamination. Acesso em: 12 ago. 2024.
13. U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Our Current Understanding of the Human Health and Environmental Risks of PFAS. Washington, DC: EPA, 2024. Disponível em: https://www.epa.gov/pfas/our-current-understanding-human-health-and-environmental-risks-pfas. Acesso em: 12 ago. 2024.
14. U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Method 1633, Revision A: Analysis of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Aqueous, Solid, Biosolids, and Tissue Samples by LC-MS/MS. Washington, DC: EPA Office of Water, EPA 820-R-24-007, December 2024.