

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

ANTONIO CARLOS MAGALHÃES NICHELE

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA
DETERMINAÇÃO DO MONÔMERO RESIDUAL ACRILATO DE ETILA EM
RESINA COMERCIAL TIPO LÁTEX UTILIZANDO CROMATOGRAFIA A GÁS
COM DETECTOR DE IONIZAÇÃO DE CHAMA**

Porto Alegre

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

ANTONIO CARLOS MAGALHÃES NICHELE

**DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO ANALÍTICO PARA
DETERMINAÇÃO DO MONÔMERO RESIDUAL ACRILATO DE ETILA EM
RESINA COMERCIAL TIPO LÁTEX UTILIZANDO CROMATOGRAFIA A GÁS
COM DETECTOR DE IONIZAÇÃO DE CHAMA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico”
do Curso de Química Industrial, como requisito
parcial para a obtenção de grau de Químico
Industrial.

Prof. Dr. João Henrique Zimnoch dos Santos
Orientador

Porto Alegre

2021

CIP - Catalogação na Publicação

Nichele, Antonio Carlos Magalhães
Desenvolvimento de um método analítico para
determinação do monômero residual acrilato de etila em
resina comercial tipo látex utilizando cromatografia a
gás com detector de ionização de chama / Antonio
Carlos Magalhães Nichele. -- 2021.
50 f.
Orientador: João Henrique Zimnoch dos Santos.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Química, Curso de Química Industrial, Porto Alegre,
BR-RS, 2021.

1. Látex. 2. Monômeros livres. 3. Acrilato de
etila. 4. Cromatografia a gás. 5. Validação analítica.
I. Santos, João Henrique Zimnoch dos, orient. II.
Título.

AGRADECIMENTOS

Venho por meio desse realizar alguns agradecimentos pertinentes, os quais foram fundamentais do início ao fim da minha trajetória nesses anos de graduação e que foram essenciais para a realização desse trabalho de conclusão.

Agradeço aos meus pais Antonio e Regina pelo amor incondicional que tem por mim, pelo apoio e orientação que sempre me deram e pelo fato de nunca terem imaginado a possibilidade de eu não ter uma ótima educação. Amo vocês!!!

Agradeço à minha companheira, meu amor, Cristina, que sempre me apoiou desde 2018 e que não foi diferente durante todo o período de realização desse trabalho e na reta final de curso. Te amo!!!

Agradeço ao professor João Henrique, que aceitou ser meu orientador e esteve sempre disponível me dando o suporte necessário para a realização desse trabalho, ora com conversas sobre a vida, ora com conversas técnicas. Muito Obrigado Professor!!!

Agradeço a empresa PPG pela disponibilização das amostras e pela infraestrutura. Além disso, fica aqui o meu agradecimento às minhas colegas Luma, Giuliana, Camila e Brenda, as quais contribuíram muito para esse trabalho. Em especial, também gostaria de agradecer a minha gestora Claudia, que me abriu portas e me deu o suporte necessário para a realização desse trabalho. Gurias, muito obrigado!

Agradeço aos meus colegas e amigos que fiz durante a graduação, os quais me oportunizaram momentos de muito aprendizado e felicidade nesse período. Não conseguirei citar tod@s aqui, mas os meus agradecimentos especiais vão para Jaldré, Bruno e Matheus. Obrigado pela parceria de sempre!

Por fim, meus agradecimentos à Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade de fazer o curso, fazendo eu me desafiar do início ao fim na graduação desde o vestibular até esse trabalho de conclusão, e ao Instituto de Química pelo ótimo e qualificado corpo docente.

*“ Não há nenhuma chance, nenhum destino, nenhuma sorte
que possa impedir ou controlar a resolução firme
de uma alma determinada.”*

Ella Wheeler Wilcox

RESUMO

Atualmente, grandes indústrias de tintas e vernizes têm o desafio em formular produtos dessa natureza que tenham bom desempenho sem descuidar do meio ambiente e da saúde dos consumidores. Para isso, vem se produzindo uma linha de produtos cada vez mais sustentável e que tenha um baixo teor de compostos orgânicos voláteis, por exemplo. Dentro desse universo estão as resinas acrílicas tipo Látex, as quais são obtidas em processos de síntese via polimerização em emulsão e geralmente contêm quantidades residuais variáveis de voláteis, como, por exemplo, de monômeros livres. Dependendo da natureza química do monômero, mesmo estando em menor quantidade em relação aos outros voláteis, podem fazer com que o Látex exale um odor forte e ofereça toxicidade, assim como acontece com o acrilato de etila, o qual pode inviabilizar a aplicação do Látex pelo consumidor.

Tem-se como objetivo desse trabalho o desafio de desenvolver um método quantitativo para determinar o monômero livre acrilato de etila em uma faixa de concentração de 0,010 % m/m em uma resina comercial tipo Látex. Para isso, foi utilizada a técnica de cromatografia a gás com detector de ionização de chama (CG-DIC) e o método quantitativo com padrão interno, propondo-se uma validação analítica do método a partir do que é proposto pela literatura e do que é possível executar na rotina de um laboratório de indústria equipado com um CG-DIC.

Os resultados demonstraram que a metodologia cumpriu os critérios de aceitação previamente estabelecidos. Apresentou seletividade para o acrilato de etila frente aos outros voláteis presentes na amostra, linearidade com coeficiente de determinação maior que 0,99, limites de detecção e quantificação de 0,001 e 0,003 % m/m, respectivamente, e exatidão e precisão com recuperações maiores que 85 % e coeficientes de variação menor que 10 %. O parâmetro de robustez demonstrou com o diagrama de Pareto que os parâmetros cromatográficos de razão de *split*, volume e temperatura de injeção são impactantes para o desempenho do método.

Palavras-chave: Látex, Monômeros Livres, Acrilato de Etila, Cromatografia a Gás, Validação Analítica.

ABSTRACT

Currently, large paint and varnish industries have the challenge of formulating products of this nature that perform well without neglecting the environment and the health of consumers. For this, increasingly sustainable product lines have been manufactured that have a low concentration of volatile organic compounds, for example. Within this universe are the acrylic resins type Latex, which are obtained through emulsion polymerization and usually contain variable residual amounts of volatiles, such as free monomers. Depending on the chemical nature of the monomer, even if they are in smaller quantities compared to the other volatiles, they can cause the Latex to exude a strong odor and offer toxicity, as with ethyl acrylate, which may make it unfeasible for the consumer to apply the Latex.

The objective of this work was to develop a quantitative method to determine free ethyl acrylate monomer in a concentration level of 0.010 % m/m in a resin type Latex. Thus, gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID) and the quantitative method with internal standard were used, proposing an analytical validation of the method from what is proposed in the literature and what is possible to perform in the industrial laboratory routine equipped with a GC-FID.

The results showed that the methodology reached the acceptance criteria previously established. It showed selectivity for ethyl acrylate versus other volatiles present in the sample, linearity with a coefficient of determination greater than 0.99, limits of detection and quantification of 0.001 and 0.003 % m/m, respectively, and accuracy and precision with recoveries higher than 85 % and coefficients of variation lower than 10 %. The robustness parameter demonstrated with Pareto chart that the chromatographic parameters of split ratio, injection volume and temperature are impactful to the method performance.

Keywords: Latex, Free Monomers, Gas Chromatography, Method Validation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Cromatograma gerado da injeção da resina Látex comercial com o pico cromatográfico do monômero residual AE identificado em conjunto com a estrutura molecular do monômero.....	17
Figura 2 – Cromatograma gerado pela injeção de um padrão preparado contendo todos os componentes voláteis presentes na formulação da amostra para avaliação da separação cromatográfica.....	31
Figura 3 – Cromatograma do ensaio da amostra fortificada com metodologia inicial.....	32
Figura 4 – Cromatograma do ensaio da amostra fortificada com método da análise exploratória 1.	33
Figura 5 – Cromatograma do ensaio da amostra fortificada com método da análise exploratória 2.	33
Figura 6 – (A) Cromatograma do Branco. (B) Cromatograma da amostra fortificada com 0,01 % m/m de AE.	34
Figura 7 – Regressão Linear realizada entre o teor recuperado (% m/m) versus o teor fortificado (% m/m) para avaliação da linearidade.	38
Figura 8 – Regressão Linear realizada entre a Área do pico do AE (%) versus o teor recuperado (% m/m) determinado pela normalização interna para avaliação do LD e LQ.....	39
Figura 9 – Diagrama de Pareto: relação entre os parâmetros e os efeitos % das variações de cada parâmetro para a recuperação do analito.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sugestão de critérios de aceitação para o ensaio de recuperação baseados no teor do analito que se deseja quantificar na amostra.....	23
Tabela 2 – Sugestão de critérios de aceitação para a repetibilidade baseados no teor do analito que se deseja quantificar na amostra	24
Tabela 3 – Parâmetros de análise da resina Látex por CG-DIC.....	27
Tabela 4 – Critérios de aceitação para os parâmetros de validação da metodologia para a determinação de AE por CG-DIC	30
Tabela 5 – Análise exploratória para escolha dos melhores parâmetros de análise para razão do <i>split</i> , temperatura do injetor e detector.....	32
Tabela 6 – Resultados de Exatidão e Repetibilidade	35
Tabela 7 – Resultados de Precisão Intermediária	36
Tabela 8 – Dados e resultados para o estudo de linearidade e LD/LQ	38
Tabela 9 – Resultados de área (%) do ruído no tempo de retenção do AE em dez medidas do Branco.....	40
Tabela 10 – Matriz de experimentos Placket-Burmann para o ensaio de robustez.....	42
Tabela 11 – Resultados dos ensaios de robustez	42
Tabela 12 – Cálculo dos custos envolvidos com todos os experimentos realizados nesse projeto tecnológico.	45

LISTA DE ABREVIATURAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABRAFATI – Associação Brasileira dos Fabricantes de Tintas
AE – Acrilato de Etila
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Api – área % produzida pelo pico do pi MIB
AQAO – Associação de Químicos Analíticos Oficiais
CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CG-DIC – Cromatografia a Gás com Detector de Ionização de Chama
CO – Monóxido de Carbono
CO₂ – Dióxido de Carbono
COV – Compostos Orgânicos Voláteis
CV – Coeficiente de Variação
DIC – Detector de Ionização de Chama
FR – Fator de resposta.
H₂O – Água
INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LD – Limite de Detecção
LQ – Limite de Quantificação
ma – massa de AE usada no padrão calibração em gramas.
MIB – Metacrilato de Isobutila
Mpi – massa do pi MIB usada no padrão calibração em gramas
MRC – Métodos de Referência Certificados
PPG – PPG Industrial Tintas e Vernizes do Brasil LTDA
SATM – Sociedade Americana para Testes e Materiais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	CONCEITOS DE RESINAS LÁTEX E MONÔMEROS LIVRES	16
3.2	CROMATOGRAFIA A GÁS COM DETECTOR DE IONIZAÇÃO DE CHAMA.....	17
3.3	CONCEITOS DE VALIDAÇÃO ANALÍTICA.....	19
3.3.1	Seletividade/Especificidade.....	21
3.3.2	Linearidade.....	21
3.3.3	Limite de Detecção (LD).....	21
3.3.4	Limite de Quantificação (LQ).....	22
3.3.5	Exatidão.....	22
3.3.6	Precisão (Repetibilidade, Precisão intermediária e Reprodutibilidade).....	23
3.3.7	Robustez.....	24
3.3.8	CrITÉrios de Aceitação	25
4	METODOLOGIA	26
4.1	MATERIAIS.....	26
4.2	AMOSTRAS DE RESINAS LÁTEX.....	26
4.3	EQUIPAMENTOS	26
4.4	PREPARO DO PADRÃO DE CALIBRAÇÃO E AMOSTRAS FORTIFICADAS	27
4.5	METODOLOGIA DE ANÁLISE QUANTITATIVA.....	28
4.6	CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31

5.1 ANÁLISE EXPLORATÓRIA	31
5.2 SELETIVIDADE/ESPECIFICIDADE	34
5.3 EXATIDÃO E PRECISÃO	35
5.4 LINEARIDADE E LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO.....	37
5.5 ROBUSTEZ.....	41
6 CÁLCULO DE CUSTOS	45
7 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1 INTRODUÇÃO

O controle da emissão de componentes poluentes na atmosfera e a saúde ocupacional são temas abordados em todos os setores do ramo industrial e que são justificados pelo grande apelo ambiental vivido em momentos em que cada vez mais são exigidos cuidados com o meio ambiente, saúde e segurança em todas as esferas. Sabe-se que boa parcela das emissões e poluições atmosféricas são devido aos componentes orgânicos voláteis (COV) liberados em processos fabris, os quais contemplam a manipulação de matérias primas, o processo produtivo em si, a geração de resíduos e o próprio uso e aplicação dos produtos acabados, tal como tintas, vernizes e resinas produzidos em indústrias dessa natureza.

