

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

Cromatógrafo de Gás acoplado a Espectrômetro de Massa (GCMS)

OBSERVAÇÕES IMPORTANTES



1. O GCMS normalmente fica ligado, mesmo durante fins de semana, para preservação do vácuo necessário para a operação do espectrômetro de massa. O desligamento só é realizado quando há queda de energia (previsto ou não), e para manutenção no equipamento (troca de coluna, limpeza no injetor, etc).
2. Só podem ser injetadas amostras **diluídas**, nunca coloridas. A concentração recomendada é 1 mg/L, ou 1 µg/mL.
3. Nunca injete soluções aquosas, mesmo diluídas.

LIGANDO O EQUIPAMENTO

1. Primeiramente, deve-se abrir o cilindro de gás hélio, localizado na área de serviço da CAIQ. O cilindro fica próximo a uma coluna do prédio, em que está escrito "CG". Cuidado para não confundir com o cilindro de hélio do equipamento DSC, que fica próximo à janela.
2. Para abrir o gás, gire o registro localizado no topo do cilindro em sentido anti-horário. O manômetro da esquerda deverá mostrar a pressão marcada à caneta. **Jamais mexa no regulador de pressão que fica preso à parede.** Caso a pressão não esteja no valor marcado, chame um técnico da CAIQ.
3. Em seguida, deve-se abrir o registro de gás localizado dentro do laboratório, à esquerda do equipamento. O registro de hélio do GCMS é o da direita, e deve ser aberto girando a torneira pequena, prateada, em sentido anti-horário. **Jamais mexa no regulador de pressão preto.** É comum que a pressão neste manômetro fique acima da marcação quando o registro fica fechado, o que muda quando o equipamento é ligado. Caso a pressão esteja abaixo do valor indicado, chame um técnico.
4. Ligue o computador. A senha do usuário do Windows é Shimadzu.
5. Ligue o espectrômetro de massas no botão atrás do equipamento, próximo ao computador.
6. Ligue o cromatógrafo no botão abaixo do display, do lado direito. Aguarde alguns instantes até que os equipamentos tenham inicializado.
7. Toda a operação a partir deste momento é feita pelo computador e pelo auto-amostrador. As funções de controle localizadas direto no cromatógrafo não devem ser utilizadas. Abra o programa *GCMS Real Time Analysis*, localizado na área de trabalho.
8. No menu esquerdo do equipamento, clicar no botão *Vacuum Control*. Caso esta opção não esteja visível, clique no botão *Top*, e ele aparecerá.
9. Clique em *Auto Startup* para iniciar o procedimento de geração de vácuo. Acompanhe o programa e, em caso de erro, comunique ao técnico.
10. Após o programa indicar que o procedimento foi concluído, deve-se aguardar no mínimo 4 horas antes de realizar a calibração do equipamento, para garantir que o vácuo esteja bom.



VERIFICANDO O VÁCUO

1. Toda vez que o equipamento é desligado e a coluna removida, ou caso a porta de acesso ao espectrômetro seja aberta, deve-se verificar se o vácuo está satisfatório e em seguida realizar a calibração do instrumento.
2. Primeiramente, verifique na lateral do programa os valores de *Low Vacuum* e *High Vacuum*. Os valores variam de acordo com o método carregado, no entanto, nas condições do método Pernoite devem ficar próximos de 2.7×10^0 Pa (**Low Vacuum**) e 1.0×10^{-4} Pa (**High Vacuum**).
3. No menu do lado esquerdo, clique no botão *Tuning* e então *Peak View Monitor*.
4. A verificação é realizada pela comparação das intensidades dos picos da água (18 m/z) e nitrogênio (28 m/z).
5. No campo *Monitor Group*, selecione *Water, Air*.
6. Para iniciar o monitoramento, clique no botão de ligar o filamento , localizado na barra superior.
7. Caso os picos estejam muito altos, acima da escala, o vácuo ainda não está bom, ou há um vazamento grande.
8. Se os picos estiverem muito baixos, perto da linha de base, deve-se aumentar a voltagem do detector (por padrão, 0.70 kV) no lado direito da tela, clicando na seta para cima, até que o maior pico fique na metade da altura da área do gráfico. Não passar de 1.00 kV.
9. Para passar no teste, o pico do nitrogênio (28 m/z) não deve ser mais que o dobro que o pico da água (18 m/z). Ou seja, caso este pico seja 100%, o pico da água deve ser maior que 50%. Em situações ideais, o pico da água fica com intensidade maior que o pico do nitrogênio.
10. Clique novamente no botão  para desligar o filamento.
11. Caso haja indicação de vazamento, informe ao técnico, do contrário, prossiga para o *Tuning*.

