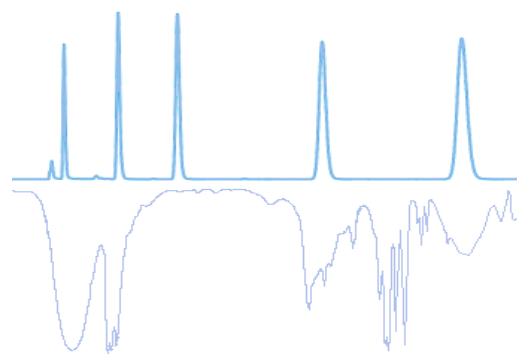


Otimização de Métodos GC-FID & Desenvolvimento de um Método FTIR, Complementar à Análise Sensorial

Rui Miguel Campos de Oliveira Marques
Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências da Universidade do Porto
Mestrado em Química

2018





Otimização de Métodos GC-FID & Desenvolvimento de um Método FTIR, Complementar à Análise Sensorial

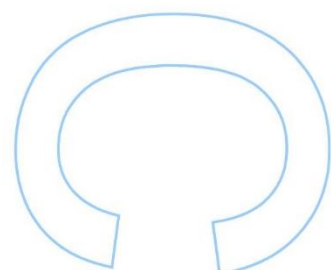
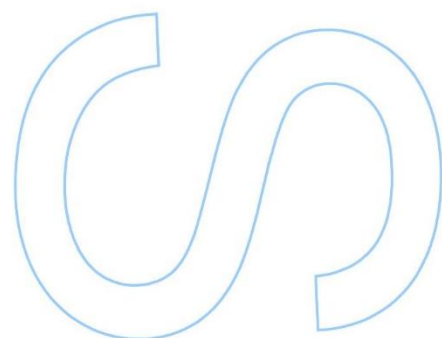
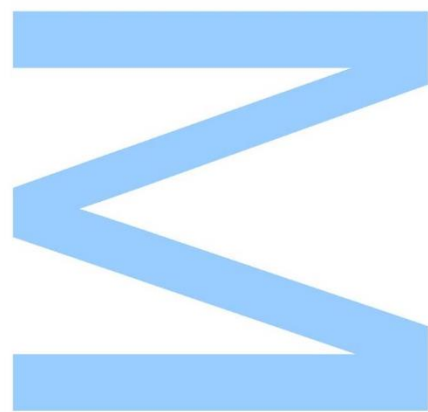
Rui Miguel Campos de Oliveira Marques

Mestrado em Química
Departamento de Química e Bioquímica
2018

Orientadores

Jorge Gonçalves, Professor Auxiliar, Faculdade de Ciências da
Universidade do Porto

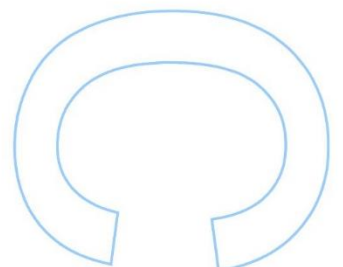
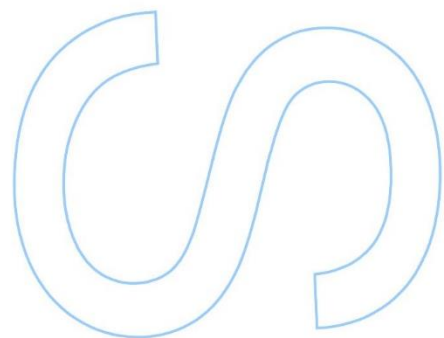
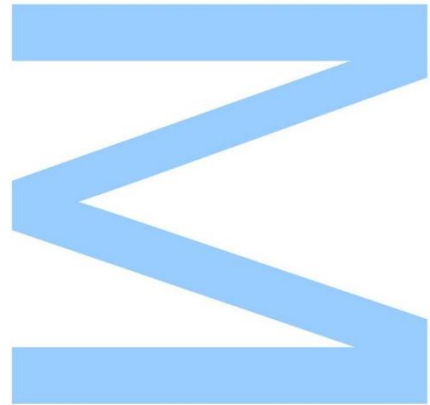
Sofia Jesus, Responsável do Controlo da Qualidade, *Consumer
Products Division*, Colep Portugal, S.A.





Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.
O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Nota Prévia

O presente relatório foi escrito em regime de confidencialidade, pelo que nele não serão mencionados nomes nem formulações de produtos ensaiados, nem qualquer tipo de informação relevante que, de algum modo, possa ser usada para benefício próprio.

Por esta razão, matérias primas e produtos acabados ensaiados ao longo da realização deste trabalho são referidos, neste relatório, de forma codificada.

Agradecimentos

Esta tese de mestrado representa o culminar de cinco anos de aprendizagem. Foram anos marcados por muito esforço e dedicação, mas acima de tudo por um enorme sentimento de evolução a nível profissional, e também pessoal. Nos últimos nove meses, o ambiente académico a que estava habituado mudou drasticamente, tendo-me integrado no meio industrial. Fui extremamente bem recebido, proporcionaram-me um ambiente de trabalho espetacular, e tive sempre todo o apoio de que precisei, e ainda mais algum. Foi uma mudança desafiante que me fez crescer muito, dando-me coisas que apenas a experiência transmite. Agora, no final desta etapa, vejo um desafio concluído, o que me dá um enorme sentimento de satisfação. Porém, não fiz, nem conseguiria fazer, este percurso sozinho. Ainda que sejam apenas umas palavras que não refletem a contribuição dada, quero deixar aqui um agradecimento a todas as pessoas que fizeram parte e que de alguma forma contribuíram para o meu percurso académico, particularmente durante este estágio.

Antes de mais, quero agradecer à Colep Portugal, S.A. pela oportunidade dada de realizar o estágio nas suas instalações.

À Sofia, por me ter escolhido para este projeto, por toda a confiança depositada no meu trabalho, e ainda por me ter dado autonomia e liberdade, acompanhando-me sempre com sugestões e desafios.

Ao professor Jorge, por todo o acompanhamento e apoio que me deu ao longo do estágio, e por todo o interesse que demonstrou pelo meu trabalho, dando sempre sugestões que contribuíram imenso para o sucesso dos projetos.

A todas as pessoas com quem trabalhei, que me proporcionaram um excelente ambiente de trabalho. Mais ainda, às pessoas com quem trabalhei diretamente, que se mostraram disponíveis me ensinar os processos industriais, para aceitar e testar as minhas sugestões, discutir opções, e ainda dar-me ideias e alternativas para os projetos. Foram todos muito importantes na minha aprendizagem. Aqui quero deixar um agradecimento especial a algumas pessoas. À Sandra, que foi quem mais me ajudou nos meus projetos, me deu ideias e me desafiou a fazer sempre o melhor que conseguisse. Ao Bruno, por me ter ensinado muito sobre o funcionamento da empresa e pela disponibilidade e confiança para me deixar fazer os testes necessários para o meu trabalho. À Raquel e à Dr^a Susana, por tudo o que me ensinaram, por toda a confiança depositada no meu trabalho, sugestões e contribuições, e, acima de tudo, boa disposição.

Quero deixar um agradecimento especial às pessoas com quem trabalhei diariamente no laboratório, que me proporcionaram um ótimo ambiente, com muito trabalho, mas sempre com muito boa disposição. A todos estou extremamente grato, mas gostava de deixar mais umas palavras a alguns. À Sara, por ser quem é, por dar alegria ao laboratório e por estar sempre disponível para ajudar. À Ana e ao Urbano, por me “adotarem”, fazerem rir, e por me ensinarem coisas que nunca pensei aprender. Com eles aprendi muito, sobre tudo, e fizeram-me evoluir imenso a nível pessoal e profissional.

Porque para o trabalho correr bem é necessário descontrair, deixo aqui um agradecimento a quem me acompanhou nas pausas. Ao Marco, à Beatriz, à Alexandra, ao Miguel, à Luciana e à Patrícia o meu muito obrigado por me ajudarem a relaxar e desviar o pensamento do trabalho.

À Francisca, por ter estado presente em tudo. Ajudou-me com tudo o que precisei, confiou nas minhas ideias quando mas pediu, desafiou-me a fazer sempre o meu melhor, acompanhou-me nas pausas e nas viagens, e, o mais importante, alinhou nas brincadeiras e parvoíces, dando origem a muitos risos e boa disposição. Sem ela estes nove meses não teriam sido iguais.

A todos os meus amigos da faculdade que me acompanharam ao longo do meu percurso académico e sempre me motivaram a fazer o meu melhor. Quero deixar um obrigado especial ao Lucas e à Cristina que estiveram sempre presentes para me ouvir e ajudar no que fosse preciso.

Ao Jorge, por estar sempre disponível para me acompanhar nas idas ao Porto, conversar e motivar.

Ao meu grupo de amigos, Vasco, Luís, Chico, João, Sofia, Ana, Jó, Lili, Bruna e Soraia, por serem os mais avariados. Por tolerarem algumas ausências, por me ajudarem a descontrair e por me apoiarem.

Aos meus avós, por, no seu silêncio, sempre me apoiarem e me terem dado muito conforto. Por serem um exemplo. A eles devo muito do que sou.

Aos meus pais, por me darem todas as oportunidades que deram, por me apoiarem incondicionalmente, por me motivarem e acreditarem em mim. Pela educação e valores que me transmitiram. Espero que vos tenha deixado orgulhosos.

A todos, sei que palavras não são suficientes, mas fica um enorme obrigado do fundo do coração!

Resumo

Na indústria, devido à enorme diversidade de produtos, é difícil dedicar um tanque de formulação ou uma linha de produção a apenas um. Assim, a limpeza de tanques e linhas é essencial para que os produtos finais não sofram contaminação cruzada. A par da limpeza, a análise dos produtos é também necessária, de forma a cumprir a política de qualidade da empresa e requisitos legais e de cliente. O objetivo deste estágio foi a otimização de métodos de quantificação de princípios ativos em inseticidas por cromatografia gasosa (GC) e a implementação de um método de espectroscopia de infravermelho (FTIR), complementar à análise sensorial, para verificação de limpezas. Relativamente à primeira parte do trabalho, os métodos de quantificação de inseticidas já existentes encontravam-se ajustados para uma outra coluna, pelo que a sua adaptação foi necessária. Aquando desta adaptação, 6 métodos foram otimizados ao nível de tempo de análise, e/ou ao nível de qualidade dos resultados. Foram obtidas melhorias entre 55% e 62% no tempo de análise em 5 dos métodos, e uma melhoria na resolução, quando possível. Todos os métodos foram testados com amostras reais, tendo sido obtidos resultados sempre coerentes com o valor esperado, e com baixos coeficientes de variação. Quanto ao método FTIR, este foi desenvolvido para solventes de limpeza dos tanques de formulação e linhas de enchimento. Este método consiste na identificação de picos característicos dos produtos contaminantes no solvente de limpeza (álcool isopropílico, IPA), diminuindo a possível subjetividade da interpretação do utilizador. O limite de deteção do método é 1,5%, e os mesmos limites são aplicáveis à análise de odor. Os limites definidos estão de acordo com as especificações internas, pois uma contaminação $\leq 1\%$ é aceite, visto que posteriormente ainda existe a fase de enxaguamento do solvente de limpeza (remoção do solvente) ou purgas de produto. O método foi validado ainda para a robustez, especificidade e repetibilidade. Para complementar a validação foi efetuada a comparação de resultados entre o FTIR e a análise sensorial, feita com um painel de cinco analistas de odor previamente treinados e qualificados para este propósito. A comparação de amostras apresenta uma concordância total entre os dois métodos, o que comprova a eficácia de ambos a detetar contaminações. Desta forma, ambos se complementam, dando uma maior segurança na tomada de decisões, evitando contaminações entre produtos e consequentes custos para a empresa.

Palavras chave: cromatografia gasosa, GC, inseticidas, espectroscopia de infravermelho, FTIR, limpezas, contaminações, validação, análise sensorial, odor.

Abstract

In industry, due to the huge variety of products, it is difficult to dedicate a formulation vessel or a filling line to just one. So, the cleaning of vessels and lines is essential so that the final products do not suffer cross contamination. Beside the cleaning, the product's analysis is also necessary in order to assure the company's quality policies, as well as legal requirements or from the customer. The aim of this internship was the optimization of gas chromatography (GC) methods to quantify active ingredients in insecticides, and also the development of an infrared spectroscopy (FTIR) method, complementary to sensory analysis, to verify the cleaning procedures. As for the first part of the project, the already existing quantification methods for insecticides were adapted to an old chromatographic column, so their revision was necessary. When revising them, 6 methods were optimized on their analysis time and/or the quality of the results. There were obtained improvements of 55% to 62% in analysis time on 5 of the methods, and an improved resolution when possible for all of them. All the methods were tested using real samples and the obtained results were always coherent with the expected value, and with a low coefficient of variation. As for the FTIR method, it was developed for analyzing cleaning solvents from formulation vessels and filling lines. This method identifies characteristic peaks from the contaminant products in the cleaning solvent (isopropyl alcohol, IPA), reducing the possible subjective interpretation of the analyst. The detection limit of the method is 1.5%, and the same values apply to the odor analysis. These limits are defined according to internal specifications, because a contamination $\leq 1\%$ is accepted, since after the cleaning it still exists the rinsing of the cleaning solvent (removal of the solvent) phase or product purges. The method was also validated for its robustness, specificity and repeatability. To complement the validation, the results from the FTIR method were compared with the ones from odor analysis performed by a panel of five analysts previously trained and qualified for this purpose. The comparison shows total agreement of the two methods, which proves the efficiency of both at detecting contaminations. Therefore, the methods complement each other, providing more security on decision making, avoiding contaminations between products and the consequent costs for the company.

Keywords: gas chromatography, GC, insecticides, infrared spectroscopy, FTIR, cleaning, contaminations, validation, sensory analysis, odor.

Índice Geral

Índice de Tabelas	xiii
Índice de Figuras	xiv
Lista de Abreviaturas	xvi
Organização do relatório de estágio.....	xvii
Introdução.....	1
1. Objetivos do trabalho	3
2. A empresa: Colep Portugal, S.A.	3
Parte I.....	7
1. Cromatografia	9
1.1. Cromatografia Gasosa.....	10
1.1.1. Separação.....	14
1.1.2. Equipamento	14
1.2.3. Amostras a analisar.....	20
2. Métodos de calibração.....	20
3. Pesticidas.....	22
3.1. Inseticidas.....	22
3.1.1. Piretróides.....	22
3.2. Aplicação de GC a Inseticidas.....	24
4. Parte Experimental.....	25
4.1. Reagentes e Material	25
4.2. Equipamentos	26
4.3. Procedimento experimental	26
4.4. Cálculos	29
5. Resultados e Discussão	30
5.1. Método de Limpeza da Coluna	31
5.2. Otimização do Método Insetic 1	32
5.3. Otimização dos restantes métodos	37
5.4. Teste dos métodos otimizados.....	38
5.5. Procedimento de manutenção de equipamentos GC.....	40
6. Conclusões e Propostas de Melhoria.....	41
Parte II.....	43
1. Análise Sensorial	45
1.1. Odor	46
1.2. Condições de análise.....	47

1.3. Treino Sensorial.....	47
2. Espectroscopia de Infravermelho	49
2.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	50
2.2. Equipamento	55
3. Limpezas.....	57
4. Parte Experimental.....	59
4.1. Reagentes e Material.....	59
4.2. Equipamentos	59
4.3. Procedimento Experimental.....	60
5. Resultados e Discussão.....	60
5.1. Especificidade	63
5.2. Limite de Detecção.....	65
5.3. Robustez.....	68
5.4. Repetibilidade.....	69
5.5. Análise Sensorial.....	71
5.5.1. Método de Análise de Odor	71
5.5.2. Limite de Detecção.....	73
5.5.3. Qualificação.....	74
5.6. Comparação de Resultados	76
6. Conclusões e Melhorias Futuras.....	80
Parte III.....	83
1. Outros Projetos	85
Referências	87

Índice de Tabelas

Tabela 1. Reagentes utilizados na preparação de soluções a analisar.	25
Tabela 2. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 1.	27
Tabela 3. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 2.	27
Tabela 4. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 3.	27
Tabela 5. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 4.	28
Tabela 6. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 5.	28
Tabela 7. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 6.	28
Tabela 8. Condições cromatográficas do programa de limpeza.	31
Tabela 9. Condições cromatográficas iniciais do método Insetic 1, para uma análise com 33,33 min.	32
Tabela 10. Condições cromatográficas finais do método Insetic 1, para uma análise com 13 min.	36
Tabela 11. Resumo das alterações feitas aos restantes métodos.	38
Tabela 12. Melhorias verificadas nos restantes métodos.	38
Tabela 13. Resultados obtidos na análise de produtos com os métodos otimizados. .	39
Tabela 14. Cálculos de parâmetros estatísticos para os resultados da Tabela 13.	40
Tabela 15. Reagentes utilizados na preparação de soluções.	59
Tabela 16. Resumo das massas medidas para a preparação de soluções de IPA contaminado.	60
Tabela 17. Resultados obtidos no teste de robustez com cinco analistas diferentes. .	69
Tabela 18. Resultados obtidos no teste de repetibilidade com 10 repetições.	71
Tabela 19. Escala e descrição para avaliação de amostras de IPA de limpeza.	72
Tabela 20. Associação de notas de avaliação de odor a concentrações de contaminações de IPA.	73
Tabela 21. Resultados obtidos no teste de limite de deteção do odor de amostras de IPA contaminado.	74
Tabela 22. Resultados obtidos no treino sensorial.	75
Tabela 23. Resultados obtidos para as amostras reais de IPA de limpeza, pelo método FTIR.	77
Tabela 24. Resultados obtidos para as amostras reais de IPA de limpeza, por análise sensorial.	78
Tabela 25. Comparação de resultados do FTIR e da análise de odor, com a respetiva decisão sobre a amostra.	80

Índice de Figuras

Fig. 1. Evolução cronológica da Colep de 1965 a 2016. ^[1]	5
Fig. 2. Presença da Colep a nível global. ^[2]	6
Fig. 3. Exemplo de um cromatograma (resposta do detetor em função do tempo de retenção). ^[14]	11
Fig. 4. Gráfico da curva de Van Deemter com H em função de \bar{u}	13
Fig. 5. Esquema de um cromatógrafo gasoso. ^[14]	15
Fig. 6. Esquema de um injetor split/splitless. ^[20]	16
Fig. 7. Exemplo de um forno de um GC, com uma coluna instalada. ^[22]	17
Fig. 8. Esquema de um detetor FID. ^[14]	19
Fig. 9. Exemplo de uma reta de calibração com a resposta do detetor em função da concentração do analito. ^[27]	21
Fig. 10. Estrutura base de uma piretrina.	23
Fig. 11. Exemplos de moléculas de piretróides usadas como inseticidas.....	24
Fig. 12. Cromatógrafo gasoso Agilent 6890 plus.....	26
Fig. 13. Parte da folha Excel desenvolvida para o cálculo da percentagem de 2 ingredientes ativos em inseticidas.....	30
Fig. 14. Cromatograma obtido após a primeira injeção de solução amostra com o método Insetic 1.	32
Fig. 15. Cromatograma ajustado para a solução amostra com o método Insetic 1.	33
Fig. 16. Cromatograma para a solução amostra com o método Insetic 1 após alteração da temperatura inicial para 180 °C e rampa de 5 °C/min até 265 °C.	34
Fig. 17. Cromatograma para a solução amostra com o método Insetic 1 após alteração da temperatura inicial para 220 °C e rampa de 4 °C/min até 265 °C.	34
Fig. 18. Cromatograma para a solução amostra com o método Insetic 1 após alteração da temperatura inicial para 200 °C e rampa de 5 °C/min até 265 °C e rampa de pressão: 100,7 kPa durante 4 min, aumentando a 70 kPa/min até 150 kPa, que são mantidos durante 2 min, até diminuir a 100 kPa/min para 80 kPa.	35
Fig. 19. Cromatograma para a solução amostra com o método Insetic 1 após alteração da temperatura inicial para 200 °C e rampa de 5 °C/min até 265 °C, com pressão constante de 74,6 kPa.	36
Fig. 20. Esquema resumo do processo de otimização do método Insetic 1.	37
Fig. 21. Representação de uma mucosa nasal. ^[47]	46
Fig. 22. Espectro eletromagnético da radiação. ^[62]	51
Fig. 23. Exemplos de vibrações moleculares. ^[63]	51
Fig. 24. Exemplo de uma tabela de correlação para FTIR. ^[66]	53

Fig. 25. Exemplo de um interferograma. ^[67]	53
Fig. 26. Exemplo de um espectro FTIR de CHCl_3 . ^[63]	54
Fig. 27. Esquema de um equipamento FTIR com o interferómetro de Michelson. ^[68] ...	55
Fig. 28. Esquema de uma lâmpada de Nernst. ^[69]	55
Fig. 29. Esquema do interferómetro de Michelson. ^[70]	56
Fig. 30. Exemplo de um detetor DTGS para FTIR na região “mid-IR”. ^[72]	57
Fig. 31. Fórmula de estrutura do álcool isopropílico (IPA).	58
Fig. 32. Espectrómetro de Infravermelho Nicolet Avatar 360 FT-IR.	59
Fig. 33. Espectro de infravermelho do IPA não contaminado.	61
Fig. 34. Sobreposição dos espectros de IPA não contaminado e de IPA contaminado com APD a 10%.	62
Fig. 35. Sobreposição dos espectros de IPA não contaminado e de IPA contaminado com Deo a 10%.	63
Fig. 36. Espectros FTIR das duas contaminações com APDs.	64
Fig. 37. Espectros FTIR das duas contaminações com Deos.	64
Fig. 38. Sobreposição dos espectros FTIR de IPA contaminado com APD, em concentrações de 10% a 0,1%.	65
Fig. 39. Sobreposição dos espectros FTIR de IPA contaminado com Deo, em concentrações de 10% a 0,1%.	65
Fig. 40. Espectros FTIR na função “Find Peaks” de uma contaminação de IPA com APD, a 1,5% e 1%.	67
Fig. 41. Espectros FTIR na função “Find Peaks” de uma contaminação de IPA com Deo, a 1,5% e 1%.	68
Fig. 42. Sobreposição dos espectros FTIR das dez repetições para a contaminação de IPA com APD a 5%.	70
Fig. 43. Sobreposição dos espectros FTIR das dez repetições para a contaminação de IPA com Deo a 5%.	70
Fig. 44. Perfil do painel, comparando a resposta média dos analistas com a média global, por amostra.	79

Lista de Abreviaturas

CPD – *Consumer Products Division*

ACOA – *The Alliance of Colep & One Asia*

GC – *Gas Chromatography* (Cromatografia Gasosa)

FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier)

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

WCOT – *Wall Coated Open Tubular Column* (Coluna Capilar com Parede Recoberta)

SCOT – *Supported Coated Open Tubular Column* (Coluna Capilar com Suporte Recoberto)

PLOT – *Porous Layer Open Tubular Column* (Coluna Capilar com Camada Porosa)

NPD – *Nitrogen Phosphorus Detector* (Detetor de Azoto e Fósforo)

FID – *Flame Ionization Detector* (Detetor de Ionização de Chama)

ECD – *Electron Capture Detector* (Detetor de Captura Eletrónica)

TCD – *Thermal Conductivity Detector* (Detetor de Condutividade Térmica)

MSD – *Mass Selective Detector* (Detetor Seletivo de Massa)

MS – *Mass Spectrometry* (Espectroscopia de Massa)

DDT – Diclorodifeniltricloroetano

IPA – *Isopropyl alcohol* (Álcool isopropílico ou propan-2-ol)

NIR – *Near-infrared spectroscopy* (Espectroscopia de infravermelho próximo)

IR – *Infrared* (Infravermelho)

SIT – *Smell Identification Test* (Teste de Identificação de Cheiros)

OCIT – *Odor Component Identification Test* (Teste de Identificação de Componentes de Odores)

ATR – *Attenuated Total Reflectance* (Reflexão Total Atenuada)

PET – Polietileno Tereftalato

DTGS – *Deuterated triglycine sulfate detector* (detetor de sulfato de triglicina deuterada)

MCT – *Mercury cadmium telluride* (detetor de telureto de mercúrio e cádmio)

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry* (União Internacional de Química Pura e Aplicada)

ISO – *International Standards Organization* (Organização Internacional de Padrões)

ASTM – *American Society for Testing and Materials* (Sociedade Americana para Testes e Materiais)

Organização do relatório de estágio

O presente relatório inicia-se com uma introdução sobre a Colep Portugal, S.A., empresa de acolhimento onde foi realizado o estágio. Este relatório encontra-se depois dividido em três grandes partes:

- Parte I: Trabalho com Cromatografia Gasosa (GC);
- Parte II: Trabalho de Análise Sensorial e Espectroscopia de Infravermelho (FTIR);
- Parte III: Outros projetos desenvolvidos.