Em estudos práticos realizados por empresas do ramo de tintas, vernizes e resinas com os clientes que fazem o uso de resina comercial do tipo Látex, ficou evidenciado que teores acima de 0,010 % m/m do monômero residual acrilato de etila (AE) presentes nesse tipo de resina dificultam a aplicação do verniz que contém esse produto como matéria-prima em sua formulação, pelo motivo do forte odor que produto gera no ambiente no momento de uso, além do potencial tóxico gerado. O método de aplicação do produto sobre as superfícies trabalhadas é via *spray*. Nesse método ocorre um processo de pulverização do verniz no momento da aplicação, existindo um efeito de potencialização da dispersão de odores no ambiente, fazendo-se necessário o controle da quantidade de AE na faixa de teor explicitada anteriormente, pois em conjunto com o forte odor existe um problema de saúde ocupacional. Segundo a indicação da 3M¹, em um total de 8 horas trabalhadas, tem-se como limite de exposição para o AE uma concentração máxima de 160 ppm, sendo imediatamente perigoso à vida e à saúde a exposição a uma concentração de 2000 ppm.

Sabe-se que o odor e a possível toxicidade de emulsões acrílicas ou resinas Látex não são consequência somente da presença de AE na formulação, mas o AE tem uma grande contribuição neste aspecto. Vislumbrando isso, estipulou-se como parâmetro de controle de qualidade da resina Látex comercial referida a determinação desse componente em um teor de até 0,010 % m/m antes da comercialização, necessitando assim de confiança nos resultados para que a tomada de decisão a cerca desse fator possa ser assertiva.

Uma das peculiaridades envolvidas nessa análise é em relação à faixa de concentração do analito que se deseja quantificar na resina, que para análises do dia-

dia para esse tipo de determinação não é comum. Outro ponto peculiar está relacionado com a matriz que será analisada, pois é um produto base água, com baixo teor de COV. Portanto, a faixa de concentração que se deseja quantificar o AE presente na resina é bem menor do que com o que se trabalha comumente, uma vez que análises do dia a dia de laboratório de indústria de tintas para controle de voláteis lidam com concentrações de analitos acima de 0,100 % m/m, enquanto a determinação de AE será realizada em uma faixa de teor 10 vezes menor.

Especificamente para determinação de monômeros residuais que também são considerados COV em resinas Látex, tal como o AE, é bem-conceituado e indicado utilizar-se a técnica de cromatografia a gás para determinação. Para análise desse tipo de material, tem-se da literatura a indicação do método de teste ASTM D 4827-93 como base, sendo que devido às peculiaridades dos tipos de Látex e suas matrizes variáveis, ao tipo de instrumentação analítica disponível, à faixa de concentração do monômero presente na resina e à natureza do monômero em si, indica-se a realização de algumas modificações na metodologia de trabalho, necessitando-se de uma validação de metodologia analítica que confirme e dê confiança para os resultados que serão obtidos para condições específicas de análise.

Validando-se um método dentro dos critérios de aceitação pré-estabelecidos e que vão ao encontro com a realidade da produção, controle industrial e instrumentação analítica disponível, objetiva-se tornar essa análise em um teste de rotina e de fácil compreensão e execução. Visando isso, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método que fosse adaptável à rotina de análises em um CG-DIC de um laboratório analítico e controle de qualidade da indústria dessa natureza. Com um preparo de amostras simples e com um método de quantificação na cromatografia semelhante ao que já é utilizado em análises de rotina e indicado pela literatura para esse tipo de análise, quantificação por padronização interna, tornando assim possível o controle do teor monômero residual AE na resina Látex estudada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente trabalho de projeto tecnológico é desenvolver um método analítico confiável para a determinação do monômero residual Acrilato de Etila em uma resina tipo Látex comercial em uma faixa de concentração de 0,010 % m/m, utilizando-se a técnica de cromatografia a gás com detector de ionização de chama (CG-DIC).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do tratamento e preparo das amostras de resina Látex para a análise via cromatografia a gás;
- Estudar o efeito de matriz na determinação do monômero Acrilato de Etila na resina Látex comercial referida para esse trabalho;
- Validar a metodologia estudada.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CONCEITOS DE RESINAS LÁTEX E MONÔMEROS LIVRES

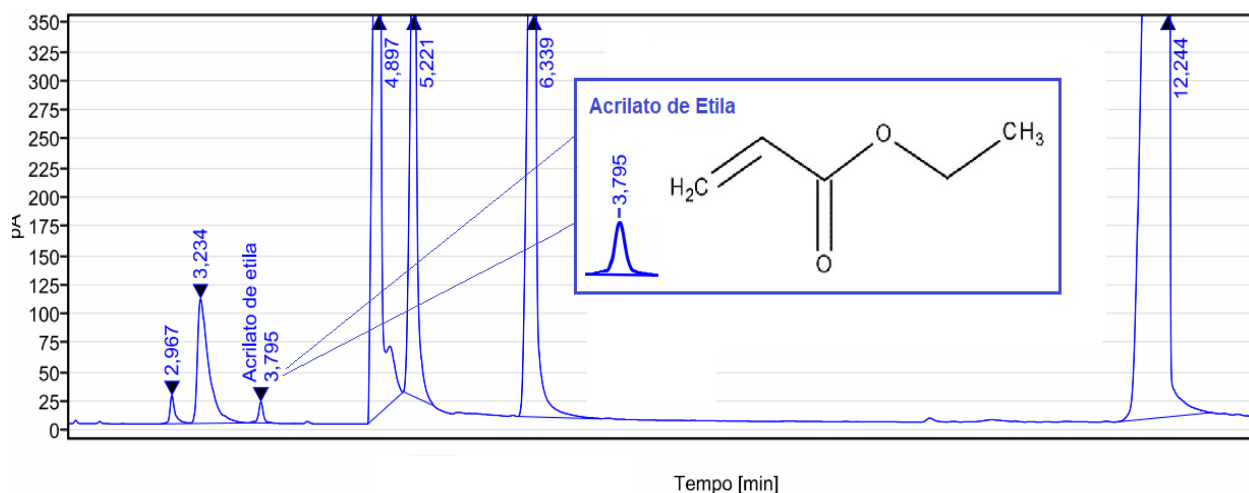
As resinas Látex são também chamadas de emulsões, ou mais especificamente de emulsões acrílicas quando os polímeros envolvidos no sistema são acrílicos. As emulsões acrílicas são utilizadas em larga escala nas formulações de tintas, vernizes e resinas de sistemas classificados como base água. São considerados tintas e vernizes base água os produtos em que a parte volátil é constituída em média por 98 % de água e 2 % de compostos orgânicos, conforme adaptado do guia da Associação Brasileira dos Fabricantes de Tintas (ABRAFATI) pelo Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB)². Além disso, as resinas acrílicas encontram uso em uma variedade de tintas e revestimentos que suportam o setor automotivo, de eletrodomésticos, indústrias de alimentos e principalmente o ramo arquitetônico³.

As emulsões aquosas que são usadas como resina em tintas e vernizes, precisam enfrentar o grande desafio de garantir uma excelente formação e aparência do filme protetivo do produto sobre a superfície de trabalho, além de boas propriedades mecânicas³. A estratégia adotada para atender aos requisitos apresentados é a utilização de resinas acrílicas, os poliácrlatos. A síntese dos poliácrlatos é realizada através de polimerização radicalar que geralmente começa com uma emulsão incorporando água, monômero e surfactante. O tipo mais comum de polimerização em emulsão é uma emulsão de óleo em água, na qual gotículas de monômero são emulsionadas com surfactantes em uma fase contínua de água⁴. Os principais atributos dos revestimentos acrílicos são a sua resistência à hidrólise durante a exposição externa prolongada (intemperismo), a alta resistência ao bloqueio, dureza, brilho e a alta resistência a álcalis e à oxidação³.

Em geral, as emulsões acrílicas que têm importante aplicação comercial na indústria de tintas, têm como principais monômeros os ácidos acrílico e metacrílico ou seus correspondentes ésteres, tais como acrilatos de etila e metila, metacrilato de metila, dentre muitos outros. As resinas acrílicas geralmente contêm quantidades variáveis de compostos orgânicos de baixo peso molecular, como alguns solventes orgânicos, monômeros residuais, subprodutos de reações de reticulação, decomposição de iniciador e impurezas associadas às matérias-primas⁵.

O controle de monômeros residuais em resinas é de suma importância tanto para realizar o controle de processo, que é quando a resina está sendo sintetizada, como para o controle de qualidade do produto acabado, o qual muitas vezes se exige que um certo teor limítrofe para esse tipo de componente no produto final devido a sua toxicidade. Em outras palavras, pode-se dizer que ao se determinar a quantidade de um monômero residual de uma resina, como por exemplo, a emulsão acrílica, no momento da síntese, tem-se uma boa ideia da conversão da reação química de polimerização⁶, e no momento do controle de qualidade do produto acabado, se tem um controle da toxicidade, visando a saúde⁵. A partir disso, sabe-se a motivação para determinar monômeros residuais em resinas. Para isso, podem ser utilizadas técnicas analíticas instrumentais, como a cromatografia a gás com detector de ionização de chama (CG-DIC), para determinações de monômeros acrílicos em resinas Látex, por exemplo, como pode ser visto no cromatograma da Figura 1.

Figura 1 – Cromatograma gerado da injeção da resina Látex comercial com o pico cromatográfico do monômero residual AE identificado em conjunto com a estrutura molecular do monômero.



3.2 CROMATOGRAFIA A GÁS COM DETECTOR DE IONIZAÇÃO DE CHAMA

O sistema de cromatografia a gás, assim como os outros tipos de cromatografia, tem como princípio a separação de componentes de uma mistura. Porém, neste tipo de cromatografia, além da separação dos componentes acontecer devido às diferentes interações de cada componente presente na mistura com coluna cromatográfica, a separação também é influenciada por diversos parâmetros, dentre os quais, a natureza da fase estacionária e comprimento da coluna, programação de

temperatura do forno que comporta a coluna e a vazão do gás que arrasta os componentes na fase gasosa⁷.