REALIZANDO A CALIBRAÇÃO

1. Primeiramente, carregue um método de análise.
 - a. Selecione a opção *Data Acquisition* no menu lateral.
 - b. No menu superior, vá em *File* → *Open Method File*. Escolha o método desejado.
 - c. Novamente no menu superior, vá em *Acquisition* → *Download Initial Parameters*. Aguarde até que o software indique *Ready* tanto para o GC quanto para o MS.
2. Clique em *File* → *New Tuning File*. Salve o arquivo com a data do dia no formato *dd-mm-aaaa*.
3. No menu lateral, clique em *Start Auto Tuning* e aguarde até o fim da calibração.
4. Após o término, os seguintes parâmetros devem ser verificados:
 - a. FWHM está entre 0,5 e 0,7
 - b. Voltagem do detector não ultrapassa 2 kV (usualmente o valor fica em torno de 1 kV).
 - c. Se o fragmento base é o 69 (íon base do PFTBA).
 - d. Se intensidade relativa do 502 é pelo menos 2% (1% para os QP-2010S e SE).
 - e. A intensidade do 69 é pelo menos o dobro do 28.
5. Caso estejam todos satisfatórios, clique no botão para salvar o resultado. É comum o parâmetro d não ser atingido, mas se os outros estiverem dentro do esperado a calibração pode ser utilizada.

REALIZANDO UMA SEQUÊNCIA DE ANÁLISES

1. Se o programa não estiver na janela de processamento em batch, clique no botão *Batch Processing* no meu do lado esquerdo.
2. Clique no botão de novo arquivo, ou vá em *File* → *New*.
3. Na tabela de *batch*, várias colunas estarão disponíveis, mas apenas 4 precisam ser preenchidas:
 - a. *Sample Name*: Digite o nome da amostra
 - b. *Method File*: Clique no botão dentro da célula para selecionar o método da análise.
 - c. *Data File*: Nome do arquivo, preferencialmente igual ao nome da amostra.
 - d. *Tuning File*: Clique no botão dentro da célula e selecione o arquivo de *tuning* mais recente.
4. Note que para repetir os nomes dos arquivos de *tuning* e *method* podem ser utilizadas as funções de copiar e colar.
5. Ao montar um *batch*, respeite as seguintes regras:
 - a. O *batch* sempre deve iniciar com o solvente utilizado nas amostras.
 - b. Caso sejam realizadas mais de 7 amostras no mesmo *batch*, recomenda-se também que sejam realizadas corridas do solvente a cada 4 ou 5 amostras.
 - c. Após a última amostra, também deverá ser realizada uma análise do solvente, para se verificar o estado final do equipamento após as corridas.
 - d. Após o último solvente, deve-se colocar no *batch* uma linha com a amostra “pernoite”, que na realidade funciona como um modo de stand-by do equipamento. Para cada coluna disponível existe um método chamado *pernoite* que deve ser utilizado. Este método mantém o equipamento funcionando com baixas temperaturas e baixo fluxo de gás hélio.
6. Salve o arquivo de *batch* em um local e com um nome que o identifique, por exemplo na pasta do usuário, ou do laboratório com o dia das análises.
7. Coloque os *vials* na bandeja do auto-amostrador, sempre iniciando pela posição número 1. **Sempre verifique o estado dos vials antes de colocar na bandeja.** O septo deve estar em bom estado, a tampa bem fechada e não pode haver qualquer tipo de filme no vial. Além disso, verifique se a amostra está homogênea, transparente e incolor. **Em caso de dúvidas, não realize a análise.**
8. Após posicionar os vials, confira se as posições no auto amostrador estão de acordo com a ordem inserida no *batch*, para evitar que as amostras sejam salvas com o nome errado.
9. Para configurar o auto-amostrador, deve-se utilizar o painel no próprio instrumento, sendo que apenas o último vial a ser injetado precisa ser alterado. Aperte o botão redondo para entrar na edição das amostras que serão injetadas.
10. Gire o botão redondo para ir até a opção *Last*, e aperte o botão redondo novamente. Gire o botão até chegar ao número de vials que serão analisados. Lembre-se que o pernoite não será injetado, de forma que o número de injeções configurado deve ser um a menos que o número de linhas do *batch*.
11. Aperte o botão F4 para voltar à *Home* do auto-amostrador.
12. Verifique na bandeja dos frascos de solvente se:
 - a. Os frascos de solvente (Wash 1 e 2), hexano e acetona, respectivamente, está pelo menos acima da metade. Caso sejam muitas amostras, preencha o frasco por completo.
 - b. Os frascos de descarte (Waste 1 e 2), estão no máximo com metade do volume. Se estiverem acima disso, ou se forem muitas amostras, descarte os resíduos no frasco apropriado.
13. Mais uma vez, confira todas as configurações realizadas: montagem do *batch*, posicionamento dos *vials*, configuração do auto-amostrador e estado dos frascos de solvente e descarte.
14. Após realizar todas as conferências, aperte o botão F4 do auto-amostrador para dar o *Start*. O procedimento de injeção se iniciará automaticamente quando tanto o cromatógrafo e o espectrômetro de massa estiverem em estado *Ready*.