Na parte I é descrito o trabalho de adaptação e melhoramento dos métodos, já existentes, de quantificação de princípios ativos em inseticidas. Esta secção é iniciada com um enquadramento teórico sobre cromatografia gasosa e ainda sobre os mais comuns princípios ativos presentes em inseticidas. São ainda mencionados os materiais e equipamentos. De seguida são apresentados e discutidos os resultados de cada método trabalhado. Com os resultados são depois apresentadas as conclusões e oportunidades de melhoria. Este tópico é finalizado com a apresentação de um plano de manutenção autónoma desenvolvido para o equipamento GC.

Na parte II é relatado o trabalho desenvolvido em Análise Sensorial e ainda com Espectroscopia de Infravermelho (FTIR), com dois objetivos diferentes:

- Treino sensorial à equipa do Controlo da Qualidade, para análise de solventes finais de limpeza de linhas e tanques de produção;
- Desenvolvimento de um método FTIR, e respetiva implementação, com vista à criação de um método complementar à análise sensorial, para verificação de limpezas.

Esta secção do relatório é iniciada com um enquadramento teórico sobre análise sensorial, nomeadamente o odor, e ainda sobre espectroscopia de infravermelho (FTIR). É ainda abordada a importância da limpeza das linhas de enchimento e tanques de formulação para evitar contaminações cruzadas de produtos. São também mencionados os materiais e equipamentos. De seguida são apresentados os planos de treino e métodos desenvolvidos, bem como os seus resultados, sendo estes últimos discutidos. Com isto são depois apresentadas as conclusões e oportunidades de melhoria.

Na parte III são mencionados outros projetos que foram desenvolvidos ao longo do estágio, como qualificação de equipamentos, doseamento de anticorrosivos, elaboração de procedimentos, entre outros.

Introdução

Empresa e Objetivos

1. Objetivos do trabalho

O trabalho no qual se baseia este relatório foi desenvolvido no âmbito do estágio curricular do Mestrado em Química da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. O estágio foi realizado na fábrica de enchimento (*Consumer Products Division*) da Colep Portugal, S.A., em Vale de Cambra.

A parte I deste trabalho teve dois objetivos, sendo o primeiro adaptar e melhorar os métodos de quantificação de princípios ativos em inseticidas, por cromatografia gasosa, a uma nova coluna cromatográfica. Este trabalho visava colocar novamente os métodos em funcionamento e melhorar a eficácia do processo, quer a nível de separação e resolução de picos, quer a nível de tempo de análise. O segundo foi elaborar um plano de manutenção autónoma do equipamento, nomeadamente em relação à mudança de componentes essenciais de desgaste e à limpeza de injetor, coluna e detetor.

A parte II deste trabalho teve como objetivos dar treino sensorial aos analistas de odor qualificados, para detetar contaminações nos produtos de limpeza de linhas e tanques de formulação e desenvolver um método de análise FTIR, complementar à análise sensorial, para verificação de limpezas, garantindo a limpeza eficaz de tanques de formulação e linhas de enchimento.

A parte III deste estágio teve como objetivo a integração no ambiente industrial e dar ferramentas de gestão e conhecimento global dos processos, nomeadamente no processo de gestão de métodos/procedimentos e equipamentos. Nesta parte os principais projetos foram fazer a qualificação de equipamentos, ajudar no melhoramento de um sistema de doseamento de anticorrosivos, elaborar procedimentos de manutenção e de libertação de produto acabado, entre outros.

2. A empresa: Colep Portugal, S.A.

Em 1965 o Eng. Ilídio Costa Leite Pinho fundou a Colep (nome originado pelas iniciais dos seus apelidos), em Vale de Cambra, Portugal. Esta começou como uma oficina de pequenas dimensões, apenas com máquinas em segunda e terceira mãos, que se dedicava ao fabrico de embalagens metálicas para bolachas. Dez anos depois a Colep expande o seu negócio ao enchimento de aerossóis com recurso a contratos com outras empresas (*contract manufacturing*). A partir de 1989, a Colep expandiu-se através da aquisição de várias fábricas em países como Inglaterra, Alemanha e Espanha. Em 2000/2001, a Colep foi adquirida na totalidade pelo grupo RAR, dando

seguimento ao seu crescimento. Uma fábrica de enchimento de aerossóis foi construída na Polónia em 2002, contribuindo para a expansão da empresa. Em 2004 o grupo CCL juntou-se à Colep, formando-se a ColepCCL. Esta junção continuou com o desenvolvimento do grupo, tendo lançado um centro de inovação em 2006 e iniciado a produção de latas em 2008 na Polónia, entre outros. Em 2010 a ColepCCL entrou no mercado brasileiro, com fábricas de enchimento de aerossóis e líquidos. Já em 2011 o nome da empresa voltou a Colep. Em 2013 a empresa iniciou a sua atividade no México com a abertura de uma fábrica de enchimento, e no Médio Oriente com um contrato com a *Scitra*. Ainda em 2013 iniciou-se a aliança com a *One Asia*, tendo sido registada em 2014 como ACOA (*The Alliance of Colep & One Asia*). Dando continuidade à expansão, em 2015, foram adquiridas na totalidade as três fábricas no Brasil. Nesse mesmo ano, a Colep celebrou o seu 50º aniversário. Já em 2016 foi construída uma fábrica de enchimento de líquidos na Polónia. Esta evolução cronológica encontra-se representada na Fig. 1.^[1]

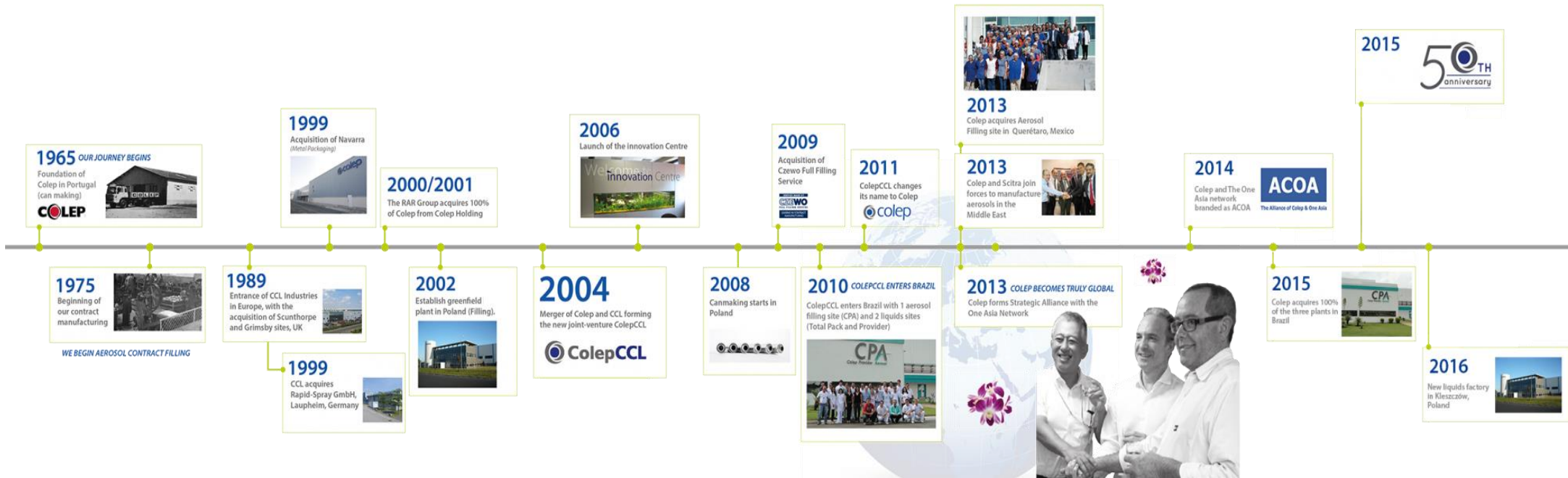


Fig. 1. Evolução cronológica da Colep de 1965 a 2016.^[1]

Após mais de 50 anos de experiência, a Colep é hoje considerada líder global na produção de embalagens e manufatura por contrato de bens de consumo. Os seus produtos são essencialmente de higiene pessoal e do lar, sendo as suas áreas de atividade a produção de embalagens metálicas e plásticas, e ainda o enchimento de aerossóis e líquidos. Atualmente possui 11 fábricas por todo o mundo, e ainda outras 7 provenientes da aliança ACOA (Fig. 2), empregando milhares de pessoas.^[2] Em 2016, o seu volume de negócios foi de 464,5 milhões de euros.^[3] Apesar da dimensão da empresa, esta não possui marca própria, continuando apenas a trabalhar por contrato com clientes.

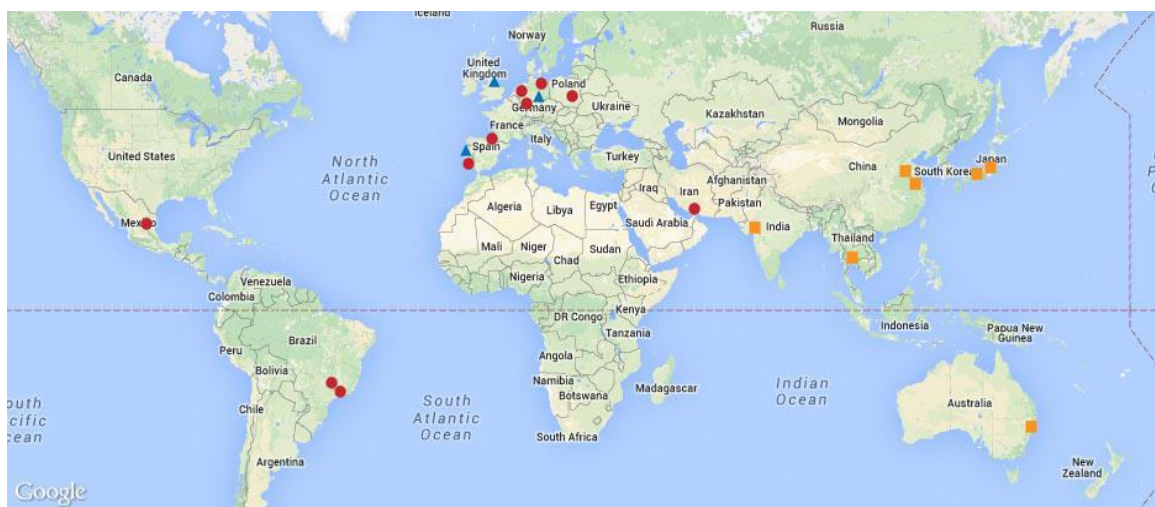


Fig. 2. Presença da Colep a nível global.^[2]

Parte I

Otimização de Métodos de Análise de Inseticidas por GC-FID

1. Cromatografia

De forma a garantir que internamente todos os parâmetros de especificação definidos pelo cliente são cumpridos, é necessário proceder à análise dos produtos intermédios e finais. São então realizadas diversas análises ao produto para verificar se este atinge das expectativas do cliente, garantindo a sua qualidade, e dando também um bom estatuto à empresa que o produz.

Um dos parâmetros essenciais é a verificação de quantidade de princípios ativos presentes num produto, sendo necessária a sua quantificação antes do processo de enchimento. Uma das técnicas utilizadas pela Colep para a quantificação de princípios ativos nos seus produtos é a cromatografia gasosa.

A cromatografia é uma técnica de separação de componentes de uma mistura. A mistura a separar é dissolvida num líquido ou gás e denomina-se fase móvel, que é depois levada ao longo de uma estrutura com outro material, a fase estacionária. A separação é conseguida devido às diferentes velocidades com que os vários constituintes da mistura se movem no meio. A separação baseia-se nas diferenças entre coeficientes de partição, que resultam numa maior ou menor retenção na fase estacionária.

A cromatografia, apesar de ser uma técnica de separação, é muito usada com fins quantitativos.

A origem da primeira técnica cromatográfica é discutível, podendo ter sido inventada em 1900 por M. S. Tswett^[4], um botânico russo, durante os seus estudos sobre a clorofila (pigmentos fotossintéticos presentes nas plantas^[5]). Foi o primeiro a usar o termo “cromatografia” em 1906.^[6] Uma outra possível origem remonta a 1897, por D. T. Day, aquando da sua investigação sobre os métodos como o petróleo natural era formado e transformado. Contudo, a origem da técnica é atribuída a Tswett pela maior parte da comunidade científica.^[4]

Um dos marcos mais importantes na evolução da cromatografia foi a transição do método de camadas, usado por Tswett apenas com o objetivo de separar componentes, para o método da curva de eluição. Este último, juntamente com o desenvolvimento de detetores, permitiu tornar a cromatografia num método analítico fiável para a obtenção de resultados qualitativos e quantitativos.^[7] Foi com o trabalho de A. J. P. Martin e R. L. M. Synge sobre cromatografia de partição, condecorado com um prémio Nobel, que surgiu a cromatografia como hoje a conhecemos.^[8] Esta técnica consistiu numa cromatografia líquido-líquido, na qual um líquido se encontrava em

estado estacionário, e o outro se movia pelo tubo. A separação dava-se de acordo com um coeficiente de partição entre os dois líquidos.^[9,10] Este trabalho facilitou, mais tarde, o aparecimento da cromatografia gasosa (GC), e da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).^[11] Em 1952, Martin e James criaram a hoje conhecida cromatografia gasosa no seu trabalho de separação de ácidos gordos por cromatografia de partição. Este trabalho viu-se rapidamente reconhecido pela indústria petroquímica, o que potenciou o seu desenvolvimento.^[12]

Hoje em dia a cromatografia não tem grandes desenvolvimentos no que toca a diferentes técnicas, sendo dada importância à contínua otimização dos métodos e equipamentos já existentes, o que contribui para um alargamento das aplicações e melhoria da eficácia do processo.^[13]

1.1. Cromatografia Gasosa

Na atualidade, a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência são as duas principais técnicas cromatográficas utilizadas. A HPLC usa uma fase móvel líquida para transportar componentes, enquanto a GC utiliza uma fase móvel gasosa. Ambas utilizam uma fase estacionária sólida, numa coluna cromatográfica, sendo que a GC pode também utilizar uma coluna oca, cuja fase estacionária é um líquido polimérico. As colunas de GC são geralmente de diâmetro interno inferior e mais longas que as colunas de HPLC. A cromatografia gasosa é uma técnica sofisticada, capaz de separar misturas complexas de analitos voláteis.^[14]

A cromatografia gasosa pode ser de dois tipos: gás-líquido ou gás-sólido, sendo que a separação se baseia nos mesmos princípios gerais. A separação cromatográfica em GC, tal como nas restantes formas de cromatografia, tem por base a forma como os analitos se distribuem entre a fase móvel e a fase estacionária. Esta distribuição consiste numa reação de equilíbrio, cuja constante consiste na razão das atividades do analito em ambas as fases. Porém, esta constante de distribuição não é medida facilmente, pelo que a separação é avaliada com base nos tempos de retenção. Estes tempos consistem no tempo que um analito demora a ser eluído. Sendo que os tempos variam consoante maior ou menor seja a interação do analito com a coluna, estes estão relacionados com a constante de distribuição anteriormente referida. Com recurso a estes tempos de retenção e ao tempo morto (tempo que uma espécie não retida leva a ser eluída) é possível calcular velocidades lineares, tanto de solutos, como da própria fase móvel. Estes dados, juntamente com as dimensões da coluna, permitem o cálculo do fluxo/pressão na coluna, parâmetro essencial no ajuste das condições cromatográficas.^[8]

A separação cromatográfica dá origem então a um cromatograma com o sinal do detetor em função do tempo de retenção, tal como é apresentado na Fig. 3.

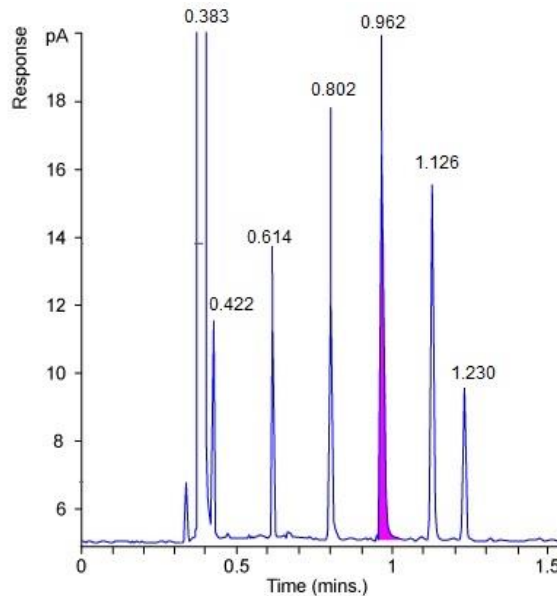


Fig. 3. Exemplo de um cromatograma (resposta do detetor em função do tempo de retenção).^[14]

Através de um cromatograma como o anterior é possível avaliar a qualidade da separação e a eficiência da coluna, nomeadamente devido à forma dos picos. Para se atingir uma boa separação, é necessário que os picos sejam bem definidos e se encontrem bem resolvidos entre si, isto é, que sejam picos singulares, com forma Gaussiana (pico assinalado a 0.383 min na Fig. 3 não se encontra completamente separado do pico a 0.422 min, por exemplo). Quando a forma de um pico se afasta da Gaussiana, provoca um efeito de arrastamento, denominado de *fronting* ou *tailing*, consoante se verifica à esquerda ou à direita do centro do pico, respetivamente (pico a 0.962 min na Fig. 3 apresenta *tailing*, por exemplo). Este arrastamento pode surgir devido a inúmeras situações, como por exemplo, o processo de injeção, danos na coluna, ou concentração da amostra.^[8]

A forma Gaussiana dos picos cromatográficos pode ainda sofrer um alargamento na base, pois as moléculas do analito não chegam todas ao mesmo tempo ao detetor. Estas diferenças de tempo provocam variações na forma Gaussiana do pico, originando diferentes desvios padrão. Estes desvios permitem avaliar a eficiência da coluna pelo cálculo do número de pratos teóricos, introduzida em cromatografia por James e Martin em 1952^[12]. Cada prato teórico é visto como um equilíbrio entre o analito e a fase estacionária. Desta forma, um elevado número de equilíbrios remete para uma melhor separação cromatográfica. Este número de pratos teóricos pode ser calculado experimentalmente através da equação 1:^[15]

$$N = \left(\frac{t_R}{\sigma}\right)^2 = 16 \left(\frac{t_R}{w_b}\right)^2 \quad (1)$$

onde N representa o número de pratos teóricos, t_R o tempo de retenção, σ o desvio padrão e w_b a largura do pico na base.

Sendo o valor anterior conhecido, é ainda possível calcular a altura do prato teórico, com recurso à equação 2:^[15]

$$H = \frac{L}{N} \quad (2)$$

onde H representa a altura do prato teórico, L o comprimento da coluna, e N o número de pratos teóricos.