Em linhas gerais, a mistura é injetada no equipamento com uma seringa através do injetor em alta temperatura, vaporizando a mistura e se for do tipo *Split/Splitless*, com programação, é possível adequar a quantidade da mistura que entra efetivamente na coluna cromatográfica. Na coluna cromatográfica ocorre a separação dos componentes em si, devido à programação do forno que comporta a coluna e pelas diferentes interações de cada componente com a fase estacionária presente. Assim, os compostos chegam até o detector separadamente, gerando um sinal característico para cada componente em um tempo específico (tempo de retenção) após a sua queima, caso o detector utilizado seja um detector de ionização de chama⁷ (DIC).

O DIC é um dos detectores mais utilizados em sistemas de cromatografia a gás, uma vez que ele gera resposta para quase todas as substâncias orgânicas, não detectando inorgânicos, como H₂O, CO₂ e CO, por exemplo⁸. Ele recebe uma alimentação de três tipos de gases: o combustível (Hidrogênio) e o comburente (ar sintético), que em conjunto geram a chama do detector, e o *make-up* (Nitrogênio), que é responsável por diminuir o alargamento do sinal e melhorar a resposta da chama^{7,8}. O funcionamento do DIC é baseado na detectabilidade da corrente elétrica gerada pela queima dos compostos na chama. Para medir a corrente, são utilizados dois eletrodos para fornecer uma grande diferença de potencial através da chama, um que fica na ponta do queimador e o outro na placa coletora que está localizado acima da chama. Os íons são atraídos para o eletrodo coletor e, ao atingir a placa, induzem uma corrente que é medida por um pico-amperímetro de alta impedância e que é registrada por um sistema de aquisição de dados, gerando um cromatograma⁸.

A linha de base do cromatograma é gerada devido apenas ao gás de arraste, que pode ser o próprio hidrogênio, puro que passa pela chama, gerando uma corrente elétrica muito pequena e formando o sinal da linha de base. Sendo assim, quando estiverem presentes na fase gasosa oriunda da coluna compostos orgânicos, a chama queimará esses compostos e formará basicamente CO₂, H₂O, que não são detectáveis, e os respectivos íons, os quais são detectáveis e geram um pico característico do composto de interesse no cromatograma⁸. A área ou a altura do pico de interesse poderá ser utilizada para quantificar o componente na mistura.

Apesar de o DIC não detectar compostos inorgânicos no seu sistema, esse fato deve ser considerado como uma vantagem, uma vez que possibilita a determinação de baixas concentrações de compostos orgânicos em matrizes aquosas como a resina Látex, por exemplo. Para a determinação de monômeros livres em resinas Látex, tem-se da literatura⁹ um método normalizado utilizando-se CG-DIC.

Entretanto, devido às peculiaridades do monômero e da matriz Látex envolvida, a metodologia deve ser validada pelo laboratório responsável pela análise, realizando os ensaios pertinentes para cada parâmetro de validação, escolhendo os respectivos critérios de aceitação que devem ser baseados visando a aplicação do dia a dia.

3.3 CONCEITOS DE VALIDAÇÃO ANALÍTICA

A validação de método é o processo de avaliação do desempenho de um método de teste a fim de determinar se ele é capaz de produzir resultados de teste adequados para uma finalidade específica¹⁰. Trata-se de uma confirmação através de exame e fornecimento de evidências objetivas em que as exigências particulares são atingidas para um dado uso específico¹¹.

A validação de um método está totalmente relacionada com a confiabilidade dos resultados obtidos através do método proposto. Isso significa que após um método analítico ser validado, fica comprovado que ele é adequado à proposta e que os resultados obtidos através dele poderão ser confiáveis para o destino ao qual ele foi desenvolvido¹², como por exemplo, tomadas de decisões em relação ao controle de qualidade de algum produto.

Entretanto, antes de validar um método em si, existem duas etapas prévias ao processo de validação e que contemplam o processo de obtenção de um método, sendo elas a especificação da necessidade ou do requisito para tal medição e a escolha de um método de teste¹³. Em outras palavras, primeiramente determina-se o que será medido e analisado, depois escolhe-se um método que possivelmente poderá servir para realizar a análise de forma satisfatória e por fim realiza-se a avaliação de desempenho do método escolhido, ou seja, a validação do método em si.

Segundo o Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO)¹³ o método envolvido em um processo de validação pode ser um método

não normalizado, um método que foi criado ou desenvolvido pelo laboratório que realiza o teste, um método normalizado que será aplicado fora do escopo ao qual foi concebido ou ainda uma ampliação e modificação de um método já normalizado. Tem-se como definição¹⁴ que um método normalizado é aquele que é desenvolvido por um órgão de normalização, tal como Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) ou Sociedade Americana para Testes e Materiais (SATM), por exemplo. Portanto, ao escolher um método que se encaixe em uma das situações mencionadas, deve-se validá-lo para que, como já comentado anteriormente, possa-se confiar nos resultados obtidos pelo referido método.

Sendo assim, para realizar-se a validação de um método analítico deve-se seguir um planejamento, o qual tem por base orientar o trabalho que será desenvolvido. Conforme o INMETRO¹³, o planejamento pode seguir a seguinte sequência:

- (i) Definir o objetivo do método, os parâmetros de desempenho que serão analisados e os critérios de aceitação para cada parâmetro escolhido;
- (ii) Verificar, caso seja necessário, as características de desempenho do equipamento envolvido na metodologia;
- (iii) Qualificar padrões e reagentes que serão utilizados;
- (iv) Planejar os experimentos de validação e os cálculos estatísticos que estarão envolvidos;
- (v) Realizar os experimentos planejados;
- (vi) Avaliar os resultados obtidos em relação aos critérios de aceitação pré-estabelecidos;
- (vii) Concluir se o método escolhido é adequado ou não para o uso pretendido.

Com o objetivo do método já alinhado, devem-se avaliar quais os parâmetros de desempenho serão utilizados para o estudo de validação e, por consequência, os seus respectivos critérios de aceitação. É válido mencionar que tanto os parâmetros de desempenho quanto os seus critérios de aceitação devem ser definidos antes de o estudo começar. Os parâmetros de desempenho que serão utilizados e a forma de abordagem deles no estudo podem ser baseados apenas por um guia de validação, tal como o da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por exemplo, quando a validação envolve trabalhos desenvolvidos por indústrias farmacêuticas que

serão auditadas pelo órgão futuramente, ou baseado por mais de um guia ou referência quando um dos objetivos do trabalho envolve um estudo acadêmico, por exemplo. A segunda oferece uma maior liberdade, fazendo com que se possa determinar os parâmetros de desempenho e os critérios de aceitação para a validação a partir da realidade de trabalho e ao que será exigido do método após a sua validação e implementação. Os parâmetros de desempenho que podem ser abordados em estudos de validação de métodos quantitativos são compreendidos por: Seletividade/Especificidade, Linearidade, Limite de Detecção e Quantificação, Exatidão, Precisão (Repetibilidade, Precisão Intermediária e Reprodutibilidade) e Robustez.

3.3.1 Seletividade/Especificidade

Seletividade e especificidade estão relacionadas com a capacidade que o método possui em detectar um ou mais de um tipo de analito. Quando se refere à característica de detectar o sinal analítico para apenas um analito, se trata de especificidade. Entretanto, quando o método produz respostas para mais de um analito e consegue-se identificá-los separadamente, trata-se de seletividade¹³.

3.3.2 Linearidade

Linearidade está relacionada com a capacidade que o método tem de dar respostas diretamente proporcionais entre a concentração do analito de interesse e o sinal analítico que o sistema de análise oferece¹³. Em outras palavras, está relacionado com a função de resposta obtida da relação diretamente proporcional entre sinal analítico *versus* concentração do analito na faixa de trabalho pré-estabelecida¹².

3.3.3 Limite de Detecção (LD)

O LD é a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais pré-estabelecidas do método¹³. O LD pode ser determinado pela relação sinal/ruído (3:1), pelo desvio padrão em conjunto com o coeficiente angular (sensibilidade) da curva analítica desenvolvida e por processos estatísticos¹⁵.

3.3.4 Limite de Quantificação (LQ)

O LQ é a menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra, considerando exatidão e precisão aceitáveis, sob as condições experimentais pré-estabelecidas¹³. Assim como o LD, o LQ também pode ser determinado pela relação sinal/ruído (10:1), pelo desvio padrão em conjunto com o coeficiente angular (sensibilidade) da curva analítica desenvolvida e por processos estatísticos¹⁵.

3.3.5 Exatidão

Esse parâmetro é considerado como um dos pontos-chave para o processo de validação da metodologia em estudo, uma vez que é definido como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o que o método retorna como resposta do processo analítico¹³. A literatura^{12,13,15} indica que são quatro os principais métodos utilizados para determinar a exatidão, sendo eles: utilização de métodos de referência certificados (MRC); comparação dos resultados do método proposto com outro já validado; estudos colaborativos inter-laboratoriais e ensaios de recuperação na matriz de trabalho. O último método citado é um dos mais utilizados, uma vez que, além de se obter resultados de recuperação do analito já se considerando a interação dele na matriz que será analisada, evitam-se problemas e limitações de logística e estabilidade da amostra, quando se aborda o método colaborativo; grandes gastos com os MRC, uma vez que os padrões de referência possuem um alto custo em sua grande maioria e a possibilidade de não se encontrar métodos comparativos com referência pré-existentes.

Como já comentado, o ensaio de recuperação é o método mais utilizado para avaliação da exatidão, pois reflete a quantidade de determinado analito recuperado no processo em relação à quantidade real presente na amostra, ou ao que foi fortificado. A recuperação é determinada pela Equação 1 e ela é realizada normalmente com três níveis de concentração: mínimo, médio e máximo da faixa de trabalho do método¹³.

$$Rec \% = \frac{C_1}{C_2} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde C1 se refere à concentração obtida no ensaio e C2 à fortificada.

Os critérios de aceitação sugeridos pelo INMETRO¹³, adaptado do manual da Associação de Químicos Analíticos Oficiais (AQAO), para o ensaio de recuperação podem ser vistos na Tabela 1.

Tabela 1 – Sugestão de critérios de aceitação para o ensaio de recuperação baseados no teor do analito que se deseja quantificar na amostra

Analito, %	Razão do analito	Unidade	Recuperação média, %
100	1	100%	98 – 102
10	10 ⁻¹	10%	98 – 102
1	10 ⁻²	1%	97 – 103
0,01	10 ⁻³	0,1%	95 – 105
0,001	10 ⁻⁴	100 ppm	90 – 107
0,0001	10 ⁻⁵	10 ppm	80 – 110
0,00001	10 ⁻⁶	1 ppm	80 – 110
0,000001	10 ⁻⁷	100 ppb	80 – 110
0,0000001	10 ⁻⁸	10 ppb	60 – 115
0,00000001	10 ⁻⁹	1 ppb	40 – 120

Fonte: INMETRO - DOQ-CGCRE-08, 2016

3.3.6 Precisão (Repetibilidade, Precisão intermediária e Reprodutibilidade)

A precisão é outro parâmetro chave para a validação e que avalia a proximidade entre as várias medidas obtidas experimentalmente de uma mesma amostra. Quanto menor for a variabilidade das medidas, maior será a precisão, ou seja, esta medida reflete a tendência de maior ou menor afastamento (erro) entre os resultados de ensaio¹². Este erro normalmente é expresso pelo coeficiente de variação^{12,13,15} (CV), que é o desvio padrão tomado como percentagem da média, conforme apresentado na Equação 2.

$$CV \% = \frac{\text{desvio padrão}}{\text{média}} \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

A precisão pode ser considerada em três níveis, sendo eles a repetibilidade, a precisão intermediária e a reprodutibilidade.