EXPORTANDO OS DADOS COMO RELATÓRIO EM PDF

1. Abra o arquivo de dados.
2. No menu principal, sob *Compound Table*, clique em *Wizard(New)*.
3. Selecione a opção *Integraffion of TIC* e clique em *Integration Param* para abrir uma nova janela.
4. Selecione a opção *Detail* e então mude o *Slope*. Quanto maior este valor, menos picos serão detectados automaticamente, e pode ser necessário testar mais de um valor. Recomenda-se 5000 para pegar apenas os picos maiores. Clique em *Ok* e então em *Avançar*.
5. Verifique o número de picos detectado e, caso julgue necessário, pressione *Voltar* para alterar os parâmetros de detecção de picos. Clique em *Avançar* duas vezes.
6. No campo *Quantitative Method*, selecione o modo *Area Normalization*. Clique em *Avançar* três vezes e então em *Concluir*.
7. No lado direito da tela, ao lado do espectro de massa, deverá aparecer uma lista com os picos identificados. Clique no botão *View* acima desta lista.
8. Clique com o botão direito em qualquer lugar da lista e então selecione *Peak Integrate of all IDs*.
9. Clique novamente com o botão direito, e desta vez selecione *Similarity Search for Compound Table*. Na janela que se abrirá, selecione *Target* e pressione *Ok*. Esta etapa pode demorar vários segundos caso muitos picos tenham sido identificados.
10. Para gerar o relatório, vá no menu principal em *File* e selecione *Report*.
11. Vá em *File* novamente e selecione *Open*. Navegue até a pasta principal de dados do equipamento, onde há um modelo de relatório com nome da CAIQ. Selecione este arquivo e clique em *Abrir*.
12. O esqueleto do relatório será mostrado. Não se preocupe caso ele pareça incompleto, pois o relatório completo só é gerado na hora da impressão.
13. Vá em *File* e selecione *Print*. A impressora deve ser *CutePDF Writer*. Clique em *Ok*. Aguarde a geração do relatório e salve-o na pasta do usuário.
14. Ao fechar a janela do relatório, não salve as alterações. Ao fechar os dados, as alterações podem ser salvas para que não seja necessário processar os dados novamente no futuro.

DESLIGANDO O EQUIPAMENTO

1. O GCMS só deverá ser desligado em situações excepcionais, quando houver queda de energia ou necessidade de manutenção.
2. O procedimento de desligar o equipamento pode demorar vários minutos, pois o equipamento deve estar em baixa temperatura. Dessa forma, é importante reservar pelo menos 20 minutos para realizar o procedimento por completo.
3. Se o desligamento for feito durante um *batch*, será necessário interromper o procedimento manualmente no auto-amostrador. No seu painel de controle, aperte o botão *Stop*. Gire o botão redondo até que apareça a opção *Job*, e então aperte o botão redondo para confirmar.
4. Caso o programa esteja dentro de um *batch*, mesmo que apenas no modo pernoite, clique no botão *Stop* no meu do lado esquerdo. Confirme a ação.
5. Ainda no meu do lado esquerdo, clique em *Top* e em seguida em *Vacuum Control*. Na janela que abrir, clique em *Auto Shutdown*. O equipamento será resfriado antes de que o vácuo seja removido, o que pode demorar vários minutos dependendo da temperatura inicial.
6. Após o resfriamento, o vácuo será desfeito automaticamente, até que a janela do programa mostre *Completed*. A partir deste momento, o programa GCSolution já pode ser fechado.
7. Desligue o espectrômetro de massas no botão na sua parte traseira, perto do computador.
8. Desligue o cromatógrafo no botão localizado na frente, abaixo do display.
9. Feche o registro de gás hélio na torneira prateada localizada acima do computador. **Não mexa no regulador preto.**
10. Na área de serviço da CAIQ, vá até o cilindro de gás hélio e feche o registro, novamente **sem alterar o regulador**. Veja as instruções de ligar o equipamento para identificar o cilindro.