Estes dois parâmetros são muito utilizados na comparação de colunas cromatográficas, sendo que o ideal seria uma coluna ter um elevado número de pratos teóricos (N), e uma altura do prato reduzida (H). Podem ainda ser calculados como valores efetivos, sendo que o tempo de retenção usado na equação 1 seria o tempo de retenção subtraído do tempo morto. Contudo, estes parâmetros variam com a temperatura, fluxos e o próprio soluto, pelo que devem ser comparados apenas em condições isotérmicas. Mais ainda, estes parâmetros são obtidos com recurso a um modelo simplificado, pelo que os valores obtidos não representam totalmente a realidade, nem são capazes de explicar o alargamento dos picos.^[15] Devido às variáveis presentes, foi proposto um modelo cinético teórico por Van Deemter em 1956^[16], com o objetivo de fundamentar teoricamente a eficiência do processo de separação. O seu trabalho deu então origem à equação 3, a versão condensada da conhecida equação de Van Deemter:^[15,17]

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C \cdot \bar{u} \quad (3)$$

onde H é a altura do prato teórico, A o coeficiente de dispersão, B o coeficiente de difusão longitudinal, C o coeficiente de transferência de massa, e \bar{u} a velocidade linear média da fase móvel.

Nesta equação, Van Deemter tem em conta as propriedades físicas, cinéticas e termodinâmicas da separação, permitindo avaliar e otimizar a eficiência da coluna. Assim, sendo o termo A independente da velocidade, o termo B diminui com o aumento

da velocidade, e o oposto se verifica para o termo C. Deste modo, existe uma velocidade linear ideal, à qual a altura do prato teórico é a mínima.^[15, 17] Tal é visível na Fig. 4:

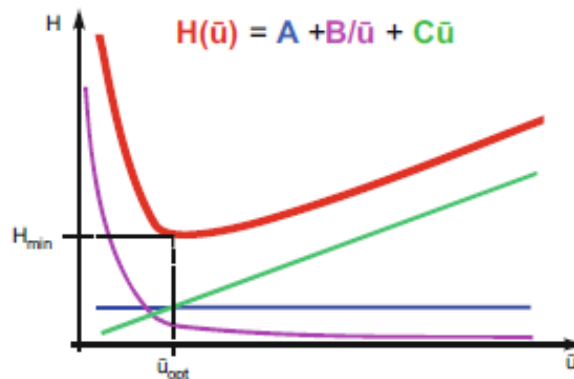


Fig. 4. Gráfico da curva de Van Deemter com H em função de \bar{u} .

Para colunas capilares, o termo A é removido da equação, dando origem à equação de Van Deemter com apenas os termos B e C . Esta equação denomina-se por equação de Golay. Cada um destes termos sofre algumas alterações em si próprio para ser adaptado às colunas capilares, mas o princípio teórico mantém-se.^[15]

Até aqui apenas foi descrito o comportamento de um analito na coluna cromatográfica. Porém, a cromatografia pretende separar vários analitos numa mistura complexa, pelo que um outro parâmetro a ter em consideração é a resolução, ou seja, o grau de separação de picos adjacentes. Esta resolução é dada pela equação 4, para picos de altura semelhante e sem arrasto:^[15]

$$R = \frac{t_{R(2)} - t_{R(1)}}{\frac{w_{b(2)} + w_{b(1)}}{2}} \quad (4)$$

onde R é a resolução, $t_{R(1)}$ e $t_{R(2)}$ são os tempos de retenção do primeiro e segundo picos, respetivamente, e $w_{b(1)}$ e $w_{b(2)}$ são as larguras da base do primeiro e segundo picos, respetivamente.

Assim, quanto maior for o valor de R , maior será a distância entre dois picos adjacentes. Porém, um valor de R demasiado grande não será vantajoso, pois os picos encontrar-se-iam muito distantes. Deste modo, o valor de $R = 1,5$ é o valor desejado, pois corresponde a uma distância mínima, à qual dois picos adjacentes, nas condições anteriormente referidas, se encontram completamente separados. Esta resolução possibilita a aplicação da técnica para uma análise quantitativa.^[15]

1.1.1. Separação

Como já foi referido anteriormente, em GC o analito encontra-se na fase móvel gasosa, que passa por uma fase estacionária líquida ou sólida. A separação dos componentes da mistura processa-se maioritariamente devido a dois fatores: volatilidades relativas e interação do analito com a coluna. Quanto ao primeiro fator, cada analito tem uma pressão de vapor característica, o que permite vaporizá-los seletivamente. Desta forma, um analito irá percorrer a coluna primeiro do que o outro, separando-se facilmente.^[18] Porém, isto nem sempre é possível devido a pressões de vapor semelhantes, pelo que se torna necessário o segundo fator, as interações do analito com a coluna, que podem ser muito variáveis. Estas interações estão geralmente associadas à polaridade do analito e da coluna, seguindo a regra que “semelhante atrai semelhante”. Desta forma, uma coluna irá reter mais intensamente os analitos cuja polaridade for semelhante à sua, separando os componentes da mistura. Estas interações devem-se às forças intermoleculares de Van der Waals: dispersivas (London), dipolos e pontes de hidrogénio. As combinações destas forças possibilitam a separação cromatográfica, uma vez que analitos com determinadas características irão ser eluídos em tempos diferentes dos outros, sendo possível detetá-los individualmente.^[14,15]

Apesar das características dos analitos e da coluna, para que a separação ocorra de forma eficaz, é necessário o ajuste das condições cromatográficas. Assim, temperaturas e fluxos devem ser cuidadosamente selecionados, pois é necessário tempo suficiente para que as interações com a coluna consigam separar os componentes, e que a temperatura seja adequada à amostra.^[18] Para que o anterior seja válido assume-se a escolha adequada da coluna cromatográfica.

1.1.2. Equipamento

Um cromatógrafo gasoso é geralmente constituído seis partes que trabalham em conjunto: uma fonte de gases, um injetor, uma coluna, um forno, um detetor, e um sistema de aquisição de dados.^[13] Um esquema exemplificativo deste equipamento encontra-se representado na Fig. 5.

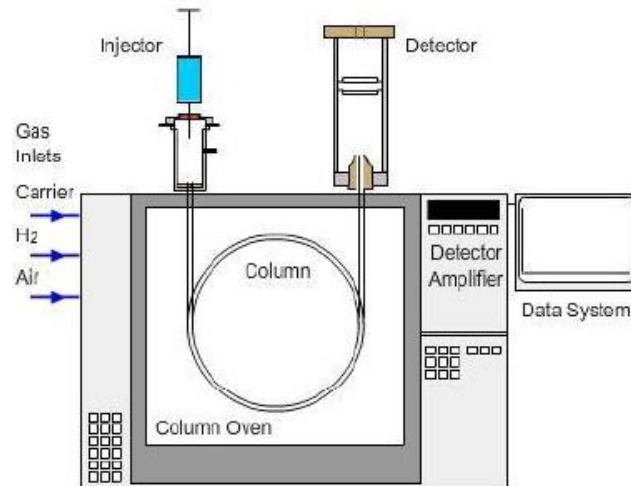


Fig. 5. Esquema de um cromatógrafo gasoso.^[14]

A fonte de gases deve fornecer o gás de arrasto para a fase móvel, bem como os outros gases necessários. Estes gases devem ser de elevada pureza (>99,99%) e ainda filtrados. O gás de arrasto é, na maior parte dos casos, escolhido entre azoto (N₂) ou hélio (He), sendo também possível usar hidrogénio (H₂). Esta escolha é baseada em dois grandes fatores: a qualidade da separação dos compostos e o custo dos gases. Em relação ao primeiro fator, está relacionado com o alargamento longitudinal dos picos devido à massa molar do gás, e à velocidade linear. Quanto ao segundo fator, o custo do azoto é inferior ao do hélio, sendo o primeiro o mais usado.^[13] Estes fatores devem ser tidos em conta e a escolha do gás deverá ser feita para cada caso em particular.

Como a pressão está relacionada com a temperatura, uma análise GC, cuja temperatura não seja constante, está sujeita a variações na pressão do gás ao longo da análise, afetando a separação, introduzindo erros e diminuindo a repetibilidade.^[13] A pressão/fluxo do gás necessita de ser controlada em vários pontos para garantir o correto processamento da análise, assegurando assim a qualidade e repetibilidade dos ensaios. Deste modo, a pressão do gás deve ser controlada antes de chegar ao aparelho, e depois controlada pelo equipamento, desde o injetor até ao detetor, através de controladores de pressão pneumáticos, acionados eletronicamente (aparelhos mais antigos podem ter reguladores manuais).^[14] Com estes sistemas de controlo de pressão, as análises GC hoje em dia têm uma elevada repetibilidade.^[13]

Quanto à injeção, esta é considerada o elo mais fraco da cromatografia, devido às imensas variáveis em causa aquando da medição do volume e da própria injeção.^[19] O mais comum é o equipamento possuir um injetor capaz de receber amostras líquidas, com recurso a uma microseringa (este processo de injeção é muitas vezes automatizado). Existe ainda a possibilidade de o injetor receber amostras gasosas, com

recurso a uma seringa de gases, por exemplo. É ainda possível injeção via pirólise, onde uma amostra sólida é aquecida até à sua decomposição térmica, e depois injetada na coluna. Contudo, o injetor mais comum é o injetor *split/splitless*, representado na Fig. 6.

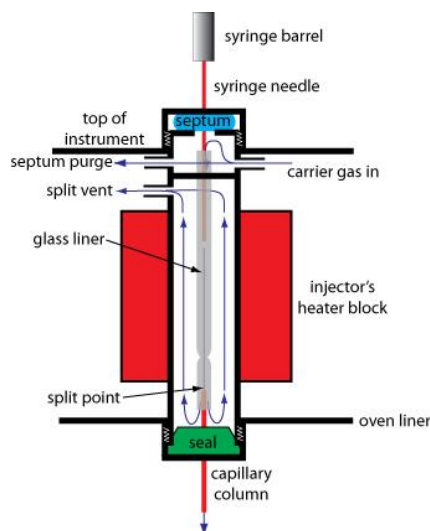


Fig. 6. Esquema de um injetor split/splitless.^[20]

Este tipo de injetor recebe a amostra via microseringa, furando o septo. A amostra é então volatilizada no interior, e segue para a coluna cromatográfica. Neste tipo de injetor, em modo *split*, apenas uma parte da amostra segue para a coluna, sendo a restante parte libertada pela *split vent*, resolvendo assim problemas de concentração da amostra ou saturação da coluna, bem como assegurar que não ficam resíduos no injetor. Em modo *splitless*, toda a amostra injetada segue para a coluna. Existem ainda saídas para purgar impurezas provenientes da decomposição natural do septo (*septum purge*), e assim evitar o aparecimento de picos fantasmas.^[21]

Após a injeção na coluna, sob a forma de vapor, a amostra deve manter-se neste estado durante toda a análise. Deste modo, é necessário que a coluna esteja a uma temperatura suficientemente elevada para que tal aconteça. Assim, o equipamento GC possui um forno, normalmente capaz de manter a coluna entre 40 °C e 350 °C. Estes fornos são capazes de manter a temperatura estável, ou ainda fazer programas de temperatura pré-configurados, de forma extremamente exata. Consistem num compartimento fechado, no qual um fio metálico é aquecido através de corrente elétrica, dissipando energia sob a forma de calor. Esta energia é depois distribuída igualmente pelo compartimento, com recurso a uma ventoinha. O forno está equipado com termostatos para assegurar que a temperatura desejada é mantida.^[13] A capacidade de

variação de temperatura do forno é também elevada, assegurando um melhor controlo da temperatura.^[14]

Dentro deste forno encontram-se as ligações do injetor e do detetor, bem como a coluna cromatográfica, que se encontra suspensa para evitar o contacto com as superfícies do forno.^[14] Um exemplo de um forno encontra-se representado na Fig. 7.

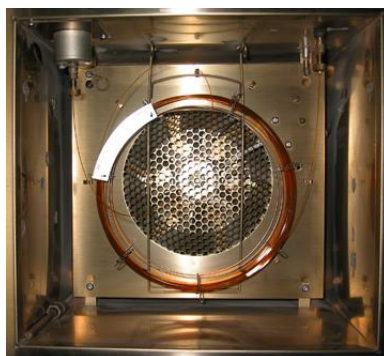


Fig. 7. Exemplo de um forno de um GC, com uma coluna instalada.^[22]

Um dos componentes mais importantes do equipamento GC é aquele que possibilita a separação dos constituintes da mistura a analisar, a coluna cromatográfica (Fig. 7). Esta coluna contém uma fase estacionária que permite reter alguns compostos mais do que outros, fazendo a sua separação. As colunas usadas em GC podem ser divididas em dois grupos, colunas empacotadas ou colunas capilares.

As colunas empacotadas são geralmente feitas de aço inoxidável ou vidro, e contêm pequenas partículas sólidas, que podem ou não ser revestidas com um líquido não volátil, como fase estacionária. Tipicamente têm entre 3 mm e 6 mm de diâmetro e entre 1 m e 5 m de comprimento. A fase sólida no seu interior é normalmente sílica que sofreu uma reação de silanização^[23] (ligação do grupo alcóxilano ao grupo hidroxilo da sílica) para reduzir as interações do hidrogénio com solutos polares. Têm ainda uma grande capacidade para amostra. Estas colunas podem ser usadas para separar misturas cujos componentes são pouco retidos, como, por exemplo, gases leves.^[24]

Por outro lado, existem as colunas capilares, que são as mais comuns atualmente. Estas colunas são geralmente feitas de sílica fundida, revestidas com um filme (fase estacionária) capaz de suportar altas temperaturas. Este revestimento pode ser líquido (WCOT, fase estacionária líquida depositada na parede interior da coluna, de espessura entre 0,1 μm e 5 μm), ou sólido (SCOT, fase estacionária líquida ligada a partículas sólidas, ou PLOT, fase estacionária sólida). Os revestimentos da coluna podem ser de várias naturezas, o que confere uma enorme aplicabilidade deste tipo de colunas. No lado exterior do tubo, encontra-se uma camada de poliimida que permite à coluna resistir à humidade ambiente, e confere-lhe suporte e proteção. As dimensões

mais comuns deste tipo de colunas encontram-se entre os 0,10 mm e 0,53 mm de diâmetro, e entre os 15 m e 100 m de comprimento. Face às colunas empacotadas, as capilares oferecem uma resolução superior, menor tempo de análise e maior sensibilidade, sendo, portanto, as mais utilizadas.^[24]

Sendo as mais usadas, a escolha de uma coluna capilar está diretamente relacionada com o tipo de amostra a analisar. Dado que um equipamento GC geralmente analisa mais do que um tipo de amostra, a coluna deve ser escolhida para possibilitar a melhor separação possível de todos os componentes a analisar.^[18] Como recomendação de fabricantes, uma coluna capilar deve possuir a fase estacionária menos polar possível, que possibilite a separação dos componentes da amostra, devido à maior longevidade deste tipo de coluna. Contudo, a polaridade da coluna deve ser o mais semelhante possível à da amostra. O diâmetro da coluna depende novamente da amostra, mas deve ser o mais reduzido possível para melhorar a eficiência. Apenas deve ser escolhido um diâmetro superior quando é necessário um maior fluxo de gás ou maior capacidade da coluna. Quanto ao comprimento da coluna, o mais comum é entre 25 m e 30 m, sendo que apenas deve ser inferior caso a amostra tenha componentes que se separem facilmente e superior caso não seja possível obter resolução de outra forma. A espessura dos filmes deve encontrar-se entre 0,18 μm e 0,53 μm para a maior parte dos analitos. Deve ser mais espessa para a separação de componentes muito voláteis e menos espessa quando é necessário minimizar a retenção de solutos com elevados pontos de ebulição e massa molecular.^[25]

Após a amostra ter percorrido a coluna cromatográfica e os seus componentes se terem separado, é necessário um detetor capaz de responder à presença dos analitos. O detetor responde a propriedades físico-químicas do analito, amplificando a resposta, e transforma-a num sinal elétrico. Existem detetores específicos para determinado tipo de compostos, como, por exemplo, o detetor de azoto e fósforo (NPD), sensível a compostos com azoto e fósforo. Estes detetores são aplicados quando é necessário apenas um tipo de análise. De entre os tipos de detetores mais universais disponíveis, destacam-se os seguintes: detetor de condutividade térmica (TCD), detetor de ionização de chama (FID) e detetor de espectroscopia de massa (MSD).^[13,14,24]

O TCD é um detetor que responde a todos os analitos, baseado na condutividade térmica dos mesmos. Este detetor é usado com hélio, que possui uma elevada condutividade térmica. Esta é reduzida com a presença de analitos, sendo esta diferença medida pelo detetor, dando origem a um sinal. Apesar de universal, o TCD é um detetor com sensibilidade reduzida, pelo que a sua aplicação é limitada a

quantidades de analito consideráveis, sendo apenas aplicado a colunas empacotadas ou capilares de diâmetro superior a 0,53 mm.^[24]

Atualmente, um dos detetores mais completos é o MSD. Este detetor consiste em utilizar a espectroscopia de massa como meio de detecção de analitos em GC. A espectroscopia de massa (MS) possui uma elevada seletividade que facilita a análise, diminuindo a necessidade de preparação de amostras e pode ainda eliminar a necessidade de separação cromatográfica total. A elevada seletividade permite ainda um aumento na razão sinal-ruído. Uma vez que a MS necessita de sistemas capazes de produzir alto vácuo para eliminar colisões entre moléculas, o excesso de matéria proveniente da cromatografia seria um problema. Porém, a GC utiliza colunas capilares cujo eluato não interfere com a capacidade das bombas de vácuo, pelo que a junção destas duas técnicas se revelou possível e adequada. Desta forma, um MSD pode ser ligado à coluna capilar, dando origem a um sistema de análise muito completo e versátil, sendo considerado o detetor universal.^[24]

Um dos detetores mais usados, e também o que foi utilizado neste trabalho, é o FID (Fig. 8).

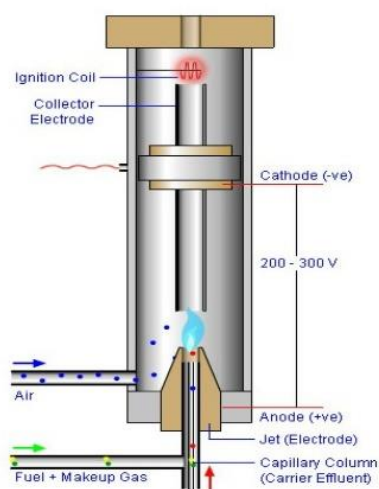


Fig. 8. Esquema de um detector FID.^[14]

Este detetor funciona com base na ionização de átomos de carbono, produzindo radicais CH, que por sua vez originam iões CHO⁺ e eletrões. Nem todos os átomos de carbono produzem estes iões, porém, a produção é proporcional ao número de átomos que chega à chama, pelo que é possível obter resultados quantitativos. Este detetor responde perante praticamente todos os hidrocarbonetos e é insensível aos outros compostos, como por exemplo, N₂ ou He que são normalmente os gases de arrasto. Estas capacidades tornam o FID num detetor com uma elevada gama de aplicação e,

tendo uma sensibilidade muito superior ao TCD e um custo muito inferior ao MSD, é geralmente o detetor a escolher para a análise de hidrocarbonetos.^[24]

Por fim, toda a informação proveniente do detetor tem de ser amplificada e posteriormente convertida de forma a obter-se um cromatograma (Fig. 3). Esta conversão é feita pelos sistemas de dados, que associam os tempos de retenção dos analitos à resposta do detetor, dando origem ao cromatograma, que pode apresentar automaticamente os resultados dos cálculos de áreas e alturas de picos, por exemplo.^[13]

Nas mesmas condições cromatográficas, cada analito tem um tempo de retenção característico, que permite a sua identificação. Mais ainda, a resposta do detetor é proporcional à quantidade relativa do analito na amostra, pelo que é possível quantificá-los. Estes sistemas de dados podem ser programados para fazer a identificação e calibrados para quantificar automaticamente, o que facilita todo o processo. Estas funcionalidades estão presentes em praticamente todos os equipamentos atuais.^[13]

1.2.3. Amostras a analisar

A análise de amostras por cromatografia gasosa permite obter excelentes separações e quantificar os componentes, porém, nem todos os compostos têm a possibilidade de ser analisados por esta técnica. Como foi mencionado anteriormente, a cromatografia gasosa requer que os compostos passem pela coluna sob a forma de vapor, pelo que a pressão de vapor dos mesmos tem de ser tida em conta. Assim sendo, para uma amostra ser analisada por GC, esta deve ter uma pressão de vapor significativa abaixo dos 250 °C, para que possa passar pela coluna sem qualquer problema.^[14] Com vista a resolver esta limitação são sugeridas reações de derivatização. Estas reações consistem em modificar quimicamente os compostos a analisar, transformando-os em compostos com propriedades adequadas à análise por GC (maior volatilidade, por exemplo). Apesar desta técnica alargar a aplicabilidade da técnica, introduz alguns erros, pelo que só deve ser usada caso seja mesmo necessária.^[14,26]

2. Métodos de calibração

Para que uma separação cromatográfica possa ter significado como análise quantitativa é necessário integrar um método de análise. Os métodos conhecidos e amplamente utilizados são baseados em retas de calibração: método do padrão externo,

método da adição de padrão e método do padrão interno. No método do padrão externo, uma série de soluções padrão, de concentração rigorosamente conhecida, são analisadas e o sinal que as mesmas produzem é associado à sua concentração. Esta associação permite estabelecer uma relação sob a forma de uma equação, ou seja, uma reta de calibração (Fig. 9).^[8]

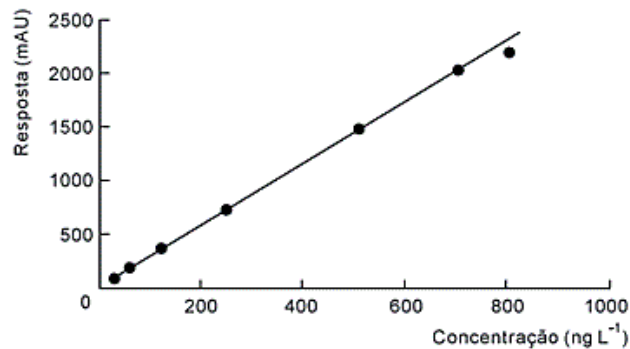


Fig. 9. Exemplo de uma reta de calibração com a resposta do detector em função da concentração do analito.^[27]

Através da equação da reta de calibração, qualquer sinal obtido, para uma concentração desconhecida, pode ser convertido num valor de concentração. Para obter resultados válidos, esta conversão implica que a gama de utilização da reta de calibração seja linear, e inclua a concentração da amostra desconhecida.^[8]

Apesar da aplicabilidade deste método, a sua simplicidade deixa-o sujeito a falhas provocadas pelo efeito de matriz ou variações de volume, por exemplo.^[8]

Com vista a solucionar as variações resultantes das falhas anteriormente mencionadas, surgiram métodos de calibração capazes de as eliminar ou minimizar. Estes métodos são o método da adição de padrão e o método do padrão interno.