- a) A Repetibilidade nos expressa a precisão em cima das mesmas condições de operação (equipamento, analista, reagentes, dia e condições ambientais) em curto espaço de tempo.

Os critérios de aceitação sugeridos pelo INMETRO¹³, adaptado do manual da AQAQO, para a repetibilidade podem ser vistos na Tabela 2.

Tabela 2 – Sugestão de critérios de aceitação para a repetibilidade baseados no teor do analito que se deseja quantificar na amostra

Analito, %	Razão do analito	Unidade	DPR, %
100	1	100%	1,3
10	10 ⁻¹	10%	1,9
1	10 ⁻²	1%	2,7
0,01	10 ⁻³	0,1%	3,7
0,001	10 ⁻⁴	100 ppm	5,3
0,0001	10 ⁻⁵	10 ppm	7,3
0,00001	10 ⁻⁶	1 ppm	11
0,000001	10 ⁻⁷	100 ppb	15
0,0000001	10 ⁻⁸	10 ppb	21
0,00000001	10 ⁻⁹	1 ppb	30

Fonte: INMETRO - DOQ-CGCRE-08, 2016

- b) A Precisão Intermediária expressa as variações no mesmo laboratório que envolvem diferentes dias, diferentes analistas e diferentes equipamentos, entre outros. Além disso, avaliando-se um laboratório internamente, este parâmetro é o que indicará a variabilidade interna do laboratório que está executando o ensaio¹³, não necessitando de trabalho colaborativo com outros.
- c) A Reprodutibilidade expressa a precisão entre laboratórios, mediante estudos colaborativos usualmente aplicados para padronização de metodologias, ou seja, aplica-se as variações abordadas na precisão intermediária e acrescenta-se mais de um laboratório para realizar os ensaios¹³.

3.3.7 Robustez

Por definição, a robustez é a capacidade de um método analítico em não ser afetado por pequenas variações impostas aos parâmetros de análise. Ela é um parâmetro opcional em estudos de validação analítica, não sendo item obrigatório em

muitos guias de validação¹³. Muitas vezes considera-se a robustez na etapa de desenvolvimento do método, uma vez que esses testes podem servir para indicar os fatores que podem influenciar, significativamente, na resposta do método estudado¹⁵. Para a determinação da robustez de um método de ensaio, pode-se recorrer ao planejamento de Plackett-Burman¹³, por exemplo. Trata-se de um estudo que permite não só avaliar a robustez do método, como também ordenar a influência de cada uma das variações nos resultados finais, indicando qual o tipo de influência de cada uma dessas variações.

3.3.8 Critérios de Aceitação

Os critérios de aceitação são definidos a partir da legislação pertinente no país em que o trabalho está sendo desenvolvido, podendo ser mais específico e rígido de acordo com a área e o escopo do trabalho, tal como a indústria farmacêutica que segue as regulamentações da ANVISA para validação de métodos analíticos envolvendo determinação de fármacos, por exemplo. Caso não exista nenhuma exigência para a determinação que está em desenvolvimento, pode-se recorrer a manuais e guias internacionais ou nacionais para o estabelecimento dos critérios de aceitação, bem como estipular dentro do órgão ou empresa em que se está desenvolvendo o trabalho. De acordo com o nível de exigência, serão determinados os parâmetros de validação e as abordagens estatísticas que serão utilizadas para avaliação do desempenho, ou seja, a determinação dos critérios de aceitação é realizada dentro da realidade de análise que é intrínseca ao laboratório e ao controle de qualidade.

4 METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

- Álcool Metílico PA - Química Moderna
- Acrilato de (AE) (99,5 % Dow Chemical)
- Metacrilato de Isobutila (MIB) (99,5 % Dow Chemical)
- Hidrogênio (5.0) – White Martins
- Ar sintético (5.0) – White Martins
- Nitrogênio (5.0) – White Martins

4.2 AMOSTRAS DE RESINAS LÁTEX

Foram utilizadas dez amostras da resina comercial tipo Látex para o desenvolvimento desse trabalho. As amostras são de diferentes lotes de produção e com o teor do monômero residual AE atestado como não detectado no certificado de análise. Após a confirmação dessa informação com análises prévias, essas amostras foram utilizadas como matriz sem a presença do analito para as fortificações.

4.3 EQUIPAMENTOS

Os equipamentos disponíveis para o desenvolvimento da metodologia quantitativa do presente trabalho foram os seguintes:

- Cromatógrafo gasoso modelo 7890A equipado com detector de ionização de chama e amostrador automático modelo G4513A, ambos da marca Agilent;
- Balança analítica 0,01 mg – marca Pioneer, modelo OHAUS.

Ambos os equipamentos estão locados no laboratório da empresa PPG.

As condições dos parâmetros de análise do CG-DIC utilizados podem ser visualizadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros de análise da resina Látex por CG-DIC.

Parâmetro	Método de Análise do Látex
Temperatura do Forno	Programação de temperatura
Temperatura do Injetor	170 ; 250 °C
Razão de <i>Split</i>	1:10 ; 1:25
Temperatura do Detector	220 ; 275 °C
Gases Detector	H ₂ :N ₂ :ar sintético (30:25:300)
Vazão do gás de arraste (H ₂)	4,5 ; 5,5 mL/minuto
Volume de injeção amostra	1 ; 2 µL
Volume de injeção Padrão	1 ; 2 µL
Tempo de retenção (min)	Pico entre 3,50 e 4,00 min
Coluna	HP-5 Agilent (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm)
Solvente de diluição	Metanol

4.4 PREPARO DO PADRÃO DE CALIBRAÇÃO E AMOSTRAS FORTIFICADAS

Para o preparo do padrão de calibração de teor 1,0 % m/m do padrão de AE e MIB foi necessário pesar cerca de 50,0 mg de cada padrão em um *vial* de 10 mL. Adicionou-se Metanol PA até 5,0 g e a seguir fechou-se o frasco e agitou-se para promover a homogeneização. Cerca de 1,0 mL dessa solução foi amostrada para um *vial* de 1,5 mL para realização da injeção no cromatógrafo em triplicata como corrida de calibração, obtendo-se o fator de resposta do analito para a posterior quantificação.

Para o preparo das amostras fortificadas que foram utilizadas nos ensaios de exatidão e precisão, foi utilizada a solução de calibração de 1,0 % m/m como padrão de fortificação. Foram preparados três níveis de concentração (0,005; 0,01 e 0,015 % m/m), todos em triplicata e em dois dias diferentes, sendo o preparo de cada dia realizado por um analista diferente. Para cada nível de concentração foram pesados em um *vial* de 10 mL, respectivamente, 0,0250; 0,0500 e 0,0750 g do padrão. Na

sequência, para cada preparo, foi adicionada a matriz até a massa final de 5,0 g. Realizou-se a diluição com Metanol PA até aproximadamente 10 mL e homogeneizou-se por 10 minutos. Cerca de 1,0 mL de cada solução fortificada foi amostrada para um *vial* de 1,5 mL para a realização da injeção no cromatógrafo em triplicata.

Para o ensaio de linearidade e LD e LQ, foi utilizado o mesmo procedimento de preparo dos ensaios de exatidão e precisão, acrescentando-se mais duas amostras de concentrações 0,0075 e 0,0125 % m/m, para as quais foram pesadas, respectivamente, 0,0350 e 0,0650 g do padrão 1,0 % m/m. Sendo assim, foi amostrado 1,0 mL das soluções em *vials* de 1,5 mL e injetadas em triplicata 5 amostras de concentração 0,005; 0,0075; 0,010; 0,0125 e 0,015 % m/m e 10 amostras Branco, as quais foram preparadas com 5 g de matriz acrescidas com Metanol PA até aproximadamente 10 mL.

Para o ensaio de robustez foram preparadas duas amostras, uma para cada analista em um mesmo dia, com teor alvo de 0,010 % m/m seguindo o mesmo procedimento de preparo e de amostragem já comentado. As injeções foram delineadas em 8 experimentos, conforme será abordado nos resultados e discussões desse parâmetro.

4.5 METODOLOGIA DE ANÁLISE QUANTITATIVA

O método utilizado para a determinação do monômero AE foi o da quantificação com padrão interno (pi). Nessa metodologia a resposta do analito é comparada com uma referência com características semelhantes ao do analito e que possua compatibilidade com a matriz de análise^{7,9,16}. Portanto, primeiramente determina-se o fator de resposta (FR) do analito com uma corrida de calibração do padrão 1,0 % m/m mencionado no item 4.4, o qual é calculado conforme a Equação 3. O FR foi determinado para cada dia de análise e em triplicata.

$$FR = \frac{(ma \times A_{pi})}{(m_{pi} \times A)} \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

FR: fator de resposta.

ma: massa de AE usada no padrão calibração em gramas.

Api: área % produzida pelo pico do pi MIB.

mpi: massa do pi MIB usada no padrão calibração em gramas.

A: área % produzida pelo pico do AE.

Com o FR calculado, a determinação do AE nas amostras fortificadas para cada parâmetro avaliado foi realizada a partir da Equação 4.

$$C (\%) = \frac{(mpi \times FR \times A \times 100)}{(mam \times Api)} \quad (\text{Equação 4})$$

Onde:

C (%): concentração de AE em % m/m.

FR: fator de resposta.

mam: massa da amostra.

Api: área % produzida pelo pico do pi MIB na corrida cromatográfica da amostra.

mpi: massa do pi MIB adicionada na amostra.

A: área % produzida pelo pico do AE na corrida cromatográfica da amostra.

As amostras foram analisadas seguindo as peculiaridades de cada parâmetro de validação, sendo analisadas as amostras preparadas conforme o item 4.4. A avaliação dos resultados quantitativos pertinentes para cada parâmetro será abordada nos resultados e discussões.

4.6 CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO

Os critérios de aceitação adotados para o desenvolvimento dessa metodologia são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Critérios de aceitação para os parâmetros de validação da metodologia para a determinação de AE por CG-DIC

Parâmetro de Validação		Critério de Aceitação
Seletividade/Especificidade		A amostra branco não deve apresentar pico no tempo de retenção do AE e deve apresentar o pico do AE na amostra fortificada no nível de concentração do alvo.
Exatidão		Recuperação de 85 a 100% da concentração alvo.
Precisão	Repetibilidade	CV (%) entre triplicatas até 10 %. CV (%) no nível até 10 %.
	Precisão Intermediária	CV (%) no nível entre dias até 10 %.
Linearidade/LD/LQ		Coefficiente de determinação (R^2) maior ou igual a 0,99.
Robustez		Recuperação de 85 a 100% da concentração alvo. CV (%) das triplicatas de até 10 %

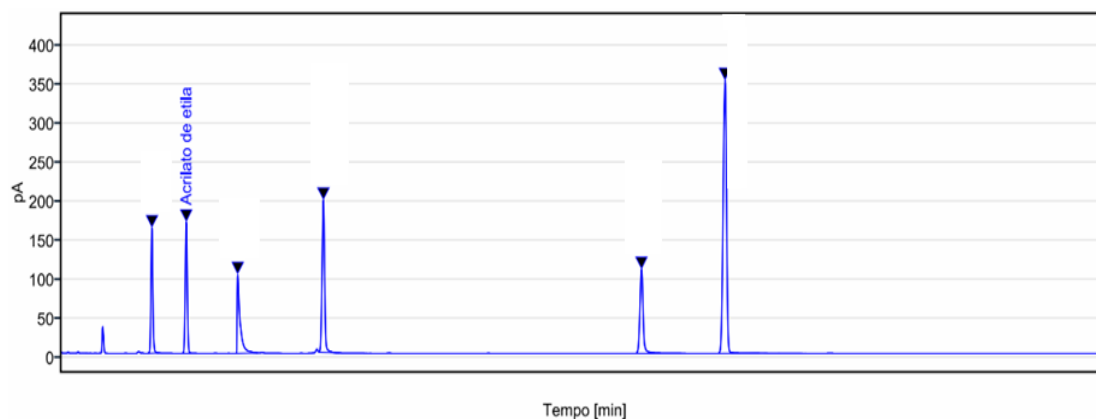
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE EXPLORATÓRIA

Para se chegar nas melhores condições análise no CG-DIC, trabalhou-se em um estudo nas faixas dos parâmetros de análise que estão descritas na Tabela 3.

A melhor condição de temperatura do forno foi a programação com uma temperatura inicial de 40 °C por 4 minutos, subindo a temperatura com uma primeira rampa de aquecimento a uma taxa de 4 °C/min até 68 °C e uma segunda rampa a uma taxa de 3 °C/min até 220 °C, chegando-se à melhor separação dos voláteis presentes na mistura. Em conjunto com essa programação, foi utilizada uma vazão de gás de arraste de 4,8 mL/min, razão de *split* 1:25 e temperatura do injetor e detector de 250 °C e 275 °C, respectivamente. Para essa primeira avaliação, foi injetado 2 µL de uma mistura padrão 1,00 % m/m de todos os voláteis presentes na formulação do produto. Obteve-se com esse teste um resultado positivo, pois se observou a separação total de todos os componentes da mistura, conforme pode ser visualizado na Figura 2.

Figura 2 – Cromatograma gerado pela injeção de um padrão preparado contendo todos os componentes voláteis presentes na formulação da amostra para avaliação da separação cromatográfica.



Na sequência, foram realizados alguns experimentos de caráter exploratório a fim de se identificar quais seriam as melhores condições para o ensaio cromatográfico das amostras de Látex em questão. Para isso, foram utilizadas amostras da resina Látex fortificadas no nível de concentração próximo ao nível alvo de 0,01 % m/m, sendo realizadas injeções com os parâmetros que estão descritos conforme a Tabela 5.

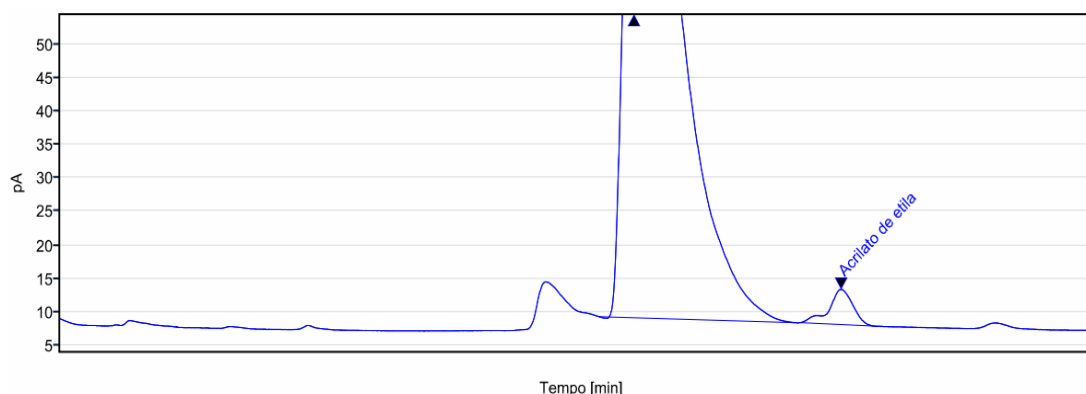
Tabela 5 – Análise exploratória para escolha dos melhores parâmetros de análise para razão do *split*, temperatura do injetor e detector.

Parâmetro	Metodologia Inicial	Análise exploratória 1	Análise exploratória 2
Programação do Forno	40 °C / 4 minutos 4 °C/min até 68 °C 3 °C/min até 220 °C	40 °C / 4 minutos 4 °C/min até 68 °C 3 °C/min até 220 °C	40 °C / 4 minutos 4 °C/min até 68 °C 3 °C/min até 220 °C
Temperatura do Injetor	250 °C	170 °C	170 °C
Razão de <i>Split</i>	1:25	1:25	1:10
Temperatura do Detector	275 °C	220 °C	220 °C

Para isso, conforme já mencionado, foi realizada a fortificação da matriz no nível de concentração próximo ao que será trabalhado e se injetou nas condições estudadas e descritas na Tabela 5. Em ambas as análises exploratórias manteve-se a mesma programação do forno, pois a separação cromatográfica obtida no primeiro teste foi satisfatória, porém foram alterados basicamente três parâmetros de análise: as temperaturas do injetor e do detector na análise exploratória 1 e a razão do *split* na análise exploratória 2.

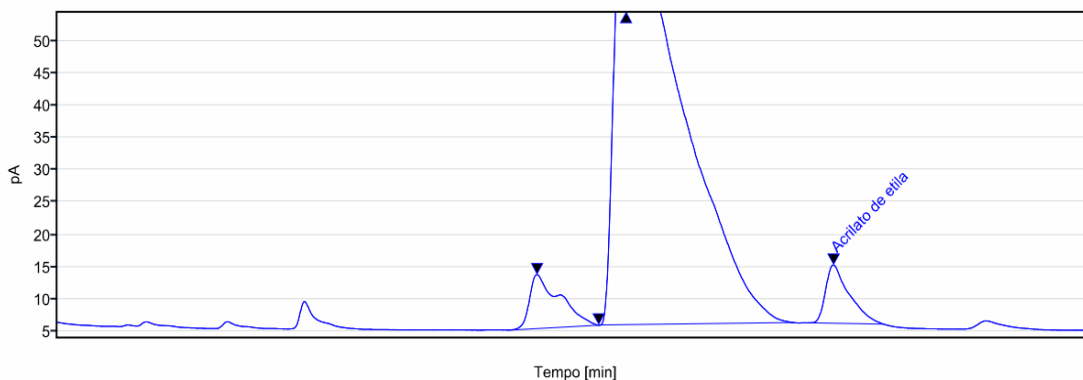
Foram escolhidos esses parâmetros para otimização, pois percebeu-se a presença de um desvio da linha de base perto do pico de interesse na corrida cromatográfica da amostra fortificada utilizando-se o método cromatográfico inicial, conforme pode ser visto na Figura 3. Esse efeito poderia estar relacionado com a alta temperatura do injetor e do detector que foi utilizado inicialmente com a mistura padrão, podendo ser justificada por alguma degradação ou reação do analito com a matriz devido à temperatura mais alta.

Figura 3 – Cromatograma do ensaio da amostra fortificada com metodologia inicial.



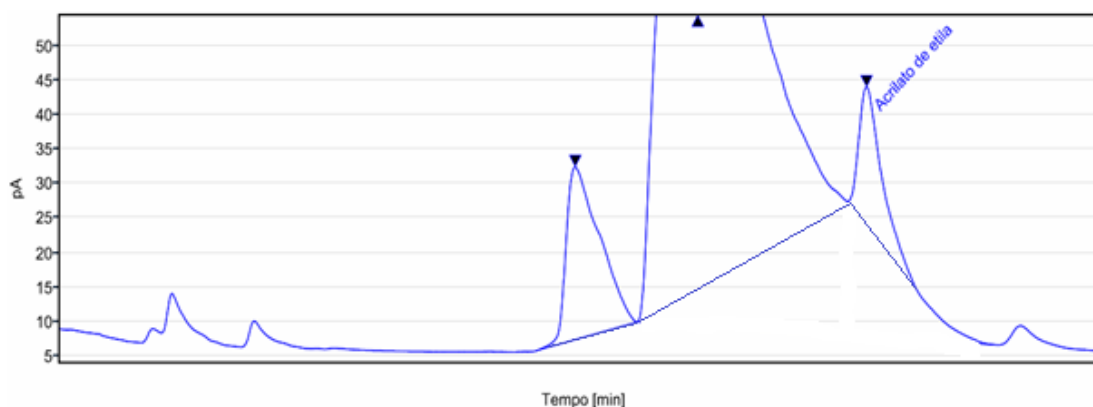
O cromatograma do ensaio para análise exploratória 1 pode ser visualizado na Figura 4, no qual trabalhou-se com uma temperatura de injetor e detector mais baixa e uma razão de *split* semelhante ao utilizado inicialmente.

Figura 4 – Cromatograma do ensaio da amostra fortificada com método da análise exploratória 1.



Além disso, também se escolheu variar a razão do *split*, uma vez que o teor de concentração que se almeja quantificar é baixo para os padrões desse tipo de análise, conforme já mencionado. Assim, escolheu-se uma razão mais baixa em relação ao método inicial com o intuito de se identificar um possível aumento de sinal do analito. O cromatograma para o ensaio da variação da razão do *split* pode ser visualizado na Figura 5.

Figura 5 – Cromatograma do ensaio da amostra fortificada com método da análise exploratória 2.



Como é possível observar pelos cromatogramas nas imagens das Figuras 2 a 5, escolheram-se os parâmetros de análise exploratória 1, mencionados na Tabela 3, em conjunto com a programação do forno, volume de injeção e vazão do gás de arraste utilizados inicialmente para realização dos ensaios subsequentes devido às seguintes observações:

- a) Mantendo-se a programação de temperatura da metodologia inicial, obteve-se a total separação dos componentes voláteis presentes na mistura.