O método da adição de padrão surge como forma de eliminar as possíveis variações devidas aos efeitos de matriz. Consiste na adição de quantidades rigorosamente conhecidas de analito padrão à amostra, sendo que através do aumento do sinal é possível obter uma reta de calibração e assim calcular a quantidade de analito na amostra original.^[24]

O método do padrão interno tem em vista eliminar as interferências no resultado provocadas por variações da quantidade de amostra analisada ou flutuações no sinal do detector ao longo do tempo. Este método consiste na adição de uma quantidade igual, e rigorosamente conhecida, de uma solução padrão interno às soluções padrão e amostra. O padrão interno deve ser o mais semelhante possível ao analito, preferencialmente o analito deuterado, para garantir respostas semelhantes. Posteriormente, o sinal obtido não é usado diretamente nos cálculos, mas sim a razão entre os sinais do analito e do padrão interno, eliminando assim os erros mencionados

acima, uma vez que se supõe que acontecem na mesma proporção em ambos os compostos. É então obtida uma reta de calibração, a partir da qual é possível determinar a concentração de analito na amostra desconhecida.^[24] Apesar de não ser o procedimento mais indicado, o método do padrão interno permite fazer uma comparação direta entre o sinal do padrão interno, cuja concentração é rigorosamente conhecida, e o do analito, dando origem a um valor de concentração do analito. Este procedimento dá origem a um resultado com um erro associado elevado, pelo que deverá apenas ser utilizado em análises esporádicas, cujo resultado não necessite de ser obtido com o máximo rigor.

3. Pesticidas

Os pesticidas são produtos utilizados na eliminação de pestes, entendidas como animais, plantas, ou microrganismos indesejados. Podem ser de origem química ou biológica e visam afetar ou destruir a capacidade de uma espécie, considerada como peste, competir com os outros organismos.^[28,29,30] Dentro dos pesticidas existem quatro grandes grupos: os herbicidas, usados para o controlo de plantas, os fungicidas para o controlo de fungos, os antibacterianos para controlo de microrganismos, e os inseticidas, usados para o controlo de insetos.^[29]

3.1. Inseticidas

Os inseticidas podem ser divididos em quatro grupos: sintéticos orgânicos, sintéticos inorgânicos, botânicos e agentes biológicos.^[30]

Os inseticidas sintéticos orgânicos, tal como o nome indica, possuem uma estrutura base de carbono e hidrogénio. Os inseticidas inorgânicos foram os primeiros a surgir e são constituídos por materiais abundantes em minas, tais como o enxofre, mercúrio, selénio e arsénio. Hoje em dia, devido a perigos inerentes às substâncias mencionadas, a sua utilização é mínima, sendo que apenas o arsénio é usado sob a forma de arseniato de chumbo. Os inseticidas botânicos são de origem natural pois, tal como o nome indica, são provenientes das plantas. São produtos de degradação rápida, o que diminui os riscos da sua utilização. Os agentes biológicos possibilitam o controlo de pestes interferindo diretamente com o alvo, afetando o seu desenvolvimento ou comportamento.^[30,31]

3.1.1. Piretróides

À exceção de uma substância reguladora de crescimento (agente biológico), todos os princípios ativos de inseticidas utilizados neste estágio são da família dos

piretróides. Esta família de compostos inclui-se no grupo dos inseticidas botânicos, tendo origem nas flores da espécie *Chrysanthemum cinerariaefolium*.^[31] Hoje em dia são os inseticidas mais comercializados para uso doméstico, a nível global.^[32] A sua grande utilização deve-se muito ao trabalho de Rachel Carson^[33], em 1962, que criticou o uso de pesticidas sintéticos, sugerindo o uso do piretro, um inseticida natural, pouco tóxico para o Homem, e com baixo potencial para contaminar o ambiente.^[34]

Os piretróides são inseticidas derivados das piretrinas (Fig. 10), ou seja, ésteres dos ácidos crisantémico e pirétrico com os grupos hidroxilo das cetonas piretrolona, cinerolona e jasmolona.^[34]

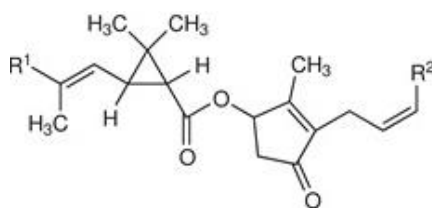


Fig. 10. Estrutura base de uma piretrina.

Existem seis tipos de piretrinas naturais, dependendo do ácido e do álcool anteriormente mencionados. Os ésteres derivados do ácido crisantémico formam o grupo I e os derivados do ácido pirétrico formam o grupo II, cada um com três elementos.^[34,35]

A grande variedade de estruturas pode afetar a atividade biológica, pelo que existe a possibilidade de alterar as moléculas, melhorando as suas características, quer a nível de eficácia, quer a nível de toxicidade para humanos e para o meio ambiente. Perante este cenário surgiram os piretróides sintéticos, particularmente derivados das piretrinas do grupo I, sendo que o primeiro a surgir foi a aletrina, sintetizada pela primeira vez por Schechter em 1949.^[34,36] Muitos outros foram sintetizados e utilizados desde então, sendo que estes piretróides sintéticos demonstram uma elevada eficácia como inseticidas e ainda um bom grau de compatibilidade com as plantas. Mais ainda, possuem uma baixa toxicidade em humanos.^[36] O uso de piretróides sintéticos possibilitou ainda a alteração de características de durabilidade no meio, dando origem a piretróides fotoestáveis. Estes inseticidas possuem uma estabilidade suficientemente elevada para poderem ter uma aplicação agrícola. A sua maior estabilidade aumenta a preocupação com o meio ambiente, porém, a sua eficácia superior implica o uso de uma dose menor, minimizando os possíveis problemas. Mais ainda, no solo, estes piretróides podem transformar-se em produtos menos tóxicos do que a molécula original, reduzindo ainda mais os riscos para o ambiente. Porém, o uso desregulado dos mesmos provoca

graves problemas no meio ambiente, sendo particularmente tóxico para organismos aquáticos, pelo que é necessário controlá-lo e desenvolver métodos de deteção e eliminação dos mesmos.^[34,35]

Alguns exemplos destas moléculas usadas como inseticidas encontram-se representados na Fig. 11.

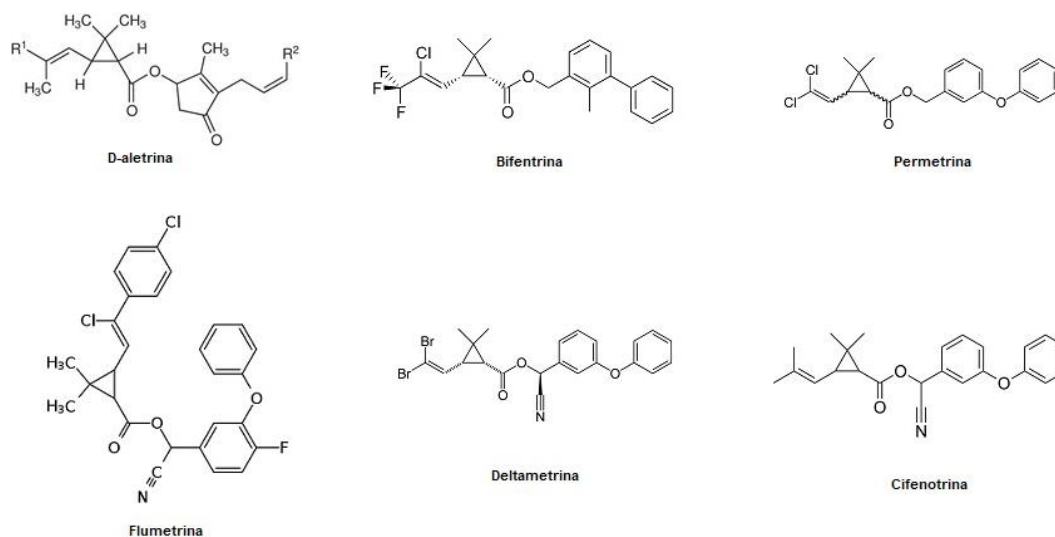


Fig. 11. Exemplos de moléculas de piretróides usadas como inseticidas.

Estes piretróides atuam no sistema nervoso central e periféricos dos insetos, mas apenas de forma temporária. Para que o efeito perdure e o objetivo final de controlar a praga seja atingido, é necessário o uso de um composto sinérgico, como, por exemplo, o butóxido de piperonilo, para potenciar a atividade dos princípios ativos.^[31]

A toxicidade dos piretróides varia com a sua estrutura química e configuração. Uma vez que os piretróides consistem em misturas de isómeros, cada um com diferente grau de atividade, as misturas têm diferentes eficácias. Mais ainda, as piretrinas naturais ou sintéticas derivadas dos grupos I e II têm diferentes tipos de ação nos insetos. As do grupo I causam a morte do inseto devido à sua capacidade de se dissolverem em lípidos (lipofilicidade), enquanto as do grupo II são responsáveis pelo efeito de *knockdown*, uma paralisia temporária, devido à sua maior polaridade.^[34]

3.2. Aplicação de GC a Inseticidas

Os piretróides são substâncias tóxicas, pelo que são controlados por entidades competentes. Estas entidades, para além de outros trabalhos publicados, utilizam e recomendam a cromatografia gasosa para a determinação de piretróides.^[37-39]

Estas substâncias possuem uma massa molecular, geralmente, abaixo dos 500 g/mol, pontos de ebulição perto de 300 °C e uma pressão de vapor significativa a

temperaturas entre os 250 °C e 300 °C. São ainda solúveis em compostos orgânicos, como álcoois, e não se decompõem com a temperatura. A combinação de todas estas características indica que são substâncias cuja separação e quantificação por GC é adequada.

4. Parte Experimental

4.1. Reagentes e Material

Os reagentes abaixo mencionados foram usados para a preparação de soluções amostra e padrão de princípios ativos de inseticidas. Os reagentes utilizados como padrões não serão identificados e serão apresentados sob a forma de código (A1, A2, B1, B2, por exemplo). Todos os padrões eram provenientes de fornecedores aprovados pelo cliente e encontravam-se dentro do seu prazo de validade. Foram ainda reanalisados sempre que necessário, de acordo com as regras internas do CPD, garantindo assim a sua qualidade. Os solventes e padrões internos (nomes não mencionados) usados na preparação das soluções mencionadas encontram-se listados na Tabela 1.

Tabela 1. Reagentes utilizados na preparação de soluções a analisar.

Reagente	Marca
Álcool Isopropílico (HPLC <i>grade</i>)	Fisher Chemical
Acetona (HPLC <i>grade</i>)	Fisher Chemical
Padrões Internos (97% a ≥ 99%)	Acros Organics Alfa Aesar

Para o processo de cromatografia gasosa foram utilizados os gases necessários para o correto funcionamento do cromatógrafo e adequados às amostras a analisar: Azoto (> 99,9999%), Hélio (> 99,9999%), Ar Sintético (> 99,999%) e Hidrogénio (> 99,9999%). Estes gases foram fornecidos pela Alphagaz™ em garrafas metálicas pressurizadas a 200 bar.

Para a preparação de todas as soluções necessárias foi utilizado material de laboratório de vidro como balões volumétricos de 50 mL e 100 mL (classe A), pipetas volumétricas de 5 mL e 10 mL (classe B), gobelés de 50 mL e 100 mL, bem como espátulas metálicas, seringas descartáveis de 5 mL e pipetas de Pasteur descartáveis

de 3 mL. A injeção no equipamento GC foi feita com uma microseringa Agilent PN 5190-1483 de 10 μ L.

4.2. Equipamentos

Nesta parte do trabalho foi utilizado um cromatógrafo gasoso 6890 plus da Agilent Technologies Inc. (Fig. 12), com injeção manual. A coluna utilizada foi uma coluna capilar DB-1 (100% dimetilpolisiloxano, apolar)^[40] da Agilent Technologies Inc., com as dimensões 30 m x 0,53 mm x 1,50 μ m. Este equipamento encontra-se numa sala com temperatura e humidade controladas (temperatura entre 21°C e 24°C, e humidade inferior a 60%). O *software* de aquisição de dados usado foi o ChemStation, na versão A.10.02 Rev. 1757.



Fig. 12. Cromatógrafo gasoso Agilent 6890 plus.

Foi ainda utilizado o banho de ultrassons Telsonic AG TPC-15 para a homogeneização de soluções, e a balança analítica Mettler Toledo AG204 para pesagens.

4.3. Procedimento experimental

As soluções padrão interno, padrão e amostra a analisar por GC-FID foram preparadas medindo a massa de cada um dos padrões, padrão interno e amostra, num balão volumétrico, perfazendo o volume total com o solvente adequado. Os métodos encontram-se codificados sob a forma "Insetic #". Encontram-se listadas as quantidades nas Tabelas 2 – 7, onde PI representa padrão interno, SPI solução padrão interno, SP solução padrão, SA solução amostra, e IPA álcool isopropílico.

Tabela 2. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 1.

Solução	Componente	Quantidade	Volume Final com IPA (mL)
SPI	PI	1 g	N/A
	IPA	99 g	
SP	Padrão A1	0,1500 g	100,0
	Padrão A2	0,1800 g	
	SPI	10,00 mL	
SA	Amostra	5 g	50,00
	SPI	5,00 mL	

Tabela 3. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 2.

Solução	Componente	Quantidade	Volume Final com IPA (mL)
SPI	PI	1 g	100
SP	Padrão B1	0,3000 g	100,0
	Padrão B2	0,0500 g	
	SPI	10,00 mL	
SA	Amostra	4 g	50,00
	SPI	5,00 mL	

Tabela 4. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 3.

Solução	Componente	Quantidade	Volume Final com IPA (mL)
SPI	PI	1 g	N/A
	IPA	99 g	
SP	Padrão C1	0,1500 g	100,0
	Padrão C2	0,1600 g	
	SPI	10,00 mL	
SA	Amostra	5 g	50,00
	SPI	5,00 mL	

Tabela 5. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 4.

Solução	Componente	Quantidade	Volume Final com IPA (mL)
SPI	PI	1 g	N/A
	IPA	99 g	
SP	Padrão D1	0,1700 g	100,0
	Padrão D2	0,1000 g	
	SPI	10,00 mL	
SA	Amostra	5 g	50,00
	SPI	5,00 mL	

Tabela 6. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 5.

Solução	Componente	Quantidade	Volume Final com IPA (mL)
SPI	PI	1 g	N/A
	IPA	99 g	
SP	Padrão E1	0,2200 g	100,0
	Padrão E2	0,1100 g	
	SPI	10,00 mL	
SA	Amostra	5 g	50,00
	SPI	5,00 mL	

Tabela 7. Resumo da preparação de soluções para o método Insetic 6.

Solução	Componente	Quantidade	Volume Final com IPA (mL)
SPI	PI	1 g	N/A
	IPA	99 g	
SP	Padrão F1	0,1500 g	100,0
	Padrão F2	0,1500 g	
	Padrão F3	0,1600 g	
	SPI	10,00 mL	
SA	Amostra	10 g	50,00
	SPI	5,00 mL	

As soluções mencionadas nas tabelas anteriores foram depois colocadas num banho de ultrassons durante aproximadamente 5 minutos, para homogeneizar e/ou dissolver os componentes. As soluções que continham padrões no estado sólido permaneceram no banho de ultrassons durante cerca de 10 minutos.

É importante referir que os métodos descreviam a preparação das soluções com acetona, mas que o seu uso não foi recomendado devido à maior propensão a degradar a coluna. Por este motivo foram feitos testes de solubilidade em IPA e posterior análise em GC. A comparação de resultados não indicou diferenças, pelo que o IPA foi o solvente escolhido para as análises. Foi ainda reduzida a quantidade a preparar de soluções amostra de 100 mL para 50 mL com vista a minimizar a utilização de solventes.

Após as soluções terem sido preparadas, foram injetadas no equipamento GC, com diversos parâmetros de temperaturas e pressões/fluxos, que foram sendo ajustados de forma a otimizar o tempo de análise e a qualidade da separação.

4.4. Cálculos

Os cálculos da concentração de cada princípio ativo nas amostras analisadas foram feitos com base na seguinte equação:

$$\% \text{ Ingrediente Ativo} = \frac{\text{Massa corrigida do Padrão} * \text{I.A./P.I. Amostra} * \text{Volume final da Amostra} * 100}{\text{I.A./P.I. Padrão} * \text{Volume final do Padrão} * \text{Massa da Amostra}} \quad (5)$$

onde a massa corrigida do padrão representa a massa do padrão tendo em conta a pureza, I.A./P.I. representa a razão das áreas dos picos do ingrediente ativo e do padrão interno.

Esta fórmula foi usada num ficheiro Excel, no qual se inserem as purezas, massas e áreas dos picos obtidos. Parte desta folha de cálculo encontra-se representada na Fig. 13.



FOLHA DE CÁLCULO PARA INSETICIDAS COM 2 INGREDIENTES ATIVOS					
Produto:				Código:	
Lote:					
	Nome do composto				
Ingrediente Ativo 1					
Ingrediente Ativo 2					
	Pureza (%)	Massa (g)	Massa corrigida (g)	Volume final (mL)	
Amostra	N/A		N/A		
Padrão Interno					
Ingrediente Ativo 1					
Ingrediente Ativo 2					
	Áreas picos Padrão (pA.s)	I.A./P.I. Padrão	Áreas picos Amostra (pA.s)	I.A./P.I. Amostra	
Amostra	N/A	N/A	N/A	N/A	
Padrão Interno		N/A		N/A	
Ingrediente Ativo 1					
Ingrediente Ativo 2					
	Resultados (%)				
Ingrediente Ativo 1					
Ingrediente Ativo 2					

Fig. 13. Parte da folha Excel desenvolvida para o cálculo da percentagem de 2 ingredientes ativos em inseticidas.

A folha de cálculo apresenta o resultado final de todos os princípios ativos sob a forma de percentagem.

5. Resultados e Discussão

Devido à diversidade de métodos de quantificação existentes, foi determinado internamente que não existiriam métodos de calibração baseados em retas. Assim, todas as análises foram realizadas por comparação direta com uma solução padrão de concentração conhecida, o que dá origem a resultados de confiança suficiente, mas sem gastar tempo a preparar e manter retas de calibração. As soluções padrão foram analisadas antes de qualquer série de injeções, e repetidas sempre que necessário (caso se verificasse alguma alteração no sinal, ou após um máximo de cinco injeções consecutivas, por exemplo). Desta forma a empresa consegue obter resultados

fidedignos, sem a exigência de tanto tempo para calibrar e validar os métodos, bem como a sua manutenção.

Com a mudança da coluna cromatográfica, os métodos anteriormente usados deixaram de ser aplicáveis. Assim, a sua adaptação à nova coluna foi necessária, tendo sido aproveitada a oportunidade para fazer a otimização dos métodos, nomeadamente a nível de tempo de análise e qualidade da separação. Neste trabalho foram otimizados 6 métodos de quantificação de princípios ativos em inseticidas. De seguida será descrito o procedimento detalhado da otimização de um dos métodos, sendo que os resultados obtidos para os restantes serão apresentados de forma resumida no final, uma vez que as alterações aplicadas em todos foram da mesma natureza.

5.1. Método de Limpeza da Coluna

A coluna cromatográfica encontrava-se instalada no equipamento GC, porém estava inutilizada há algum tempo, pelo que o processo se iniciou com um programa de limpeza. Este programa foi desenvolvido com base nas recomendações do fabricante^[41] e encontra-se descrito na Tabela 8. Consiste numa combinação de temperaturas e pressões suficientemente elevadas para remover grande parte das contaminações presentes. Este programa foi incluído num procedimento de manutenção, descrito mais à frente, e a sua utilização deve ser feita uma vez por semana. A frequência pode ser alterada mediante a utilização dada ao equipamento.

Tabela 8. Condições cromatográficas do programa de limpeza.