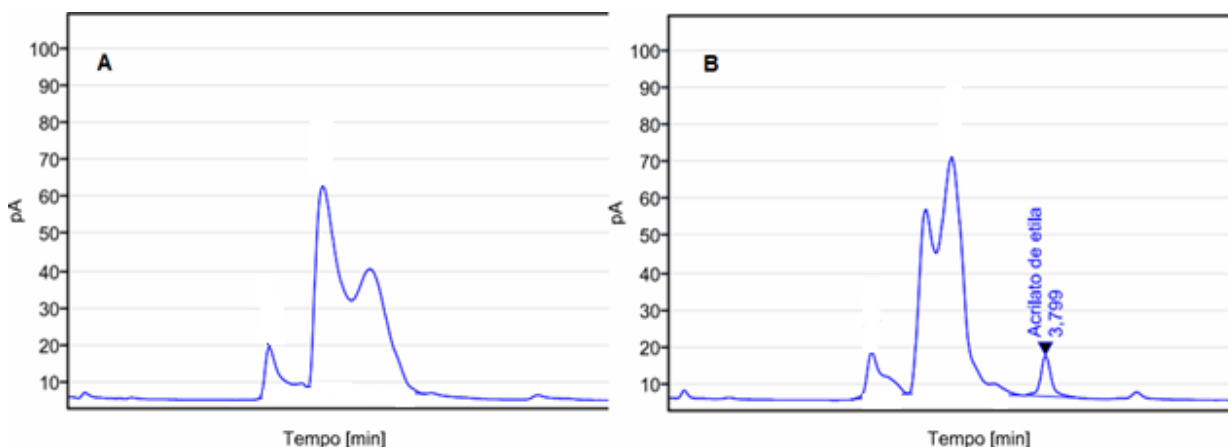
- b) Utilizando-se temperaturas mais baixas no injetor e no detector em relação ao proposto inicialmente, foi possível eliminar o problema de desvio da linha de base perto do pico do analito.
- c) Manteve-se a razão do *split* do método inicial, pois com uma razão de 1:10, notou-se um efeito de coeluição bem acentuado entre o analito de interesse e outro componente presente na matriz.

Salienta-se então que ao se chegar nas melhores condições de análise, foram iniciados os ensaios pertinentes para cada um dos parâmetros de validação: Seletividade/Especificidade; Exatidão e Precisão; Linearidade, LD e LQ e Robustez.

5.2 SELETIVIDADE/ESPECIFICIDADE

A seletividade e a especificidade do método podem ser demonstradas através de um comparativo dos cromatogramas das injeções do Branco, matriz sem a presença do analito, e de uma amostra fortificada no nível do teor alvo, que é de 0,010 % m/m, conforme a Figura 6 A e B.

Figura 6 – (A) Cromatograma do Branco. (B) Cromatograma da amostra fortificada com 0,01 % m/m de AE.



Através de uma análise comparativa entre os cromatogramas do Branco e da amostra fortificada é possível afirmar que não se observou pico cromatográfico característico do analito na amostra em Branco, mas na amostra fortificada é possível identificar o pico do analito de forma separada dos outros voláteis que compõe a matriz, podendo-se afirmar que esse parâmetro ficou dentro do critério de aceitação.

5.3 EXATIDÃO E PRECISÃO

A exatidão foi avaliada através do percentual de recuperação (Rec %) do analito em amostras fortificadas em três níveis de concentração em relação ao teor alvo: 50 %, 100 % e 150 %. Para cada nível de concentração, foram preparadas três amostras fortificadas, sendo realizadas três leituras para cada amostra, o que gerou um total de nove ensaios por nível de concentração. Foram realizados dois dias de ensaio de exatidão, tendo analistas diferentes em cada dia.

A precisão foi avaliada através do coeficiente de variação (CV %) nos níveis de repetibilidade e de precisão intermediária. Para a repetibilidade, foram utilizados os resultados dos dois dias de ensaio de exatidão de forma individual, avaliando-se o CV % das triplicatas realizadas para cada uma das três amostras de cada nível em cada dia, avaliando-se também o CV % obtido em cada nível. Para a precisão intermediária, foram tomados os dois dias de ensaio de exatidão em conjunto, avaliando-se o CV % das recuperações entre os dois dias. Além disso, realizou-se um teste *t-Student* entre as recuperações de cada nível de concentração com confiança de 95 % com o objetivo de verificar se os resultados das recuperações dos dois dias eram iguais a 100 %, estatisticamente. Os resultados de exatidão, repetibilidade e precisão intermediária podem ser visualizados nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 – Resultados de Exatidão e Repetibilidade

Exatidão e Repetibilidade								
Concentração Analito	Dia 1 - Analista 1				Dia 2 - Analista 2			
	Média (%)	CV (%)	Média Nível (%)	CV Nível (%)	Média (%)	CV (%)	Média Nível (%)	CV Nível (%)
Nível 1 (0,005 %)	96,9	0,16			90,3	3,60		
	98,1	1,58	96,1	2,71	97,5	2,59	95,3	4,59
	93,1	4,16			98,2	1,09		
Nível 2 (0,010 %)	93,1	2,79			91,5	6,76		
	92,4	7,07	90,5	4,21	89,3	6,93	92,6	4,28
	86,2	8,98			97,0	1,93		
Nível 3 (0,015 %)	87,8	6,05			97,4	1,20		
	89,1	4,72	89,1	1,46	99,1	0,83	96,5	3,36
	90,4	5,08			92,9	7,67		

Média = Média das recuperações percentuais das triplicatas de cada amostra; CV = Coeficiente de Variação das triplicatas das amostras; CV Nível = Coeficiente de Variação do Nível de concentração.

Tabela 7 – Resultados de Precisão Intermediária

Precisão Intermediária				
Concentração Analito	MRec_{EDs} (%)	DP_{EDs} (%)	CV_{EDs} (%)	Teste t-Student
Nível 1 (0,005 %)	95,7	0,538	0,562	-11,30
Nível 2 (0,010 %)	91,6	1,452	1,586	-8,18
Nível 3 (0,015 %)	92,8	5,181	5,584	-1,96

MRec_{EDs} = Média das recuperações percentuais por nível entre dias; DP_{EDs} = Desvio padrão da recuperação dos níveis entre dias; CV_{EDs} = Coeficiente de Variação entre dias.

Para se realizar a determinação da Rec % e do CV %, foram utilizadas as Equações 1 e 2, já abordadas no referencial teórico. Para o cálculo das médias das recuperações e do teste *t-Student*_(0,05;1), foram adotadas as seguintes relações matemáticas:

$$\text{Média (\%)} = \frac{\text{Rec \% (1)} + \text{Rec \% (2)} + \text{Rec \% (3)}}{n} \quad (\text{Equação 5})$$

$$t = \frac{\text{MRec eds (\%)} - 100 \%}{\text{DPeds} / \sqrt{n}} \quad (\text{Equação 6})$$

Onde:

Rec % (1): Recuperação da via 1

Rec % (2): Recuperação da via 2.

Rec % (3): Recuperação da via 3.

MRec eds (%): Média das recuperações percentuais por nível entre dias.

DPeds: Desvio padrão dos níveis de recuperação entre dias.

n : Número de repetições

Com os resultados de exatidão, repetibilidade e precisão intermediária é possível afirmar que todos esses parâmetros ficaram dentro dos critérios de aceitação

estabelecidos previamente, com Rec % entre 85 e 100 % e CV % menor do que 10 %.

Além disso, cabe mencionar que a média dos resultados de Rec % entre dias de ensaio e para cada nível de concentração de ambos os dias, exceto o nível 3 do dia 1, também ficaram dentro do que é proposto pelo INMETRO² para se avaliar a exatidão através de ensaio de recuperação, que sugere, para a concentração alvo estudada, uma faixa de recuperação entre 90 e 107 %.

Agora, ao avaliar-se resultados de CV %, pode-se dizer que o CV % dos níveis de concentração dos dois dias de ensaio estão dentro do que é proposto pelo INMETRO², o qual sugere um CV % de até 5,3 % para avaliar a repetibilidade nessa faixa de concentração. É válido ainda comentar que apesar do resultado entre dias para concentração 150 % do teor alvo ficar acima de 5,3 %, esse resultado está dentro do critério de aceitação estabelecido para esse trabalho.

Por fim, foi realizado um teste *t-Student* com nível de confiança de 95 %, a fim de verificar a exatidão das medidas da precisão intermediária. Para essa configuração, tem-se um *t* crítico de 12,71, portanto, como pode ser visto nos resultados expostos na Tabela 7, todos os resultados do teste ficaram com valores menores do que o *t* crítico, indicando que os valores das recuperações podem ser considerados 100 %.

5.4 LINEARIDADE E LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

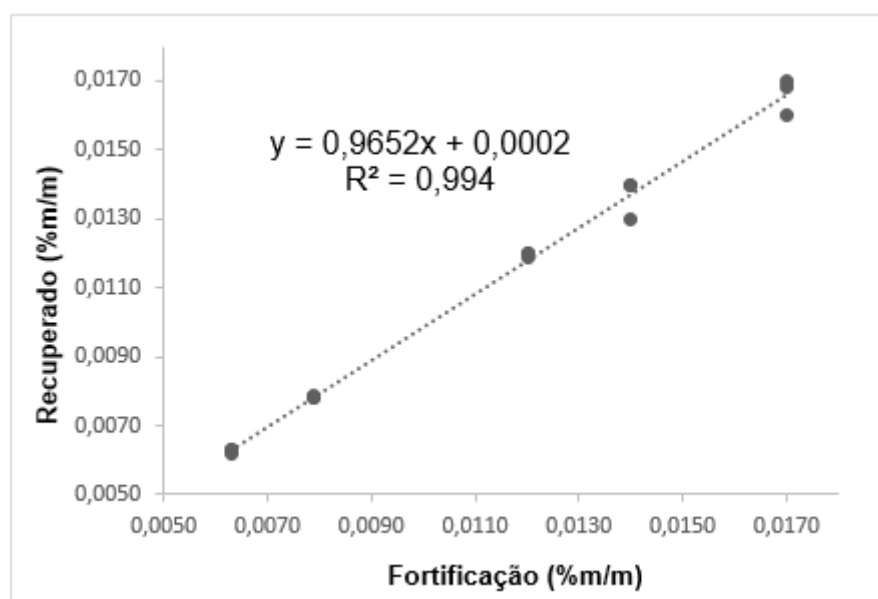
A linearidade foi avaliada a partir de um estudo de recuperações obtidas com amostras fortificadas em cinco níveis de concentração (0,005; 0,0075; 0,010; 0,0125 e 0,015 %), as quais foram todas injetadas em triplicata. Com essa abordagem é possível afirmar, a partir da avaliação do valor do coeficiente de determinação (R^2) de uma regressão linear entre os teores fortificados e recuperados, se o método possui linearidade¹⁶. É válido lembrar que o método quantitativo utilizado nas análises cromatográficas desse trabalho foi o da padronização interna^{9,16}. Os resultados obtidos para linearidade estão dispostos na Tabela 8.

Tabela 8 – Dados e resultados para o estudo de linearidade e LD/LQ

Nível	Fortificação (% m/m)	Recuperação (% m/m)	Área (%)
1 (0,0050 %)	0,0063	0,0063	0,087
	0,0063	0,0063	0,087
	0,0063	0,0062	0,085
2 (0,0075 %)	0,0079	0,0078	0,105
	0,0079	0,0079	0,107
	0,0079	0,0078	0,104
3 (0,010 %)	0,0120	0,0120	0,147
	0,0120	0,0120	0,148
	0,0120	0,0119	0,145
4 (0,0125 %)	0,0140	0,0140	0,174
	0,0140	0,0130	0,168
	0,0140	0,0140	0,173
5 (0,015 %)	0,0170	0,0160	0,200
	0,0170	0,0170	0,221
	0,0170	0,0168	0,211

A linearidade foi avaliada a partir do R^2 da regressão entre o teor fortificado e o recuperado, que pode ser visto na Figura 7.

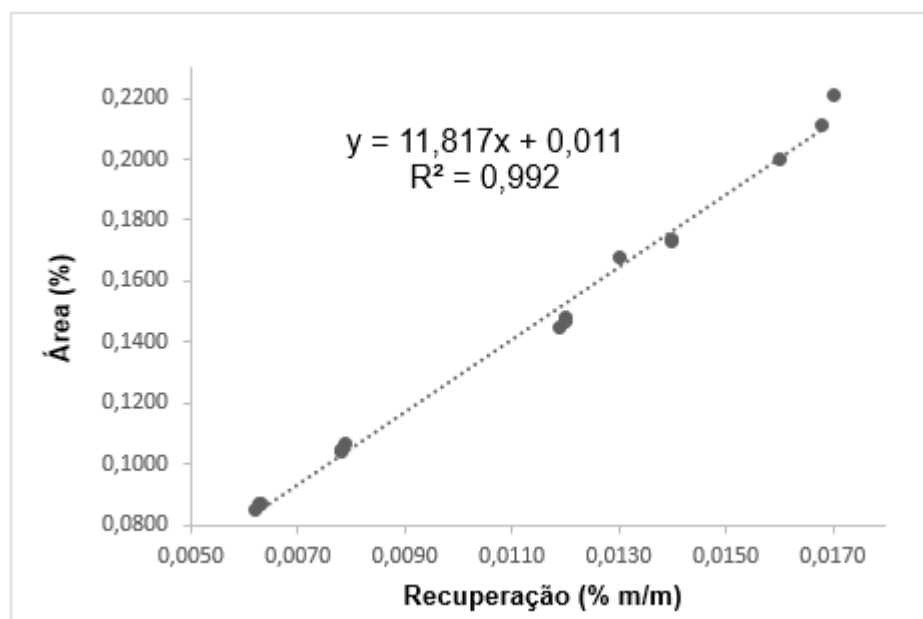
Figura 7 – Regressão Linear realizada entre o teor recuperado (% m/m) versus o teor fortificado (% m/m) para avaliação da linearidade.



O resultado de R^2 obtido na regressão linear foi de 0,994. O valor encontrado para esse termo não ficou de acordo com o mínimo referido para esse tipo de metodologia de análise de linearidade¹⁶, que comenta em um R^2 no mínimo de 0,995. Entretanto, o erro relativo percentual obtido entre esses dois valores foi de apenas 0,1 %, além disso, o valor encontrado para R^2 ficou dentro do critério de aceitação estipulado para esse trabalho, que era de no mínimo 0,99. Obteve-se, portanto, um resultado entre o critério de aceitação e o referido para essa metodologia.

O LD e LQ foram determinados utilizando-se a Equação 7, as quais abordam a média de dez medidas de ruído da linha de base de amostras Branco no tempo de retenção do AE, dispostos na Tabela 9, e o coeficiente angular da regressão linear entre os resultados de área do pico cromatográfico do AE e dos respectivos teores determinados pela padronização interna¹⁶. O gráfico da regressão realizada pode ser visto na Figura 8, tendo como dados de origem os resultados de área % e recuperação da Tabela 8.

Figura 8 – Regressão Linear realizada entre a Área do pico do AE (%) versus o teor recuperado (% m/m) determinado pela normalização interna para avaliação do LD e LQ.



$$LD(LQ) = \frac{k \cdot r}{a} \quad (\text{Equação 7})$$

Onde:

k: é a constante do limite de detecção (k = 3) e quantificação (k =10).

r: é a média de 10 medidas Área % do ruído de injeções do branco.

a: é o coeficiente angular da regressão linear entre Área % x teor recuperado (% m/m).

Tabela 9 – Resultados de área (%) do ruído no tempo de retenção do AE em dez medidas do Branco.

Amostra	Área do ruído (%)
1	0,0019
2	0,0031
3	0,0054
4	0,0016
5	0,0013
6	0,0050
7	0,0019
8	0,0042
9	0,0028
10	0,0027

Os resultados obtidos para LD e LQ foram 0,001 e 0,003 % m/m, respectivamente, além de um R² da regressão pertinente de 0,992. Sendo assim, pode-se dizer que o R² obtido satisfaz o critério de aceitação.

Além disso, é possível afirmar que o LD e LQ obtidos estão abaixo do teor alvo pretendido nesse trabalho (0,010 % m/m), sendo também possível afirmar que teores acima do LD e LQ podem ser detectados e quantificados com exatidão e precisão⁵, fato que corrobora com o que já foi visto com os resultados dos parâmetros de exatidão e precisão, em que se trabalhou com concentrações de 0,005; 0,010 e 0,015 %.

Por fim, pode-se fazer mais uma análise com os resultados do estudo de linearidade, obtendo-se mais uma confirmação sobre a exatidão do método, além de um resultado acerca do efeito da matriz para a determinação do AE, uma vez que todos os ensaios foram feitos com adição do padrão de AE em uma matriz isenta de analito. Para isso, foram avaliados os coeficientes angular e linear da regressão entre o teor recuperado e o fortificado, realizando-se um teste *t-Student* (Equações 8 e 9) em cima desses parâmetros de regressão³.

$$ta = \frac{1-a}{sa} \quad (\text{Equação 8})$$

$$tb = \frac{b}{sb} \quad (\text{Equação 9})$$

Onde:

t_a : é o t calculado para o coeficiente angular.

a : é o coeficiente angular da regressão linear.

S_a : é o desvio padrão estimado do coeficiente angular.

t_b : é o t calculado para o coeficiente linear.

b : é o coeficiente linear da regressão linear.

S_b : é o desvio padrão estimado para o coeficiente linear.

Para se obter os resultados de S_a e S_b , bem como os outros parâmetros da regressão linear, foi realizado um teste de regressão com suplemento de análise de dados do software Microsoft Excel®. Os resultados para S_a e S_b obtidos foram 0,02120 e 0,00026, respectivamente. Por consequência, chegou-se aos valores de 1,64 e 0,87 para t_a e t_b , respectivamente. O t crítico tabelado¹⁶ para esse teste é de 3,01, ou seja, ambos t calculados estão abaixo do crítico, indicando que estatisticamente a é igual um e b é igual a zero. Portanto, duas afirmações podem ser feitas com esses resultados: além de existir concordância entre as recuperações e as fortificações, o efeito de matriz para a determinação desse analito não é significativo.

5.5 ROBUSTEZ

O parâmetro de robustez foi avaliado seguindo a matriz de experimentação de Plackett-Burmann¹³. Para esse teste foram realizados oito experimentos com uma combinação fatorial de 6 fatores em dois níveis, sendo cada experimento realizado em triplicata. A matriz de experimentos e os resultados podem ser vistos nas Tabelas 10 e 11, respectivamente.

Tabela 10 – Matriz de experimentos Placket-Burmann para o ensaio de robustez.

Parâmetros	Experimentos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Temp. Inicial (°C)	45	45	45	45	40	40	40	40
Analista	B	B	A	A	B	B	A	A
Vazão gás de arraste (mL/min)	5,0	4,8	5,0	4,8	5,0	4,8	5,0	4,8
Volume de Injeção (µL)	1	1	2	2	2	2	1	1
Razão do Split	01:10	01:25	01:10	01:25	01:25	01:10	01:25	01:10
Temp. Injetor (°C)	175	170	170	175	175	170	170	175

Tabela 11 – Resultados dos ensaios de robustez

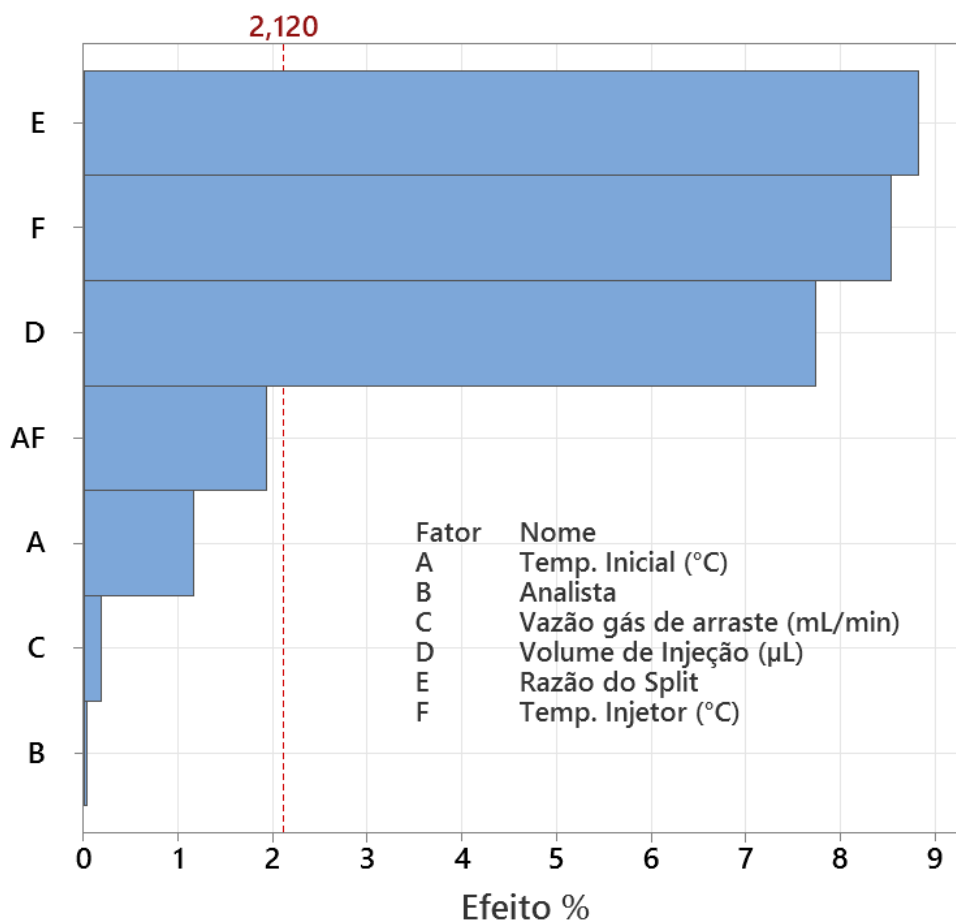
Resultados	Experimentos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Fortificação (% m/m)	0,0103	0,0103	0,0110	0,0110	0,0103	0,0103	0,0110	0,0110
Rec (%) via 1	86,4	94,2	69,1	89,1	98,1	63,1	88,2	96,4
Rec (%) via 2	96,1	99,0	67,3	98,2	100,0	59,2	87,3	90,0
Rec (%) via 3	98,1	99,0	61,8	98,2	93,2	57,3	100,0	97,3
Média Rec (%)	93,5	97,4	66,1	95,2	97,1	59,9	91,8	94,5
Desv pad Rec (%)	6,24	2,80	3,78	5,25	3,50	2,97	7,10	3,96
CV (%)	6,67	2,88	5,73	5,52	3,61	4,95	7,73	4,19

Rec (%) via 1, 2 e 3 = recuperações percentuais dos experimentos. Média Rec (%) = média das triplicatas das recuperações. Desv pad Rec (%) = desvio padrão das triplicatas das recuperações. CV (%) = coeficiente de variação percentual dos experimentos.

O planejamento fatorial pertinente aos ensaios de robustez vistos na Tabela 10 e desenvolvidos na Tabela 11 foram realizados no software de dados Minitab 2019[®],

assim como a análise dos dados com o diagrama de Pareto, o qual foi plotado com os valores dos efeitos pertinentes à variação de cada fator, conforme pode ser visto na Figura 9.