Componente	Programação
Injetor	Temperatura: 300 °C Split: 7,6:1
Coluna	Pressão (N ₂): 80,0 kPa
Forno	Temperatura inicial: 50 °C (10 min) Rampa: 50 °C/min Temperatura final: 300 °C (30 min)
Detetor	Temperatura: 350 °C
Tempo de Limpeza	45 min

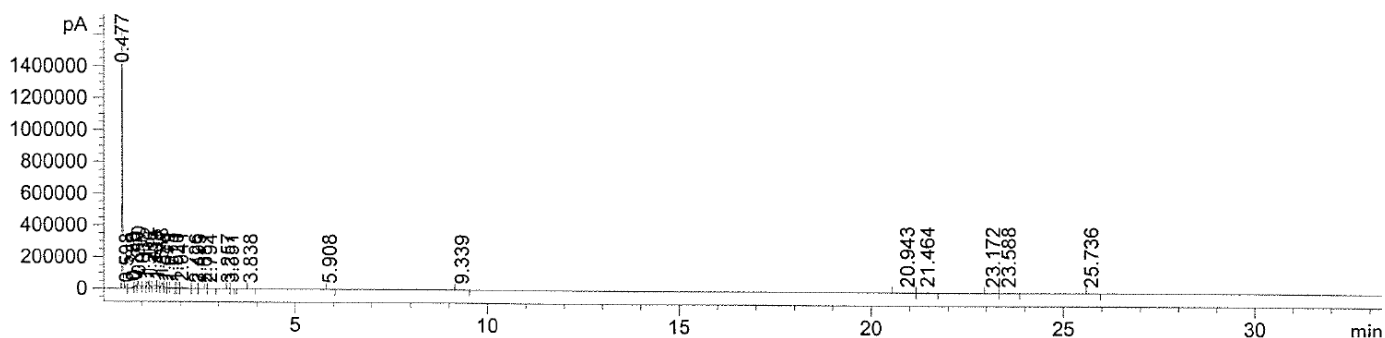
5.2. Otimização do Método Insetic 1

Após a limpeza inicial, iniciou-se o trabalho com o primeiro método, aqui denominado por “Insetic 1”. As soluções foram preparadas de acordo com o método já existente, sendo apenas aplicadas as mudanças já referidas de solvente e quantidade a preparar (Tabela 2).

A primeira injeção foi feita com as condições presentes no equipamento GC (Tabela 9), ainda adaptadas à coluna anterior, e o resultado encontra-se visível na Fig. 14.

Tabela 9. Condições cromatográficas iniciais do método Insetic 1, para uma análise com 33,33 min.

Componente	Programação
Injetor	Temperatura: 250 °C Split: 2,8:1
Coluna	Pressão (He): 100,7 kPa
Forno	Temperatura Inicial: 165 °C Rampa: 3 °C/min Temperatura Final: 265 °C
Detetor	Temperatura: 250 °C



garantido que não existia nenhum problema, nomeadamente devido à complexidade das amostras.

De forma a garantir que os picos se encontravam corretamente identificados, foram injetadas 3 soluções padrão individuais, preparadas da forma apresentada na tabela 3, mas apenas com padrão A1, padrão A2 ou padrão interno. Assim o pico aos 9,3 min foi identificado como o padrão interno, os picos aos 20,9 min e 21,4 min correspondem ao padrão A1 e os picos aos 23,1 min e 23,5 min ao padrão A2. Após esta identificação, foi efetuada nova injeção, já com o gás de arrasto azoto (N_2). Apesar de teoricamente este gás não ser tão adequado como o hélio (He) para uma análise com estas características de velocidade linear^[15], foi testado devido ao seu custo inferior. O cromatograma ajustado no eixo das abcissas para os picos de interesse encontra-se representado na Fig. 15.

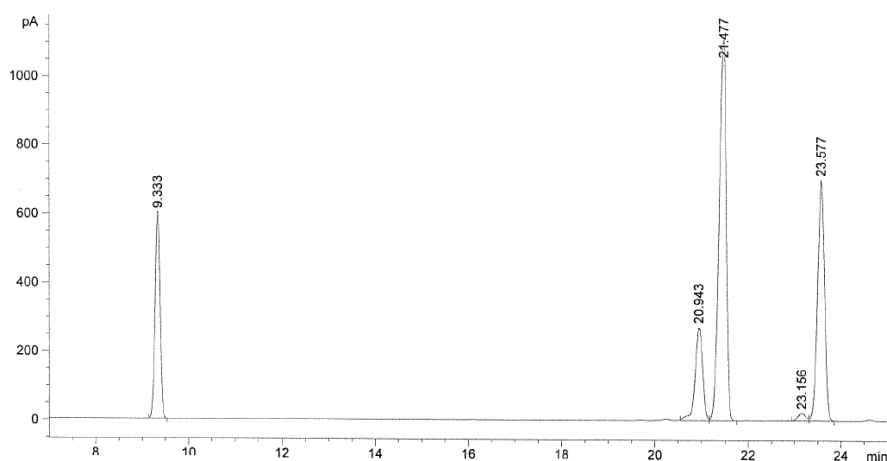


Fig. 15. Cromatograma ajustado para a solução amostra com o método Insetic 1.

Ao contrário do esperado, verificou-se um resultado muito semelhante com os dois gases de arrasto, sendo que a análise com N_2 foi selecionada devido ao seu custo inferior. Após os picos estarem identificados, iniciaram-se os testes de otimização. Analisando o cromatograma da Fig. 15, o tempo global da análise pode ser reduzido, bem como o intervalo de tempo entre o pico do padrão interno e os restantes. Contudo, a separação entre os dois picos de cada um dos padrões A1 e A2 não deve ser piorada.

Para acelerar o processo, a primeira tentativa consistiu num aumento da temperatura inicial da análise para 180 °C, com uma rampa de 5 °C/min até aos mesmos 265 °C finais. A análise teria cerca de 17 min, mas foi prolongada até aos 20 min para garantir que todos os componentes seriam eluídos. O resultado encontra-se na Fig. 16.

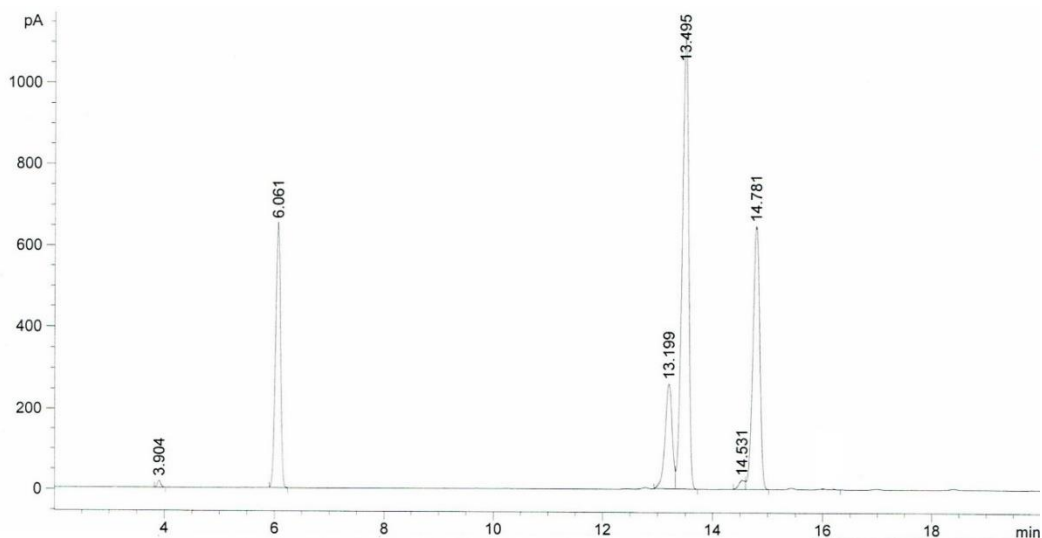


Fig. 16. Cromatograma para a solução amostra com o método Insetic 1 após alteração da temperatura inicial para 180 °C e rampa de 5 °C/min até 265 °C.

Verificou-se uma redução nos tempos de eluição dos componentes, sem que a qualidade da separação fosse muito reduzida. Uma vez que os picos cuja separação não é total representam isómeros do mesmo princípio ativo, a sua separação não ideal não representa uma preocupação neste caso.

Desta forma tentou-se um aumento ainda maior da temperatura inicial, compensando com uma rampa ligeiramente menor. Foi então feita uma análise com a temperatura inicial de 220 °C e uma rampa de 4 °C/min até aos 265 °C. O tempo de análise ficou pelos 11,25 min. O resultado está representado na Fig. 17.

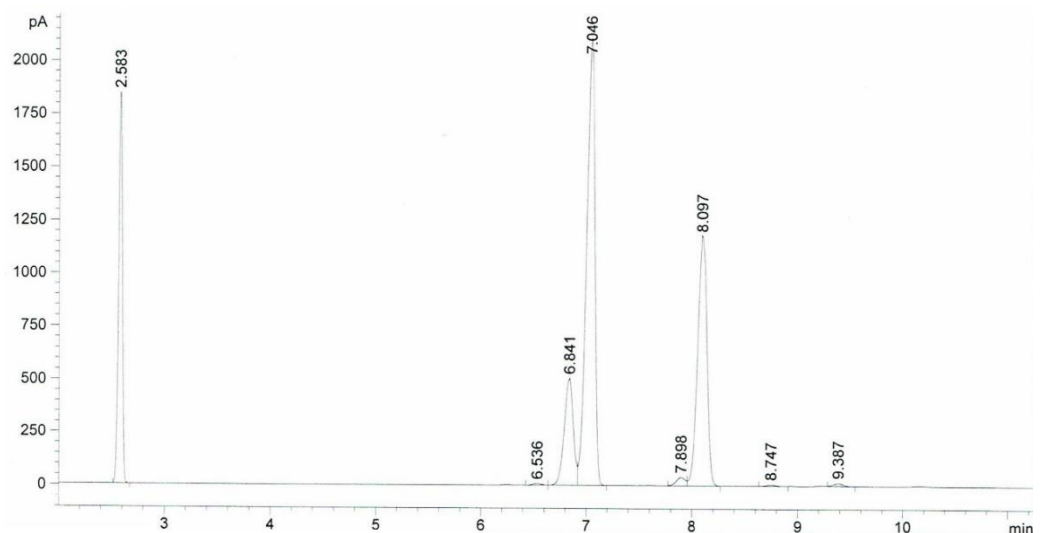


Fig. 17. Cromatograma para a solução amostra com o método Insetic 1 após alteração da temperatura inicial para 220 °C e rampa de 4 °C/min até 265 °C.

Na Fig. 17, os tempos de retenção diminuíram, mas a qualidade da separação foi ligeiramente afetada. Alguns picos de pequenas dimensões foram detetados imediatamente antes dos picos característicos, o que indica que a separação poderia não se estar a processar idealmente.

Desta forma, decidiu-se usar um programa com uma temperatura inicial ligeiramente inferior: 200 °C com rampa de 5 °C/min até 265 °C. Além disto, tentou-se reduzir o intervalo de tempo entre o pico do padrão interno e os picos dos princípios ativos introduzindo uma rampa de pressão. Esta rampa consistiu em manter os 100,7 kPa iniciais durante 4 min, aumentar para 150 kPa a 70 kPa/min, mantendo a pressão final durante 2 min. Por último, diminuir para 80 kPa a 100 kPa/min. Os resultados obtidos encontram-se na Fig. 18, numa análise com 13 min.

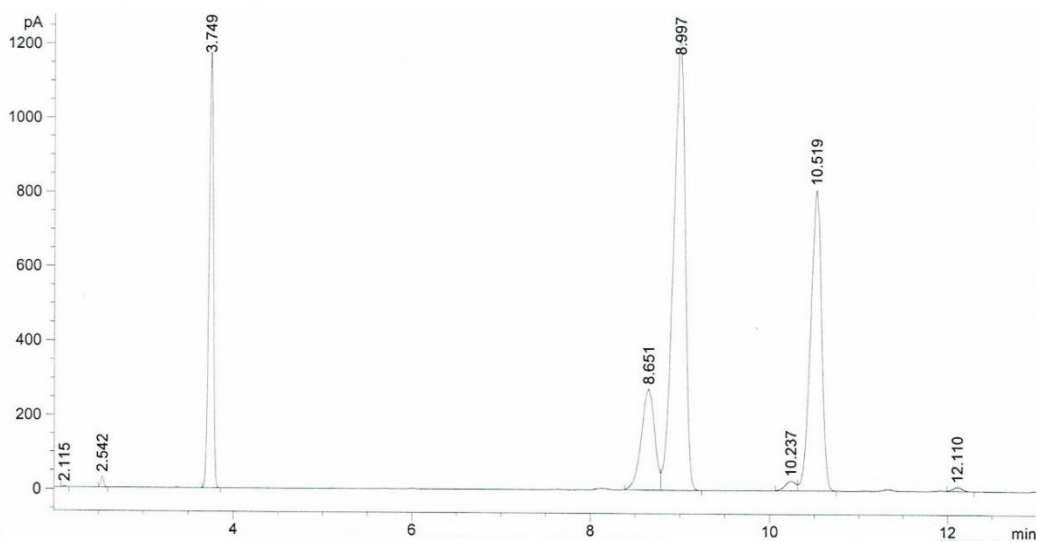


Fig. 18. Cromatograma para a solução amostra com o método Insetic 1 após alteração da temperatura inicial para 200 °C e rampa de 5 °C/min até 265 °C e rampa de pressão: 100,7 kPa durante 4 min, aumentando a 70 kPa/min até 150 kPa, que são mantidos durante 2 min, até diminuir a 100 kPa/min para 80 kPa.

Estes resultados com rampa de pressão não representam uma grande melhoria face à pressão constante, causando ainda um maior arrastamento dos picos. Assim, esta opção foi descartada. Optou-se então por uma pressão constante, mas inferior à inicialmente apresentada, com o objetivo de melhorar a qualidade da separação devido ao aumento de temperatura, mas sem afetar muito os tempos de retenção. Foi então usada a rampa de temperatura igual à anterior (de 200 °C a 265 °C a um ritmo de 5 °C/min) e uma pressão constante de 74,6 kPa. Os resultados obtidos encontram-se na Fig. 19, para uma análise com 13 min.

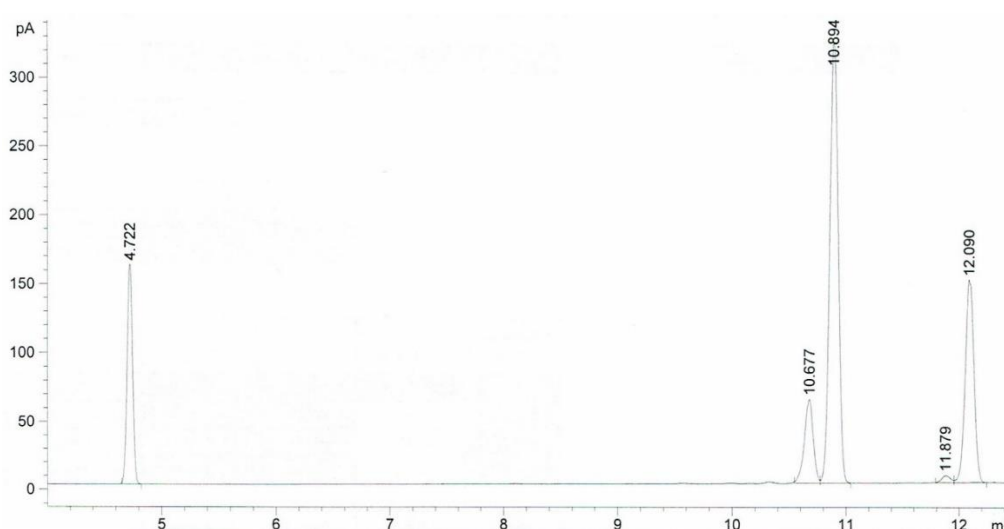


Fig. 19. Cromatograma para a solução amostra com o método Insetic 1 após alteração da temperatura inicial para 200 °C e rampa de 5 °C/min até 265 °C, com pressão constante de 74,6 kPa.

Verificou-se então uma boa relação entre tempo e qualidade de separação. Mais ainda, a mudança do gás de arrasto não teve influência na separação, tendo até tornado a linha de base ligeiramente mais estável. Assim, as condições desta última análise foram as definidas para o método. Estas condições encontram-se resumidas na Tabela 10.

Tabela 10. Condições cromatográficas finais do método Insetic 1, para uma análise com 13 min.

Componente	Programação
Injetor	Temperatura: 250 °C Split: 2,8:1
Coluna	Pressão (N ₂): 74,6 kPa
Forno	Temperatura Inicial: 200 °C Rampa: 5 °C/min Temperatura Final: 265 °C
Detetor	Temperatura: 250 °C

O resumo geral do processo de otimização encontra-se representado no esquema da Fig. 20.

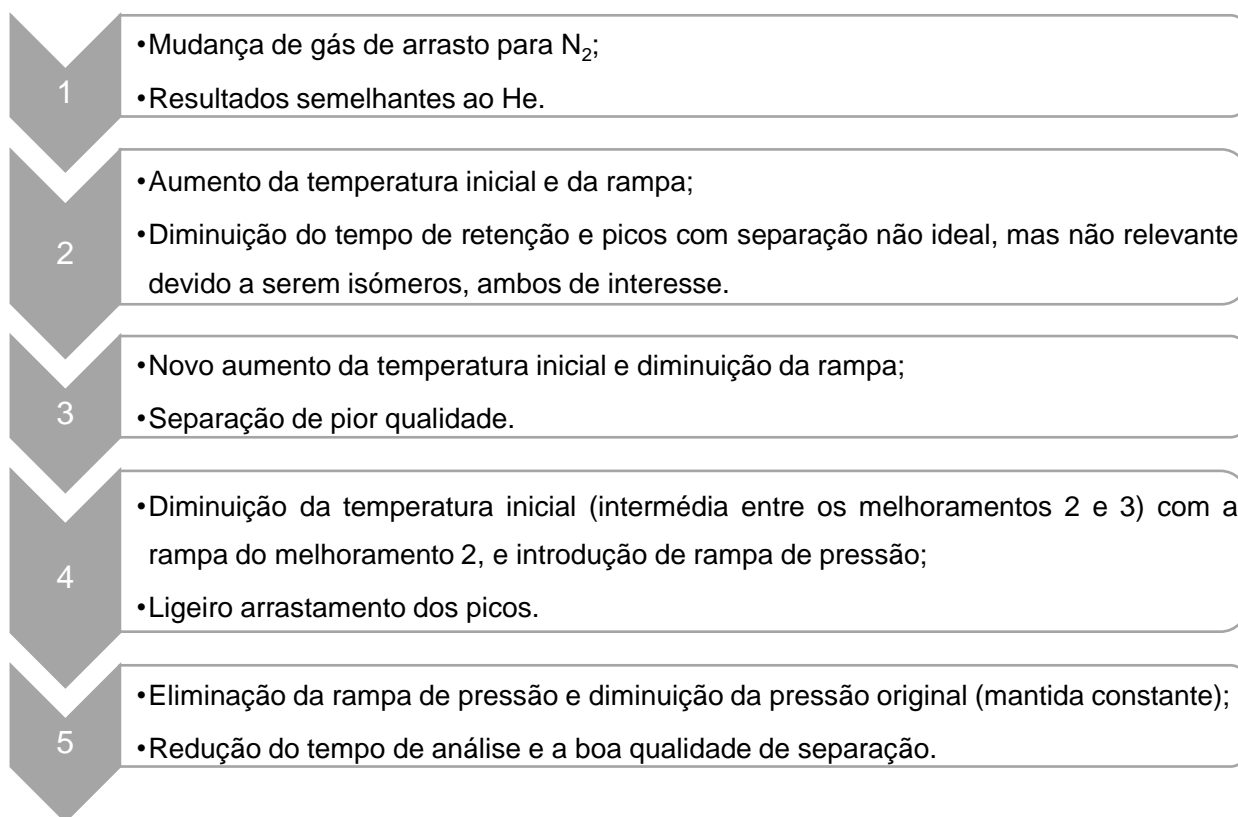


Fig. 20. Esquema resumo do processo de otimização do método Insetic 1.

Desta forma o método Insetic 1 sofreu uma redução no tempo de análise de 61%, melhorando ligeiramente a resolução dos picos. Mais ainda, a alteração do solvente para IPA ajuda a prevenir o desgaste da coluna cromatográfica (e também tem um custo inferior face à acetona), e a alteração do gás de arrasto para azoto reduz o custo da análise, sem comprometer a qualidade dos resultados.

5.3. Otimização dos restantes métodos

Os restantes métodos foram otimizados com base nos mesmos princípios, tendo sido feitas as alterações de gases de arrasto e solventes mencionadas anteriormente, e ainda as alterações resumidas na Tabela 11.

Tabela 11. Resumo das alterações feitas aos restantes métodos.

Método	Alterações
Insetic 2	Eliminação da rampa de temperatura: de 165 °C – 265 °C, a 3 °C/min, para 250 °C constante Redução da pressão: de 68,9 kPa para 64,9 kPa
Insetic 3	Semelhantes a “Insetic 1”, mas aplicado a princípios ativos diferentes
Insetic 4	Eliminação da rampa de temperatura: de 165 °C – 265 °C, a 2,5 °C/min, para 250 °C constante Aumento da pressão: de 68,9 kPa para 73,6 kPa
Insetic 5	Eliminação da rampa de temperatura: de 165 °C – 255 °C, a 2,5 °C/min, para 250 °C constante Aumento da pressão: de 68,9 kPa para 87,3 kPa
Insetic 6	Alteração da rampa de temperatura: de 165 °C – 265 °C, a 4 °C/min, para 200 °C – 265 °C, a 5 °C/min Redução da pressão: de 100,7 kPa para 74,6 kPa

As alterações acima descritas provocaram uma diminuição no tempo de análise dos métodos, melhorando, ou não comprometendo, a qualidade de separação dos componentes da amostra. Os resultados dos parâmetros melhorados encontram-se resumidos na Tabela 12.

Tabela 12. Melhorias verificadas nos restantes métodos.