Figura 9 – Diagrama de Pareto: relação entre os parâmetros e os efeitos % das variações de cada parâmetro para a recuperação do analito.



A partir do diagrama de Pareto pode-se afirmar que três parâmetros avaliados no ensaio de robustez resultaram em efeitos percentuais acima do efeito crítico de 2,120 e impactaram no resultado de recuperação do analito, sendo eles, conforme a notação do diagrama: E) Razão do *Split*, F) Temperatura do Injetor e D) Volume de Injeção.

Como visto na análise exploratória, já haviam sido detectados impactos na análise cromatográfica quando os fatores de razão do *split* e temperatura do injetor sofreram variações. Como já discutido, a temperatura do injetor influenciou no formato do pico do analito, concluindo-se que esse parâmetro contribui de forma positiva para a análise quando a temperatura é mais baixa (170 °C). Para o parâmetro da razão do *split*, chegou-se à ideia de que com uma razão mais baixa de 1:10, ocorre o efeito de

coeluição do analito com outro componente, diminuindo a área do pico e, como consequência, o teor recuperado do analito, sendo impactante para o resultado de recuperação, demonstrado pelo seu efeito acima do efeito crítico. Existe ainda o efeito para o parâmetro de volume de injeção, que pode estar ligado com a razão do *split*, pois ao injetar um volume de amostra maior mantendo-se uma razão de *split* baixa, será inserida na coluna cromatográfica uma quantidade maior de amostra, o que pode potencializar o efeito de coeluição que foi visto na análise exploratória, justificando o seu efeito acima do crítico visto no diagrama de Pareto.

Por fim, pode-se afirmar que apenas os resultados dos experimentos três e seis não ficaram dentro do critério de aceitação para a recuperação (entre 85 e 100 %), fato que pode ser justificado com o que foi discutido anteriormente sobre os parâmetros da razão do *split* e do volume de injeção, pois nesses dois experimentos o volume de injeção foi de 2 μ L e a razão do *split* 1:10. Entretanto, quando se avalia o CV %, todos os experimentos ficaram dentro do critério de aceitação (até 10 %), indicando precisão aceitável nos resultados.

6 CÁLCULO DE CUSTOS

Para o cálculo de custos do presente projeto tecnológico foram levadas em consideração todas as quantidades de reagentes e consumíveis de cromatografia a gás utilizados para o desenvolvimento da metodologia analítica. O levantamento dos preços, das quantidades utilizadas e das contribuições individuais e total dos valores envolvidos estão discriminados na Tabela 12.

Tabela 12 – Cálculo dos custos envolvidos com todos os experimentos realizados nesse projeto tecnológico.

Reagente/Consumíveis	Preço pela quantidade vendida	Quantidade utilizada	Custo (R\$)
Metanol PA	23,00 R\$/L	250 mL	5,8
Acrilato de Etila 99,5 %	585 R\$/kg	0,15 g	0,09
Metacrilato de Isobutila 99,5 %	1460 R\$/2,5 kg	0,15 g	0,09
Gás Hidrogênio	34,8 R\$/m ³	0,875 m ³	30,5
Ar Sintético	33,3 R\$/m ³	1,675 m ³	55,8
Nitrogênio	43,2 R\$/m ³	0,825 m ³	35,6
Liner	260 R\$/uni	5 unidades	1300
O-ring	950 R\$/100 uni	5 unidades	47,5
Septo	490 R\$/50 uni	5 unidades	49,0
		Total	1524,3

É válido comentar que para esse esboço de custos não estão sendo considerados o valor dos equipamentos envolvidos e nem os possíveis descontos na aquisição dos materiais, visto que dependendo das quantidades envolvidas, em processos de compra são concedidos pelos fornecedores descontos bem impactantes no preço final do produto.

Além disso, é importante salientar que as quantidades utilizadas dos consumíveis de cromatografia (*Liner*, *O-ring* e *Septo*) estão relacionadas com a manutenção semanal realizada no equipamento. Como manutenção preventiva, o laboratório tem como procedimento a realização da troca desses consumíveis uma vez por semana. Os experimentos para esse projeto foram realizados em cinco dias,

mas realizados um por semana, totalizando 5 semanas de ensaio. Logo, foram levadas em consideração as cinco trocas de consumíveis realizadas nesse período para o levantamento da quantidade consumida desses materiais.

Por fim, seguindo a lógica abordada para as quantidades dos consumíveis de cromatografia, a quantidade de gás utilizada no projeto foi calculada em cima da média de consumo mensal do laboratório com os gases na cromatografia a gás. Por exemplo, como são consumidos mensalmente 3,5 m³ de gás hidrogênio nas análises (1 cilindro de 7 m³ a cada dois meses) e são realizados ensaios de cromatografia a gás 5 dias na semana, foi feita a estimativa do consumo do gás como se todos os ensaios pertinentes ao projeto tecnológico tivessem ocorridos em uma semana.

7 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi desenvolvido um método de análise para a determinação do monômero residual AE em uma resina Látex comercial utilizando-se a técnica de CG-DIC. A motivação para o desenvolvimento realizado foi a necessidade em se ter um controle da quantidade desse analito nesse produto, sendo possível utilizar os resultados da análise cromatográfica, em conjunto com outros testes que fazem parte do escopo de controle de qualidade, para tomar decisões acerca da liberação dos lotes produzidos do produto acabado, se tornando assim um dos parâmetros chave de controle de qualidade.

Dentro do que já foi comentado, pode-se concluir que todos os parâmetros avaliados no processo de validação se enquadraram dentro dos critérios de aceitação pré-estabelecidos.

O método se mostrou seletivo para o AE nessa metodologia, uma vez que foi possível concluir que há separação cromatográfica de forma satisfatória do monômero em relação aos outros componentes orgânicos voláteis presentes na amostra.

A metodologia apresentou linearidade dentro da faixa de trabalho requerida para a determinação e com LD e LQ abaixo dos teores trabalhados nos ensaios de exatidão e precisão, os quais também demonstraram que o método possui exatidão e precisão aceitáveis, pois pode-se concluir através dos resultados de recuperação e variabilidade, que esses parâmetros atingiram e até superaram as expectativas previamente estabelecidas nos critérios de aceitação. Com a metodologia de ensaio utilizada para linearidade, também foi possível ter mais uma confirmação sobre a exatidão da metodologia, a qual deu uma resposta estatisticamente igual entre os teores percentuais recuperados e fortificados, servindo ainda como critério para concluir que a matriz analisada não interferiu na determinação do AE, ou seja, não houve efeito de matriz significativo para a determinação do analito, indicando que os preparos e proporções estipulados entre matriz, padrões de fortificação e solvente de diluição deram respostas positivas.

Além disso, pode-se concluir que o método não é robusto, uma vez que três dos seis parâmetros avaliados no ensaio de robustez resultaram em efeitos acima do efeito crítico, conforme obtido na análise estatística realizada, sendo que dois experimentos resultaram em recuperações aquém do estipulado no critério de aceitação para a recuperação, apesar de ter se mostrado preciso. Entretanto, conclui-

se que como o ensaio de robustez não é um ensaio obrigatório para uma validação analítica, ele não inviabilizou a validação da metodologia proposta nesse trabalho, mas, pelo contrário, com ele foi possível se ter a confirmação de quais parâmetros de análise foram impactantes para o desempenho do método.

Portando, conclui-se que o método proposto para a determinação de AE na resina comercial tipo Látex referida pode ser considerado validado, significando que ele é adequado para a finalidade a qual se propõe. Espera-se que o trabalho desenvolvido possa contribuir para trabalhos futuros dessa natureza, como a aplicabilidade desse método para controle da quantidade do monômero durante o processo de produção da resina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Guia de seleção de Respiradores 3M, 2020. Disponível em: <[http://multimedia.3m.com/mws/media/1829014O/3m-respirator-selection-guide-brazil.pdf?utm_medium=redirect&utm_source=short-url&utm_campaign=.](http://multimedia.3m.com/mws/media/1829014O/3m-respirator-selection-guide-brazil.pdf?utm_medium=redirect&utm_source=short-url&utm_campaign=)> Acesso em: Out. de 2021.
- [2] COMPANHIA, DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. Guia técnico ambiental de tintas e vernizes: série P+ L. **São Paulo: CETESB**, 2008.
- [3] TIGLI, R. S; EVREN, V. Synthesis and characterization of pure poly(acrylate) latexes. **Progress in Organic Coatings** **52** (2005) 144–150. Outubro de 2004.
- [4] PETHA, Narendra H. et al. Determination of residual (free) monomer in water based polymer emulsions by head space gas chromatography mass spectrometry. **Polymer Testing**, v. 63, p. 462-466, 2017.
- [5] LUGLI, M. BECCHI, D. RESTA, L. SAIJA, L. Full-Evaporation Head-Space Gas Chromatographic Technique for the Determination of Residual Monomers and Volatile Organic Compounds in Polymer Dispersions. **International Journal of Polymer Analysis and Characterization**. Outubro, 2010.
- [6] ZHONG, Jin-Feng et al. A full evaporation headspace gas chromatographic method for determination of monomer conversion in cellulose graft poly-methyl methacrylate. **Carbohydrate polymers**, v. 86, n. 1, p. 367-370, 2011.
- [7] MORENO, F. J.; SANZ, M. L. Gas chromatographic analysis of food bioactive oligosaccharides. *In*: SORIA, A. C.; RODRÍGUEZ-SANCHEZ, S.; SANZ, J.; MARTÍNEZ-CASTRO, I. **Food Oligosaccharides: Production, Analysis and Bioactivity**. First Edition. John Wiley & Sons, Ltd. 2014. 20. 370-398.
- [8] ROBINSON, James W.; FRAME, Eileen M. Skelly; FRAME II, George M. **Instrumental Analytical Chemistry: An Introduction**. CRC Press, 2021.

[9] ASTM D 4827-93. **Standard Test Method for Determining the Unreacted Monomer Content of Latexes Using Capillary Column Gas Chromatography.** West Conshohocken, Penn.: ASTM.

[10] ELLISON, S. L. R; BARWICK, V. J; FARRANT, T, J, D. **Practical Statistics for the Analytical Scientist: A Bench Guide. 2 ed.** 2009.

[11] PETROZZI, S. **Practical Instrumental Analysis: Methods, Quality Assurance and Laboratory Management.** 2013.

[12] ALBANO, F. M.; RODRIGUEZ, M. T. R.; **Validação e Garantia da Qualidade de Ensaios Laboratoriais.** 2 ed. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2015.

[13] INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientação sobre validação de métodos analíticos.** 5 ed. INMETRO, 2016.

[14] PEREZ, Mary Ângela Fávaro. Validação de métodos analíticos: Como fazer? Por que ela é importante? **Boletim de tecnologia e desenvolvimento de embalagens,** v. 22, n. 3, p. 1-9, 2010.

[15] BRITO, M. S; AMARANTE JUNIOR, O.S; POLESE, L; RIBERO, L,M. **Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão.** Pesticidas: R. Ecotoxicol. Meio Ambiente, v. 13, p. 129-146, 2003.

[16] DOUŠA, Michal; GIBALA, Petr; PEKÁREK, Tomáš. New approach of validation using internal normalization technique for quantification of related substances in raw material, intermediates and pharmaceutical substances by HPLC. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis,** v. 114, p. 133-138, 2015.

[17] RIBANI, Marcelo et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova,** v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.