Método	Tempo de análise (%)	Resolução visualmente melhorada	Redução de custos
Insetic 2	+38,6	Sim	Sim
Insetic 3	- 61,0	Ligeiramente	Sim
Insetic 4	- 61,1	Sim	Sim
Insetic 5	- 61,1	Não	Sim
Insetic 6	- 55,0	Ligeiramente	Sim

5.4. Teste dos métodos otimizados

Com as condições finais definidas, os métodos foram testados com amostras reais, sempre que possível, ou então com *bulks* preparados em laboratório, de acordo com as instruções de fabrico. Estas amostras possuem valores especificados da

quantidade de cada princípio ativo. As especificações são definidas internamente de acordo com os requisitos do cliente, sob a forma de um intervalo de percentagens. Os intervalos de especificação não serão apresentados aqui pois algumas amostras usadas foram produzidas em laboratório, numa pequena escala. Assim, as variações a que estas estão sujeitas foram maiores, pelo que se optou por representar o valor esperado, adequado a cada uma delas. Assim, os valores esperados da percentagem dos princípios ativos foram calculados com base nas instruções de fabrico, no caso das amostras reais, e com base nas quantidades medidas, no caso das amostras preparadas em laboratório. Na Tabela 13 apresentam-se os resultados obtidos para 5 ensaios por produto, cada um analisado com o método indicado.

Tabela 13. Resultados obtidos na análise de produtos com os métodos otimizados.

Método	Produto	Princípio Ativo	Valor Esperado (%)	Resultados (%)					Média (%)
				Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4	Ensaio 5	
Insetic 1	1	A1	2,150	2,102	2,163	2,210	2,199	2,201	2,175
		A2	1,120	1,103	1,129	1,128	1,121	1,120	1,120
	2	A1	3,160	3,231	3,166	3,112	3,086	2,981	3,115
		A2	1,110	1,168	1,134	1,114	1,095	1,098	1,122
Insetic 2	3	B1	6,140	6,000	6,112	6,146	6,150	6,148	6,111
		B2	0,620	0,620	0,624	0,628	0,632	0,616	0,624
Insetic 3	4	C1	1,490	1,502	1,492	1,463	1,431	1,491	1,476
		C2	1,510	1,517	1,522	1,505	1,502	1,513	1,512
Insetic 4	5	D1	0,730	0,762	0,756	0,713	0,724	0,720	0,735
		D2	0,205	0,209	0,208	0,203	0,208	0,206	0,207
Insetic 5	6	E1	0,150	0,145	0,153	0,151	0,153	0,153	0,151
		E2	1,970	1,997	2,007	1,960	1,933	2,063	1,992
Insetic 6	7	F1	0,115	0,098	0,128	0,127	0,128	0,130	0,122
		F2	0,600	0,613	0,586	0,600	0,605	0,615	0,604
		F3	0,140	0,118	0,148	0,140	0,141	0,156	0,141

De forma a garantir a qualidade dos resultados, estes foram submetidos a cálculos de parâmetros estatísticos. Assim, foram calculados os desvios padrão e os coeficientes de variação. Mais ainda, foi efetuado um teste t de *student* para verificar se os resultados médios eram estatisticamente diferentes do valor esperado.^[42] Não foram efetuados testes estatísticos mais aprofundados, como por exemplo ANOVA's devido às diferenças nas gamas a analisar quer entre métodos, quer dentro do próprio método. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 14.

Tabela 14. Cálculos de parâmetros estatísticos para os resultados da Tabela 13.

Método	Produto	Princípio Ativo	Valor Esperado (%)	Média (%)	Desvio Padrão (%)	Coefficiente de Variação (%) ¹	Teste t de student
Insetic 1	1	A1	2,150	2,175	0,045	2,0	1,254
		A2	1,120	1,120	0,010	0,9	0,043
	2	A1	3,160	3,115	0,093	3,0	1,073
		A2	1,110	1,122	0,030	2,7	0,876
Insetic 2	3	B1	6,140	6,111	0,064	1,0	1,005
		B2	0,620	0,624	0,006	1,0	1,414
Insetic 3	4	C1	1,490	1,476	0,029	2,0	1,097
		C2	1,510	1,512	0,008	0,5	0,486
Insetic 4	5	D1	0,730	0,735	0,022	3,0	0,500
		D2	0,205	0,207	0,002	1,2	1,686
Insetic 5	6	E1	0,150	0,151	0,003	2,3	0,645
		E2	1,970	1,992	0,049	2,5	0,994
Insetic 6	7	F1	0,115	0,122	0,014	11,1	1,186
		F2	0,600	0,604	0,012	1,9	0,729
		F3	0,140	0,141	0,014	10,1	0,095

¹ valor em percentagem, não relacionado com os valores esperados, médias e desvios padrão

Com os resultados anteriores verifica-se que o coeficiente de variação é praticamente sempre igual ou inferior a 3%, com a exceção de dois casos onde ronda os 10%. Nestes dois casos o valor esperado é muito reduzido, pelo que a análise é mais suscetível a variações. De acordo a diretiva SANTE/11813/2017 da Comissão Europeia^[43], o CV deve ser inferior a 20%, critério que se verifica nos resultados obtidos.

O valor crítico de t, para um grau de confiança de 95% e 4 graus de liberdade, num teste bilateral, é de 2,776.^[42] Comparando os resultados obtidos para o teste t com o valor crítico pode-se concluir que nenhum dos resultados médios obtidos é estatisticamente diferente do valor esperado. Desta forma foi possível comprovar a eficácia dos 6 métodos otimizados com amostras reais, tendo sido obtidos resultados concordantes com os valores esperados.

5.5. Procedimento de manutenção de equipamentos GC

A Colep Portugal, S.A. dá uma utilização recorrente aos equipamentos de GC, pelo que a sua manutenção autónoma é necessária. Assim, foi desenvolvido um procedimento que visa incluir boas práticas de utilização do equipamento, alguns tópicos de manutenção básica, e ainda uma listagem com problemas comuns e respetivas soluções.^[41] Abaixo encontram-se listados alguns dos tópicos cobertos por este procedimento, com vista a garantir a qualidade dos resultados e a longevidade dos cromatógrafo e componentes adjacentes:

- Utilização do equipamento:
 - Ligar o cromatógrafo cerca de 1h antes de qualquer análise;
 - Lavagem da microseringa com o solvente a utilizar;
 - Injeções apenas com solvente para limpar resíduos;
 - Utilização de um método de baixo consumo para evitar desligar o equipamento desnecessariamente;
- Manutenção básica:
 - Mudança do septo do injetor;
 - Substituição de *liners*;
 - Testes com misturas padrão de verificação;
 - Limpeza com o método apresentado na tabela 8;
- Problemas e soluções:
 - Ruído na linha de base – verificar o estado dos componentes e utilizar o método de limpeza;
 - Aparecimento de picos “fantasma” – verificar o estado do injetor e as pressões dos gases.

6. Conclusões e Propostas de Melhoria

Foram adaptados e otimizados com sucesso seis métodos de quantificação de princípios ativos em inseticidas. Cinco destes métodos apresentaram melhorias entre 55,0% e 61,1% no tempo de análise, melhorando ou não comprometendo a resolução dos picos. Um dos métodos viu o seu tempo de análise aumentar em 38,6%, mas a qualidade da separação aumentou visivelmente. Todos os métodos foram testados com amostras reais ou feitas em laboratório, dando origem a resultados estatisticamente semelhantes aos esperados. Dentro de cada método, os coeficientes de variação foram baixos, à exceção de dois princípios ativos no método Insetic 6. Esta maior variação pode ser explicada com a baixa concentração dos analitos na amostra. Apesar de tudo, todos os coeficientes encontram-se dentro dos limites teóricos estabelecidos.

Como melhoria a estes métodos foi feita a sugestão de implementar retas de calibração, bem como uma validação simples.

Foi ainda desenvolvido o procedimento de manutenção autónoma para preservar o estado dos equipamentos GC e garantir a qualidade dos resultados obtidos. Até ao momento o procedimento tem sido aplicado pelas pessoas responsáveis, porém foi feita a sugestão de sensibilizar todos os utilizadores dos equipamentos, para que todos estejam aptos a utilizá-los nas melhores condições e resolver problemas se assim for necessário.

Parte II

Desenvolvimento de um Método
FTIR, Complementar à Análise
Sensorial

1. Análise Sensorial

Com o objetivo de garantir a eficácia de limpezas de linhas e a conformidade dos produtos, a Colep Portugal, S.A. recorre à análise sensorial, nomeadamente à análise do odor de solventes de limpeza. O odor e aspeto de produtos finais são comparados com um padrão, para além das restantes análises físico-químicas. Para dar uma maior confiança ao operador na tomada de decisões, introduzir um método analítico complementar seria vantajoso.

A análise sensorial existe desde que o ser humano avalia o estado de tudo o que possa ser consumido ou usado, tal como comida, água ou abrigos. Com o crescimento dos negócios de trocas de bens esta avaliação de qualidade foi-se tornando cada vez mais importante, tal como o processo de amostragem. Estas necessidades levaram ao aparecimento de avaliações e consequentemente de avaliadores especializados no início do séc. XX.^[44] É normalmente descrita de acordo com a definição dada pelo *Institute of Food Technology*, como sendo um método científico usado para evocar, medir, analisar e interpretar as respostas perante produtos através dos sentidos da visão, olfato, palato e audição.^[45]

O termo “teste organolético” foi introduzido em 1979 por Pfenninger, representando uma avaliação qualitativa, mas supostamente objetiva, de propriedades de produtos, como sabor, odor e tato, por exemplo.^[46] Na realidade, este tipo de avaliação pode dividir-se em dois tipos: subjetiva e objetiva. Por natureza, estes testes são normalmente bastante subjetivos, pelo que as interpretações de cada analista estão sujeitas a variáveis diferentes. Esta variabilidade permite um estudo do desempenho de um produto em condições reais do consumidor. Porém, é ainda possível obter resultados objetivos, sendo necessária a utilização de um painel de analistas treinados para avaliar determinadas características num produto.^[44,45] Assim, combinando estes dois tipos de análise, o produto está a ser testado por utilizadores, cuja opinião irá refletir qualidades e defeitos presentes, e ainda é possível relacionar as propriedades sensoriais com propriedades físico-químicas. A utilização deste tipo de análise permite um teste com uma excelente relação custo-benefício, reduzindo o risco de fracasso de um produto.^[45]

Para que a análise sensorial seja uma ferramenta a usar com sucesso, é necessário que sejam definidos objetivos claros e delinear uma estratégia robusta. O treino adequado é essencial, bem como estudos estatísticos para assegurar os resultados. A atitude dos analistas e coordenadores é também uma peça fundamental,

sendo necessária disponibilidade e dedicação para que toda a equipa funcione corretamente.^[45]

1.1. Odor

A análise do odor está diretamente relacionada com as moléculas detetadas pelo ser humano ao nível dos cílios recetores na mucosa nasal (Fig. 21). Para que um odor ou um aroma sejam detetados, é necessária a presença de moléculas voláteis transportadas pelo ar até ao nariz ou boca. Caso cheguem pelo nariz, denomina-se odor, caso cheguem pela boca, aroma.^[45] A quantidade de compostos voláteis que são libertados de um produto varia com a natureza do mesmo, e ainda com a temperatura, sendo que existe uma variação exponencial com a mesma. A volatilidade varia ainda com a superfície onde a amostra se encontra.^[44]

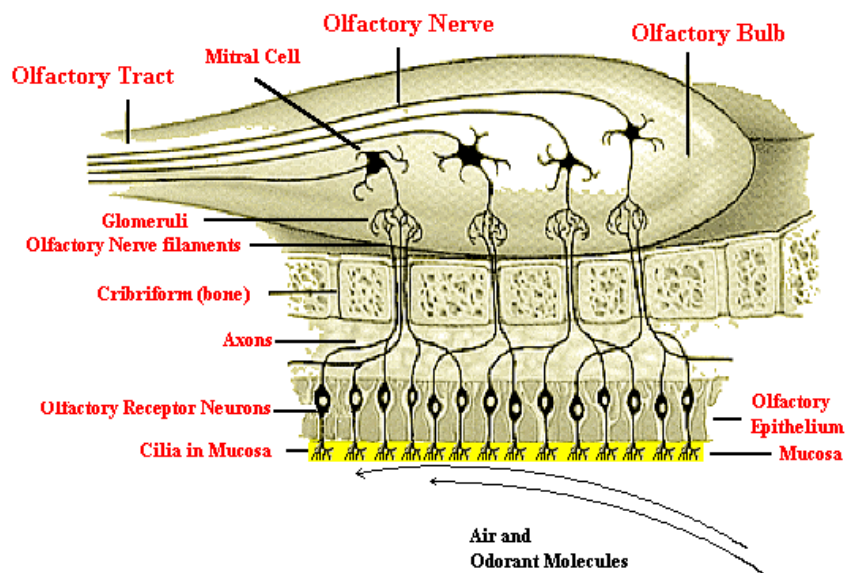


Fig. 21. Representação de uma mucosa nasal.^[47]

Devido à enorme sensibilidade do nariz humano, existem milhares de odores para os quais a análise sensorial consegue ser mais sensível do que os melhores métodos de cromatografia gasosa.^[44] Apesar disto, muitos odores podem causar uma saturação do local onde o estímulo é provocado, reduzindo assim a capacidade de deteção de um odor particular. Apesar de a anosmia (perda total do olfato) ser um fenómeno raro, a sensibilidade reduzida a algum odor particular é um caso comum.^[48] Deste modo, analistas de odor devem ser testados para a sua sensibilidade perante os odores em estudo antes de serem treinados para formar um painel.

Existem cerca de 17000 substâncias voláteis, sendo que um odor pode ser composto por várias.^[44,45] Consoante a volatilidade, existem notas que são imediatamente identificadas e outras apenas passado algum tempo. Estas notas são denominadas de topo, médias ou de base, consoante a sua volatilidade (decrecente pela ordem apresentada aqui). A descrição destes odores é bastante complexa, uma vez que um odor pode ser identificado com uma substância ou então com uma categoria. Porém, uma descrição pode ser usada para mais do que um composto, o que torna esta avaliação muito difícil de “traduzir”.^[45] Assim, o treino sensorial é uma ferramenta necessária para que se possa afunilar e uniformizar as descrições dadas pelos analistas, de forma a ir ao encontro do objetivo do projeto. Mesmo com analistas treinados, a variabilidade continua presente, pelo que um painel deve ter sempre o maior número de analistas possível, de modo a serem representativos da população em geral.^[44]

1.2. Condições de análise

De forma a criar uma igualdade de circunstâncias para todos os analistas, as análises devem ser feitas num espaço dedicado e preparado para tal. Dentro deste tópico deve ser realçada a escolha de um espaço sem cores fortes e com iluminação pouco intensa de modo a minimizar distrações e alterações visuais nas amostras. A sala de odor deve ter uma circulação constante de ar, que deve ser filtrado, e a temperatura e humidade controladas. Este espaço deve ser dedicado apenas à análise sensorial, sendo que a preparação e armazenamento de amostras deve ser feito noutra local, evitando assim contaminações. As amostras devem ser preparadas em material de vidro ou plástico, e devem ser apresentadas de forma codificada. No caso da análise de odor, os recipientes devem ser opacos ou então tapados com algum material inerte. A temperatura das amostras aquando da análise deve ser igual.^[44]

1.3. Treino Sensorial

Esta metodologia apresentada para um treino sensorial é baseada no trabalho de Meilgaard *et al.*^[44], que por sua vez se baseou nas normas ASTM STP 758 (1981)^[49] e ISO 8586 (1993)^[50].

Tal como foi referido anteriormente, os analistas, como instrumentos de medição, estão sujeitos a variabilidades em si, e entre si, bem como a tendências. Para além do que já foi referido, para minimizar estes efeitos, as análises devem ser repetidas sempre que possível, e devem ser estabelecidas regras a seguir, nomeadamente em relação ao método de análise.^[44]

Consoante o objeto de análise, o teste sensorial deve ser adaptado de forma a satisfazer o objetivo do projeto.^[45] Em primeiro lugar, o objetivo deve ser bem definido e todos os critérios devem ir de encontro ao mesmo. De seguida, deve ser estabelecida uma metodologia de análise, consoante o produto a analisar e o orçamento. Esta metodologia deve incluir o modo de apresentação de amostras, que pode ser feito com um dos seguintes testes: teste triangular (selecionar a amostra diferente num conjunto de 3), teste duo-trio (comparação de duas amostras com um padrão e seleção da diferente), ou teste de comparação emparelhada (comparação direta com um padrão).^[51] Devem ainda ser definidos critérios de aceitação que devem ser mantidos ao longo dos treinos, sendo possível a sua adaptação perante problemas revelados nas sessões.^[45]

Uma vez definidos os critérios referidos, é necessária a seleção de possíveis analistas para serem treinados. É feita uma pré-seleção que deve ter em conta a disponibilidade da pessoa e problemas de saúde que possam afetar os sentidos. Após esta fase, deve ser feita uma triagem para a sua capacidade de discriminação dos atributos em estudo. Nesta fase devem ser efetuados testes de correspondência, deteção e discriminação, e ainda de utilização de escalas de intensidade. Existem testes de identificação de odores (SIT, *Smell Identification Test*, e OCIT, *Odor Component Identification Test*, por exemplo) que são também excelentes critérios de pré-seleção. Após esta fase, os candidatos aprovados devem ser submetidos ao treino sensorial.^[51]

Aquando das sessões práticas, os analistas devem respeitar as regras impostas, nomeadamente não usar cosméticos perfumados, não fumar ou comer 30 minutos antes e informar o coordenador do projeto caso algum problema possa afetar o treino. Durante as primeiras sessões devem ser ensinados os procedimentos corretos para a análise sensorial em questão, como por exemplo, cheirar levemente uma fragrância numa análise de odor. Após esta adaptação devem ser introduzidas amostras dos produtos em estudo, com um grau de dificuldade baixo, de forma a explicar aos analistas o que devem ter em consideração no âmbito do projeto. Nesta fase deve ser introduzida também a terminologia indicada para as descrições. Nas fases seguintes o grau de dificuldade deve ir aumentado gradualmente e devem ser introduzidas amostras distintas, com o intuito de manter os analistas em alerta. Durante todas as etapas o painel deve ser mantido sob controlo, pelo que ao ser verificado um desvio face ao esperado, devem ser tomadas medidas, tais como treino focado em alguma característica, ou eliminação de um analista do painel, por exemplo. No caso de testes descritivos, os critérios a aplicar devem ser mais apertados, nomeadamente ao nível do uso da terminologia adequada e diferenciação de atributos.^[44,51]

Para controlar os painéis são normalmente utilizadas ferramentas estatísticas, nomeadamente ao nível da tendência e variabilidade. Assim, são avaliados parâmetros de tendência de amostras de teste perante amostras padrão, verificando se o analista responde conforme seria esperado. Mais ainda, a variabilidade é estudada pelo desvio padrão das avaliações dadas a um número de repetições da mesma amostra. Frequentemente, são também usados testes de hipóteses. Este estudo estatístico implica a realização de um número elevado de repetições.^[45]

Ao longo de toda a fase de treinos é essencial manter o painel interessado e motivado. Este estado de espírito pode ser atingido passando a informação de que o trabalho que estão a desenvolver é importante e irá ter uma aplicação no futuro. Assim, um painel motivado irá ter um melhor desempenho, melhorando a qualidade dos resultados obtidos.^[44]

2. Espectroscopia de Infravermelho

Atualmente, a espectroscopia de infravermelho é uma das técnicas de análise mais importantes. Tem como principal vantagem o facto de praticamente qualquer amostra, em qualquer estado físico, poder ser estudada, sem que seja destruída. O desenvolvimento da instrumentação permitiu o aparecimento de novas técnicas de elevada sensibilidade, tornando possível analisar amostras sob a forma de pós, líquidos, soluções, ou até mesmo gases, numa gama de concentrações muito ampla.^[52] A técnica permite medir qualitativamente, ou quantitativamente, as interações da radiação infravermelha (IV) com a amostra. Alguns exemplos de técnicas de infravermelho são a Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), o FTIR de reflexão total atenuada (FTIR-ATR), o FTIR de reflexão difusa ou espectroscopia Raman. Os resultados são apresentados sob a forma de um espectro da energia absorvida ou emitida em função da energia, frequência, comprimento ou número de onda da radiação.^[53]

A espectroscopia de infravermelho baseia-se na região do infravermelho do espectro eletromagnético. Esta região foi descoberta por Friedrich William Herschel^[54] em 1800. No seu trabalho, Herschel usou um prisma de vidro para que a radiação se decompusesse nas várias cores do espectro visível. O seu objetivo era estudar os efeitos térmicos ao longo do espectro. Nas medições de controlo reparou que na região após a radiação vermelha, ainda se verificava presença de calor radiante. Porém, apesar de provar a existência de radiação para além do visível, Herschel não continuou com esta investigação. Só em 1882 Abney e Festing^[55] se interessaram pelo tema, tendo obtido

espectros de absorção de radiação infravermelha para mais de 50 compostos. Conseguiram relacionar a presença de algumas bandas de absorção com a presença de certos grupos orgânicos nas moléculas analisadas. Dando continuidade ao trabalho anterior, Willem Henri Julius^[56], em 1892, apresentou o espectro de 20 compostos orgânicos, tendo concluído que os grupos metilo absorviam a radiação a comprimentos de onda característicos. Estas investigações continuaram, e em 1903 William Weber Coblentz^[57] iniciou um estudo que lhe permitiu catalogar centenas de espectros de compostos orgânicos e inorgânicos.^[53]

A aquisição de espectros era um processo muito complexo, sendo necessário construir e calibrar o próprio instrumento e respetivos componentes. A aquisição de um único espectro poderia demorar entre 3 e 4 horas.^[53] Assim, a evolução da espectroscopia de infravermelho foi lenta, até que, em 1944, surgiu um dos primeiros espectrofotómetros comerciais, o Model 12 da PerkinElmer.^[52,58] Desde então o desenvolvimento dos equipamentos prosseguiu, sendo que em 1957 a mesma empresa comercializou um espectrofotómetro com um custo mais reduzido.^[58] Pelo meio, em 1949, Peter Fellgett obteve o primeiro espectro com transformada de Fourier^[59], porém tratava-se de um processo complexo e demorado, apenas ao alcance de grupos de investigação com muitos recursos.

O maior marco na evolução da espectroscopia de infravermelho foi a introdução da transformada rápida de Fourier em 1965, por Cooley e Tukey^[60], que veio agilizar o processo de aquisição de um espectro infravermelho. Este algoritmo melhorou drasticamente a qualidade dos resultados, minimizando o tempo de aquisição necessário. Juntamente com a evolução do poder computacional, aliar o FTIR com um computador veio trazer ainda mais melhorias. Foi em 1976 que a PerkinElmer comercializou o primeiro equipamento completamente controlado por computador, sendo ainda hoje esta a base da espectroscopia de infravermelho.^[52,58] O princípio base de funcionamento pouco se alterou desde então, tendo sido apenas otimizado. Assim, tem sido dada maior importância ao melhoramento da qualidade dos resultados e também à miniaturização e portabilidade dos equipamentos.^[61]

2.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os átomos e moléculas não são estáticos pois vibram em torno das suas posições de equilíbrio, qualquer que seja o seu estado físico. As vibrações dependem das massas dos átomos, comprimento e força das ligações, que são características de cada ligação. Estas vibrações ocorrem em frequências específicas dentro da gama de

$1,20 \times 10^{13}$ Hz a $1,20 \times 10^{14}$ Hz. Qualquer fonte de energia com esta frequência, como a radiação, por exemplo, é capaz de intensificar estas vibrações. Este intervalo corresponde à região do infravermelho no espectro eletromagnético, representado na Fig. 22.

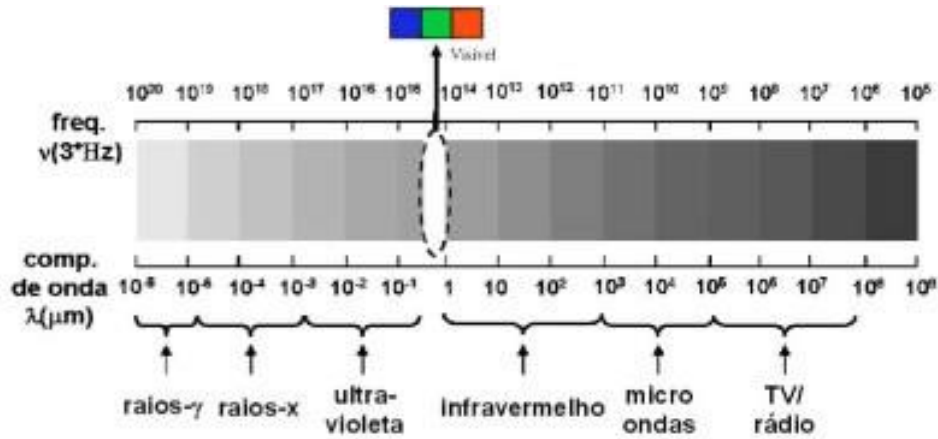


Fig. 22. Espectro eletromagnético da radiação.^[62]

Tal como foi referido, a região do infravermelho corresponde ao intervalo de frequências da radiação que pode então estimular as vibrações moleculares. Para que a molécula absorva a radiação IR é necessário que esta possua momentos dipolares, ou seja, alcenos ou alcinos simétricos ou moléculas diatómicas simétricas não absorvem este tipo de radiação.^[63] Alguns tipos de vibrações moleculares encontram-se representados na Fig. 23.

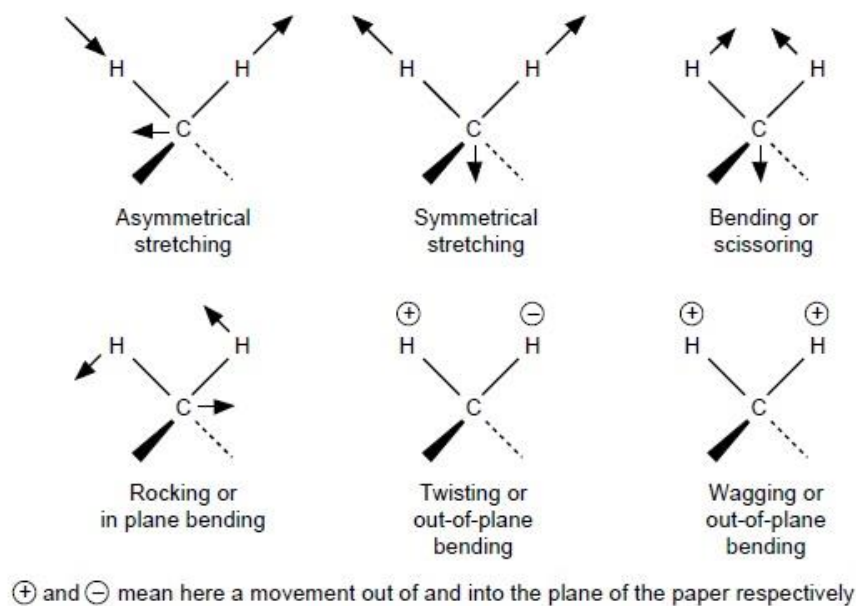


Fig. 23. Exemplos de vibrações moleculares.^[63]

As vibrações *stretching* implicam um aumento/diminuição do comprimento da ligação, enquanto que as *bending* provocam uma mudança no ângulo da ligação. Ao intensificar estas vibrações, a radiação é absorvida pelas moléculas como fonte de energia, sendo esta insuficiente para causar mudanças em níveis de energia. Esta absorção de radiação é o princípio base da espectroscopia de infravermelho, sendo que as diferenças entre a radiação emitida e a detetada permitem analisar a composição da amostra. A análise permite verificar a presença de certas ligações, nomeadamente de grupos funcionais característicos.^[64]

A região do infravermelho conhecida como “mid-IR” localiza-se entre os 4000 e 400 cm^{-1} , e é a mais comum nas análises FTIR, sendo que aqui estão incluídas as vibrações características de praticamente todos os grupos funcionais existentes. Mais ainda, as bandas são estreitas e de elevada intensidade, facilitando a interpretação dos resultados.^[65] É ainda muito comum a utilização do NIR (near-infrared spectroscopy), que usa a região do infravermelho superior a 4000 cm^{-1} . Esta última tem por base a presença de sobretons (*overtone*), ou seja, a combinação de frequências de vibrações. Apesar das vantagens do NIR, tais como a possibilidade de usar a água como solvente e os menores custos de materiais, as bandas presentes nesta região tendem a ser de intensidade mais baixa e a sua interpretação é mais difícil face à do “mid-IR”.^[65] Assim, para este trabalho, a região a utilizar será a do “mid-IR”, devido à sua eficácia e maior simplicidade.

Como já foi mencionado, para átomos e ligações semelhantes, as vibrações ocorrem a números de onda idênticos, pelo que existem dados tabelados para vibrações características de grupos funcionais.^[64] Existem tabelas de correlação para a região do “mid-IR”, que relacionam o número de onda com a vibração característica, tal como é representado na Fig. 24, onde ν representa vibrações *stretching* e δ vibrações *bending*.

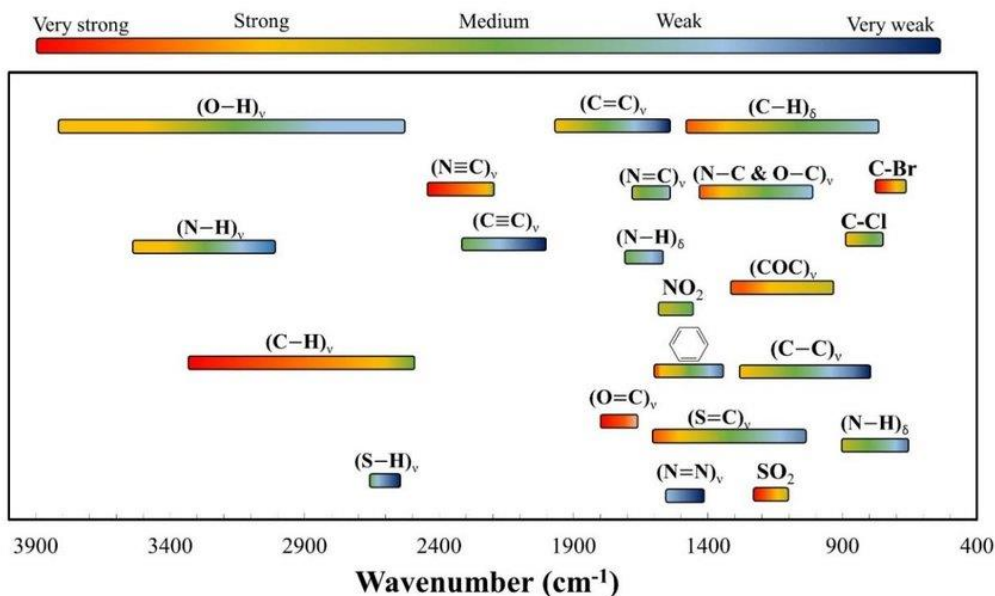


Fig. 24. Exemplo de uma tabela de correlação para FTIR.^[66]

As técnicas convencionais de infravermelho fazem a radiação passar por um monocromador de forma a selecionar a frequência a analisar no momento. Pelo contrário, no FTIR atual é usado um único feixe de radiação infravermelha, pelo que todas as frequências são analisadas simultaneamente. A interferência da radiação é feita num interferómetro (normalmente o interferómetro de Michelson), sendo depois detetada num dos vários tipos de detetores, dando origem a um interferograma (Fig. 25).

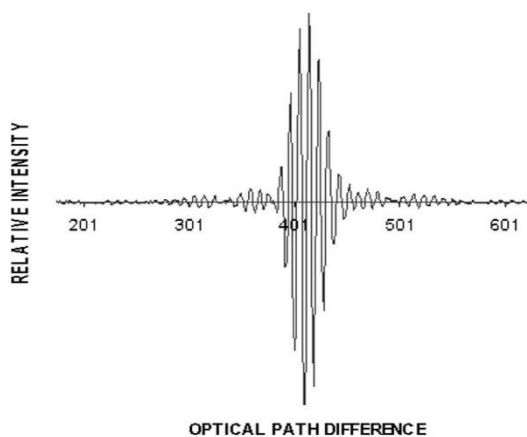


Fig. 25. Exemplo de um interferograma.^[67]

Os dados são depois interpretados por um computador usando um algoritmo matemático, a transformada rápida de Fourier, cujas equações se encontram representadas abaixo.^[63,64]

$$I(\delta) = \int_0^{+\infty} B(\bar{\nu}) \cos(2\pi\bar{\nu}\delta) d\bar{\nu} \quad (6)$$

$$B(\bar{\nu}) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\delta) \cos(2\pi\bar{\nu}\delta) d\delta \quad (7)$$

Nas funções, a intensidade da radiação a chegar ao detetor, $I(\delta)$, é relacionada com a densidade da potência a um número de onda específico, $B(\bar{\nu})$. A equação 6 mostra a variação na densidade da potência em função da diferença no percurso da luz no tempo, representando um padrão de interferência. A equação 7 mostra a variação da intensidade em função do número de onda.^[52,64] Assim é possível obter um espectro de mais fácil interpretação, que são normalmente apresentados na forma de percentagem de transmitância em função do número de onda, tal como é representado no exemplo da Fig. 26.

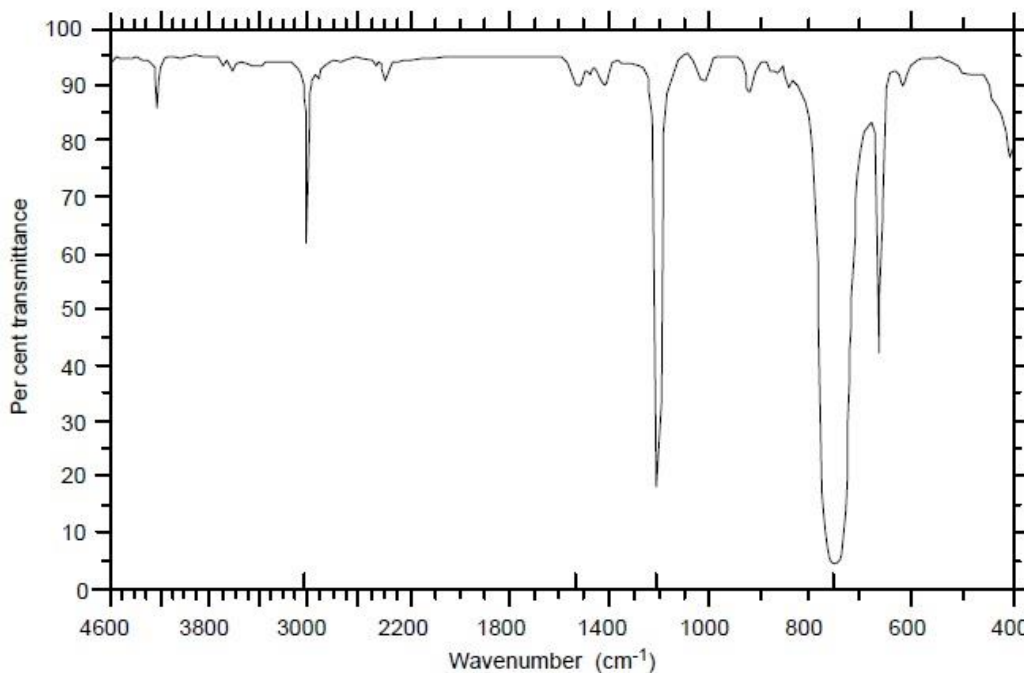


Fig. 26. Exemplo de um espectro FTIR de CHCl_3 .^[63]

Nos espectros FTIR, a região entre 3500 cm^{-1} e 1600 cm^{-1} é conhecida como a região dos grupos funcionais, e a região entre 1400 cm^{-1} e 600 cm^{-1} é denominada região *fingerprint*. No espectro acima, e com recurso aos dados da Fig. 24, conclui-se a presença da ligação C-H *stretching* a 3020 cm^{-1} , C-H *bending* a 1220 cm^{-1} e C-Cl *stretching* a 765 cm^{-1} , o que é característico da molécula analisada, o clorofórmio.^[63]

Através de interpretações de espectros feitas da mesma forma é possível identificar a presença de múltiplas ligações ou grupos funcionais, o que permite

confirmar se a amostra em análise é a correta, detetar produtos contaminantes, conhecer estruturas moleculares, entre muitas outras possibilidades.

2.2. Equipamento

Os equipamentos FTIR mais comuns são geralmente compostos por seis partes básicas: a fonte de radiação, interferómetro, detetor, amplificador de sinal, conversor de sinal e sistema de dados.^[52] Uma representação esquemática de um equipamento FTIR encontra-se na Fig. 27.

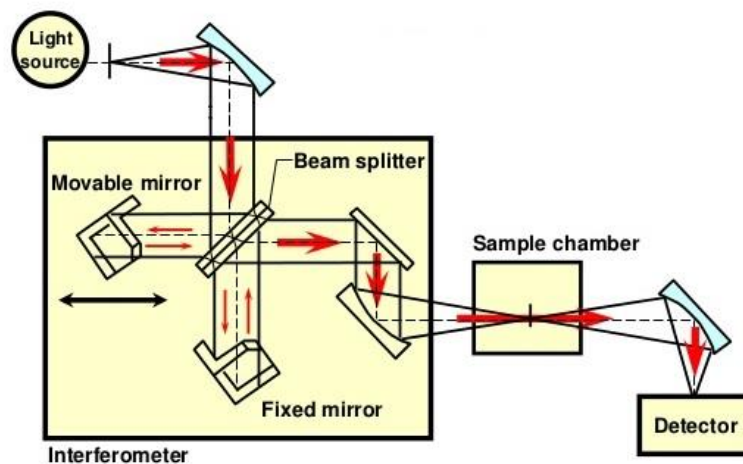


Fig. 27. Esquema de um equipamento FTIR com o interferómetro de Michelson.^[68]

A fonte de radiação para um equipamento FTIR é normalmente escolhida entre duas opções: Global ou lâmpada de Nernst, sendo que ambas emitem radiação na zona do “mid-IR”. A Global é uma lâmpada com um filamento de carbeto de silício (SiC), enquanto a de Nernst (Fig. 28) usa um filamento cerâmico levado à incandescência.^[52]

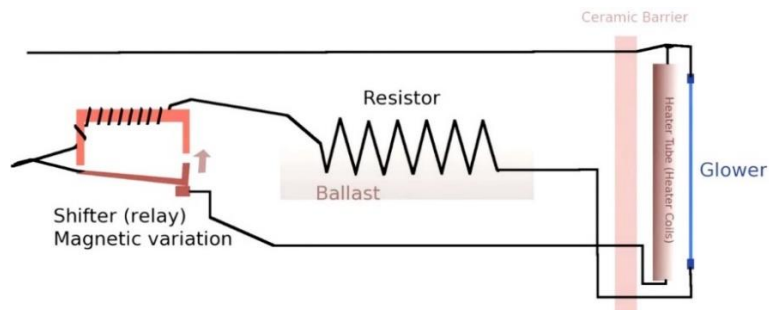


Fig. 28. Esquema de uma lâmpada de Nernst.^[69]

Caso seja necessário usar o “far-IR” é usada uma lâmpada de mercúrio de alta pressão, e para o “near-IR” são usadas lâmpadas de tungsténio-halogénio.^[52]

Relativamente ao interferómetro, o mais comum nos equipamentos FTIR é o interferómetro de Michelson, representado na Fig. 29.

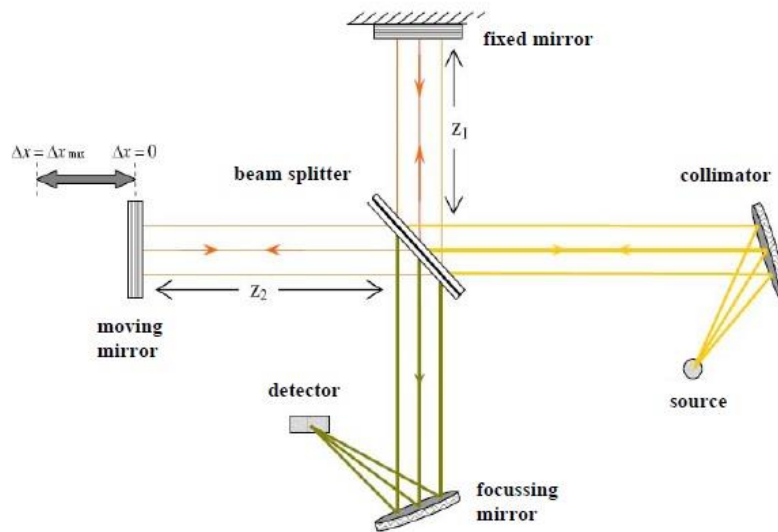


Fig. 29. Esquema do interferómetro de Michelson.^[70]

Este interferómetro consiste em dois espelhos planos perpendiculares, sendo que um deles pode mover-se numa direção perpendicular ao seu plano, originando percursos com diferentes distâncias relativamente ao *beam splitter*, o que causa diferentes interações entre as ondas eletromagnéticas após se recombinarem. Este *beam splitter* é um filme semi-refletivo que bissecta os planos dos dois espelhos mencionados. O material do qual este é feito depende da região do infravermelho se pretende analisar. Alguns exemplos são brometo de potássio ou iodeto de cério revestidos com germânio ou óxido de ferro, para as regiões do “mid-IR” e “near-IR”, e filmes orgânicos finos, como o polietileno tereftalato (PET) para o “far-IR”. Idealmente, o *beam splitter* divide a radiação em 50% de reflexão e 50% de transmissão. O colimador tem como função direcionar os feixes de radiação, orientando-os paralelamente entre si.^[52,71]

Para detetar a radiação que se recombina, ou seja, após sofrer interferências, é necessário o uso de um detetor. Na região do “mid-IR” são usados dois tipos de detetor: piroelétrico de sulfato de triglicina deuterada (DTGS), representado na Fig. 30, ou mercúrio cádmio telureto (MCT), sendo usados para análises de rotina ou trabalhos com maior sensibilidade, respetivamente. Para funcionar corretamente, este último necessita de temperaturas muito baixas, semelhantes às do azoto líquido.



Fig. 30. Exemplo de um detetor DTGS para FTIR na região “mid-IR”.^[72]

Relativamente ao “near-IR”, os detetores mais comuns são fotocondutores de sulfureto de chumbo (PbS). No “far-IR” são usados detetores de germânio (Ge) ou antimoneto de índio (InSb), que funcionam a temperaturas semelhantes à do hélio líquido.^[52,71]

O amplificador, tal como o nome indica, tem como função amplificar o sinal proveniente do detetor para ser convertido de analógico em digital pelo conversor. Após esta conversão, o sinal digital chega ao sistema de dados para ser aplicada a transformada de Fourier. Os sistemas de dados, como os computadores, são uma peça fundamental do FTIR moderno, uma vez que, para além das transformações matemáticas do sinal, são capazes de controlar o equipamento FTIR e ajustar os seus parâmetros. Permitem ainda a programação de comandos para facilitar análises complexas, e ainda a manipulação dos espetros por forma a melhorar a qualidade dos resultados.^[52]

3. Limpezas

Para que os produtos concebidos sejam de qualidade elevada, é necessário que o estado de higiene do local de produção e enchimento seja o indicado. Estas regras de boas práticas são estabelecidas em normas, como a que é seguida na Colep Portugal, S.A., a ISO 22716:2007.^[73] De acordo com a IUPAC, uma superfície limpa é uma superfície sem quaisquer contaminações visíveis pelo método em uso.^[74]

A limpeza de produtos de base não aquosa, como não está sujeita à presença de microorganismos, pode ser dividida em três etapas gerais: remoção de resíduos grosseiros, limpeza, e enxaguamento do solvente de limpeza. A primeira etapa destina-se a efetuar uma purga dos resíduos do produto anterior, removendo assim os resíduos maiores. De seguida, é efetuada a limpeza com o solvente de limpeza indicado, com o objetivo de remover os restantes resíduos, nomeadamente nas superfícies e locais mais difíceis de alcançar. Este solvente deve ser capaz de dissolver os resíduos, facilitando

a sua eliminação. Estando o solvente e os resíduos removidos, a limpeza é finalizada com o enxaguamento do solvente de limpeza, removendo-o, e preparando as superfícies para receber o produto seguinte. Este enxaguamento é feito com o produto base ou solvente do produto seguinte.^[75]

Cumpridos estes requisitos, para avaliar se uma limpeza foi eficaz, a análise do solvente de limpeza permite verificar se existem contaminações com os produtos que se encontravam antes nos tanques ou linhas. Este solvente deve ser amostrado na última saída possível, ao longo do percurso, assegurando assim que o solvente passou por todos os pontos do sistema. Através da análise deste produto é possível detetar contaminações e, caso a limpeza não se revele eficaz, o processo pode ser repetido, evitando assim gastar solventes no enxaguamento de uma limpeza a repetir. Esta monitorização das limpezas dá às empresas uma segurança extra, garantindo que os seus produtos têm um risco baixo de sofrer contaminações cruzadas.

3.1. Produtos a analisar

Nesta parte do trabalho, os produtos a analisar serão solventes de limpeza, provenientes de limpezas em tanques de formulação e linhas de enchimento. As limpezas dos produtos a serem estudados são efetuadas com o álcool isopropílico, IPA, um produto indicado para ser usado como solvente de limpeza. A sua fórmula de estrutura encontra-se representada na Fig. 31.

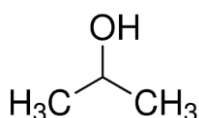


Fig. 31. Fórmula de estrutura do álcool isopropílico (IPA).

Na molécula do IPA encontram-se presentes quatro tipos de ligações cujas vibrações podem ser detetadas por FTIR. Estas ligações são: C-H, C-C, C-O e O-H. Assim, seria de esperar a existência de bandas características destas ligações, nos intervalos apresentados na tabela de correlação da Fig. 24.

Os contaminantes do IPA, que não serão mencionados visto estarem incluídos na formulação dos produtos, possuem também ligações cujas vibrações são detetadas no FTIR. Algumas ligações são semelhantes às do produto de limpeza, porém existem outras que não ocorrem em números de onda coincidentes com os do IPA, permitindo que estes sejam detetados. Estas diferenças nos números de onda são a base do trabalho desenvolvido.

4. Parte Experimental

4.1. Reagentes e Material

Os reagentes utilizados nesta parte do trabalho destinaram-se à preparação de soluções, em laboratório, de solvente de limpeza contaminado. Na preparação das soluções representativas de contaminações foi usado o reagente da Tabela 15.

Tabela 15. Reagentes utilizados na preparação de soluções.

Reagente	Marca
Álcool Isopropílico (IPA) Grau cosmético (> 99,9%)	Shell + Exxon

Os produtos contaminantes foram retenções de *bulks* aprovadas e dentro do prazo de validade. Estes *bulks* são produtos feitos na Colep Portugal, S.A., nomeadamente antitranspirantes (APDs) e desodorizantes (Deos), cujas formulações não serão mencionadas.

As amostras foram analisadas por FTIR com células de NaCl Specac. Para preparar as soluções foram usados frascos plásticos estéreis de 120 mL, pipetas de *Pasteur* de 3 mL e seringas descartáveis de 5 mL.

4.2. Equipamentos

Nesta parte do trabalho foi utilizado um espectrómetro de infravermelho (FTIR) Nicolet Avatar 360 FT-IR, representado na Fig. 32.

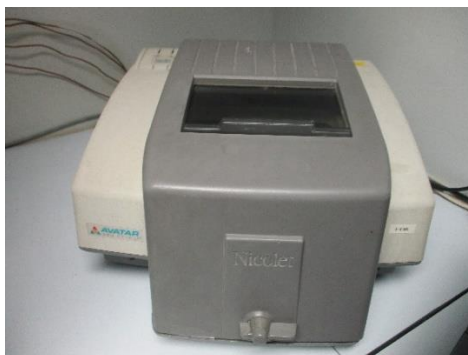


Fig. 32. Espectrómetro de Infravermelho Nicolet Avatar 360 FT-IR.

Este equipamento encontra-se numa sala com temperatura e humidade controladas (temperatura entre 21 °C e 24 °C, e humidade inferior a 60%). O *software* de aquisição de dados usado foi o OMNIC na versão 7.0.

Para a preparação de soluções foi utilizada uma balança analítica Mettler Toledo AG204 para pesagens do solvente de limpeza e produto contaminante.

4.3. Procedimento Experimental

As soluções de solvente de limpeza contaminado foram preparadas por medição de massas de solvente de limpeza e produtos contaminantes. Os produtos contaminantes foram pesados no frasco de plástico estéril, medindo uma massa para obter a concentração final desejada e perfazendo o total com IPA. As concentrações preparadas variaram entre 10% e 0,1%, com diversos produtos contaminantes dentro da gama dos APDs e Deos. A massa final da solução foi de 50 g, e as massas medidas de cada um dos componentes encontram-se representadas na Tabela 16.

Tabela 16. Resumo das massas medidas para a preparação de soluções de IPA contaminado.

Concentração (%)	Massa de <i>bulk</i> (g)	Massa de IPA (g)
10	5,0000	45,0000
5	2,5000	47,5000
2	1,0000	49,0000
1	0,5000	49,5000
0,7	0,3500	49,6500
0,5	0,2500	49,7500
0,2	0,1000	49,9000
0,1	0,0500	49,9500

Os frascos com as soluções foram guardados no frigorífico, tendo sido retirados atempadamente para estabilizarem à temperatura ambiente, aquando das análises a realizar.

A preparação das amostras para análise FTIR foi feita de acordo com um procedimento interno, baseado na norma ASTM E1252-98 (2013).^[76] As análises FTIR foram feitas com 32 *scans* e resolução 4.

5. Resultados e Discussão

A Colep Portugal, S.A. produz inúmeros produtos distintos, entre os quais os antitranspirantes (APDs) e os desodorizantes (Deos). Dentro destas duas classes existem ainda vários produtos que, apesar de terem matrizes semelhantes entre si, não são exatamente iguais e possuem diferentes perfumes. Devido à enorme diversidade

de produtos, é difícil dedicar um tanque de formulação ou uma linha de enchimento a apenas um. É necessário garantir a eficácia das limpezas para que não ocorram contaminações cruzadas. Desta forma é assegurado que os produtos finais cumprem os padrões de qualidade da empresa, e os exigidos pelo cliente.

Para garantir a eficácia das limpezas, o controlo dos solventes é feito por análise sensorial. Os solventes são analisados pelo odor e, quando possível, pelo aspeto visual. Aquando do estágio, novos procedimentos de limpeza, com IPA, estavam a ser validados, o que motivou o desenvolvimento do método FTIR e a qualificação de analistas de odor. A análise de odor, tal como já foi referido, é uma ferramenta muito útil na deteção de contaminações por identificação de odores não característicos no solvente de limpeza. Este tipo de análise permite detetar contaminações numa percentagem extremamente reduzida, porém está sujeita a alguma variabilidade e pode ser por vezes dependente da sensibilidade do analista.

Para minimizar esta variabilidade associada e complementar os resultados obtidos por análise de odor, foi desenvolvido um método FTIR que visa detetar contaminações presentes no solvente de limpeza (IPA).

O solvente de limpeza (IPA) não contaminado apresenta um espetro como o da Fig. 33. Os *templates* usados para representar os espetros apresentam o espetro completo na parte superior, e uma parte da região *fingerprint* em baixo, cujo objetivo é tornar visualmente mais fácil a identificação de picos característicos.

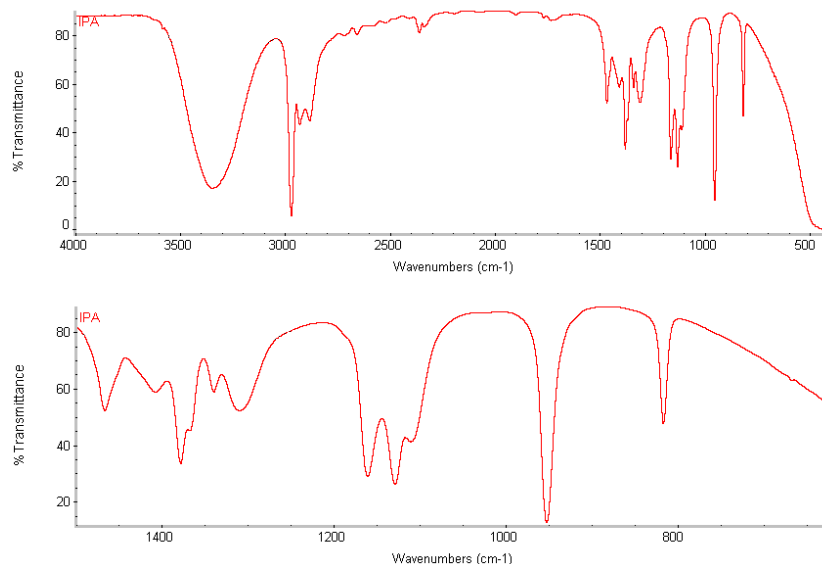


Fig. 33. Espetro de infravermelho do IPA não contaminado.

Verifica-se a presença de bandas características das vibrações da molécula do IPA, como por exemplo a banda a cerca de 3380 cm^{-1} que representa a ligação O-H, as

bandas a cerca de 2980 cm^{-1} , 1390 cm^{-1} e 820 cm^{-1} que representam as ligações C-H, a banda a cerca de 950 cm^{-1} que representam as ligações C-C, e ainda as bandas a cerca de 1150 cm^{-1} que representam a ligação C-O.

Para determinar quais os produtos contaminantes mais fáceis de detetar, foram feitos espectros das várias matérias primas que são incluídas em todos os produtos, dentro das gamas de APDs e Deos. Idealmente, o produto contaminante a ser detetado deveria ser o que se encontra em maior percentagem na fórmula do produto, ou seja, o seu solvente base. Por comparação com IPA, estes dois produtos (um base de APDs e outro base de Deos) permitem a identificação de algumas das suas bandas características. Estes produtos são o ciclopentasiloxano, no caso dos APDs, e o etanol desnaturado, no caso dos Deos. Abaixo, nas Fig. 34 e Fig. 35, encontram-se sobrepostos os espectros FTIR de IPA não contaminado e de IPA contaminado com APD e Deo, respetivamente, a 10%. Os códigos internos dos produtos contaminantes encontram-se tapados nos espectros.

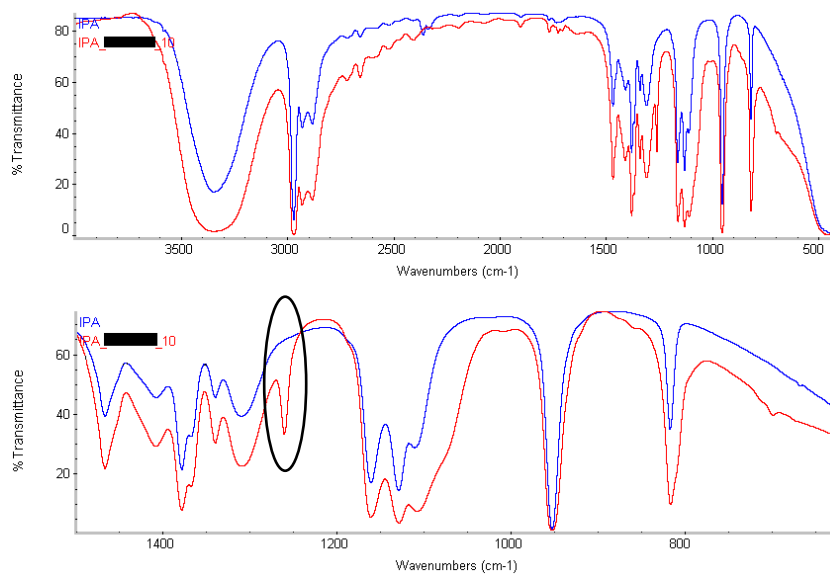


Fig. 34. Sobreposição dos espectros de IPA não contaminado e de IPA contaminado com APD a 10%.

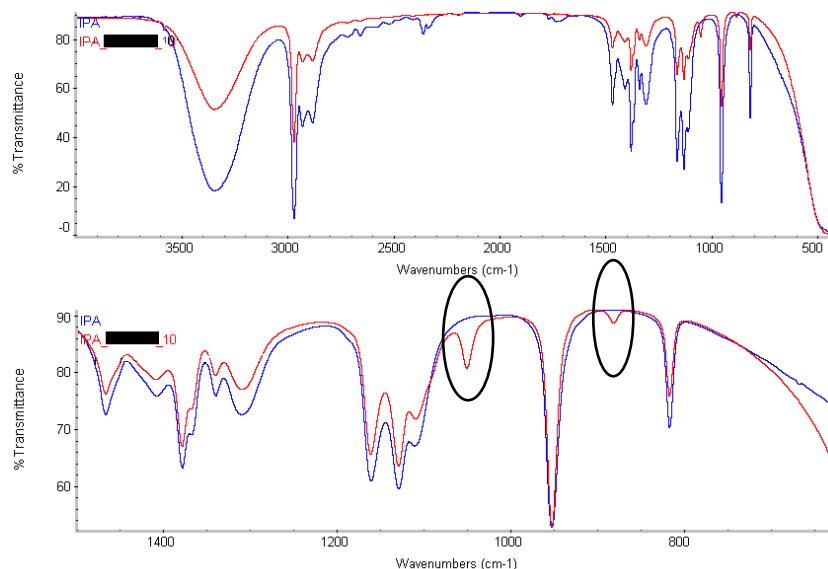


Fig. 35. Sobreposição dos espectros de IPA não contaminado e de IPA contaminado com Deo a 10%.

É então possível identificar uma banda característica do solvente de APDs a cerca de 1260 cm^{-1} , assinalada no espectro da Fig. 34. Quanto aos Deos, existem dois picos característicos, assinalados na Fig. 35, a cerca de 1050 cm^{-1} e 880 cm^{-1} .

Determinou-se então que o FTIR é capaz de detetar contaminações dos produtos base de APDs e Deos no IPA de limpeza. Uma vez que após a lavagem com o solvente de limpeza ainda será feito o enxaguamento com o produto base da produção seguinte, é considerada aceite uma contaminação igual ou inferior a 1%.

A validação deste método qualitativo foi efetuada com base nos guias RELACRE^[77] e Eurachem^[78], e ainda no trabalho de Miller & Miller^[42]. Assim, foram validados os seguintes parâmetros: especificidade, limite de deteção, robustez e repetibilidade. Mais ainda, de forma a avaliar o método, foram realizados testes de comparação com os resultados obtidos por um painel de analistas de odor qualificados.

5.1. Especificidade

Para validar o método para a sua especificidade foram efetuados grupos de produtos dentro dos APDs e Deos, consoante os seus constituintes. Foram então criados quatro grupos, dois para APDs e dois para Deos, representativos da gama de produtos. Dentro de cada grupo foi selecionado aleatoriamente um produto e foram preparadas contaminações de IPA a 10%, conforme foi descrito anteriormente. De seguida as amostras foram analisadas por FTIR, sendo que os resultados obtidos para contaminações com APDs se encontram na Fig. 36, e os resultados para contaminações com Deos na Fig. 37. Foi definido internamente que o critério de aceitação seria não

existir nenhuma outra banda num intervalo de $\pm 30 \text{ cm}^{-1}$ em redor dos picos de interesse, garantindo assim que não ocorreria qualquer interferência.

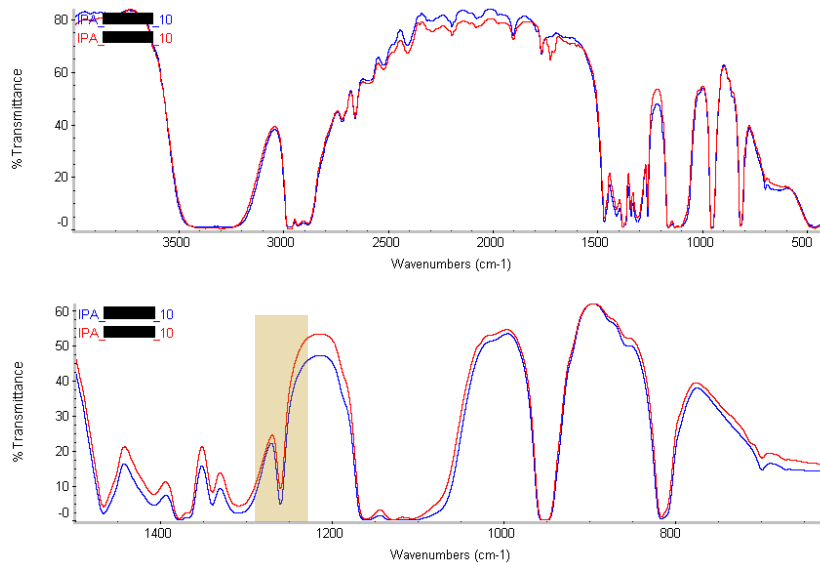


Fig. 36. Espectros FTIR das duas contaminações com APDs.

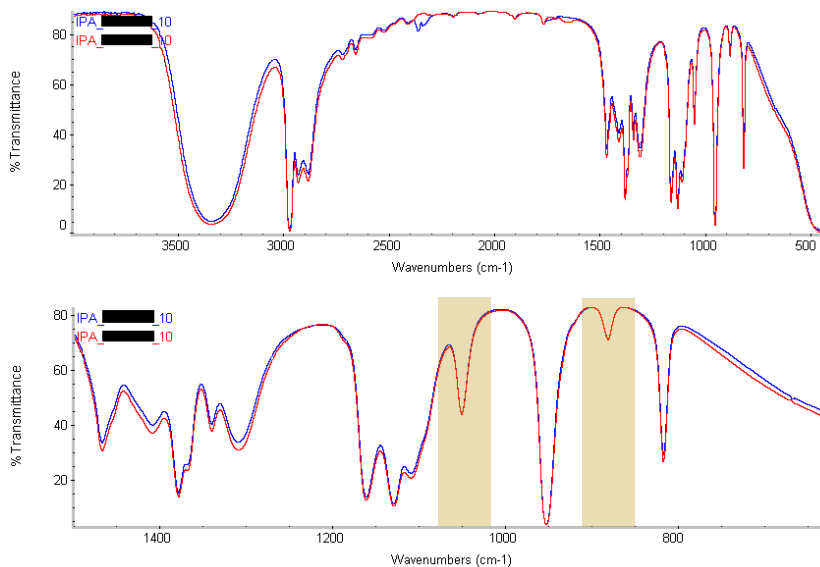


Fig. 37. Espectros FTIR das duas contaminações com Deos.

Tal como é visível nos espectros acima, não se verificam diferenças visualmente significativas entre cada um dos grupos, particularmente nas zonas dos picos de interesse, que se encontram sombreadas. Outras matrizes foram testadas dentro de cada grupo de produtos e as diferenças detetadas foram mínimas, sendo que na zona das bandas das contaminações não ocorreu qualquer tipo de interferência.

Quanto ao critério de aceitação, não se verifica a presença de qualquer outra banda no intervalo de $\pm 30 \text{ cm}^{-1}$. Desta forma, o método encontra-se validado a nível de

especificidade, não havendo qualquer interferência com os picos característicos das contaminações.

5.2. Limite de Deteção

Para validar o limite de deteção do método FTIR, foram seleccionados aleatoriamente quatro produtos contaminantes, dois APDs e dois Deos. Após esta seleção, foram feitas contaminações de IPA com os produtos, em concentrações de 10%, 5%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5% e 0,1%. As amostras foram analisadas no FTIR e os resultados para APD encontram-se na Fig. 38 e para Deo na Fig. 39.

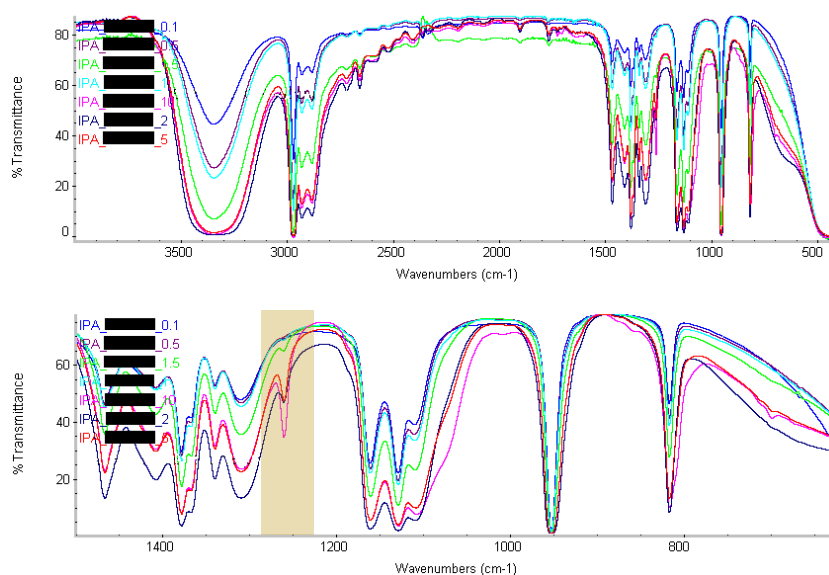


Fig. 38. Sobreposição dos espetros FTIR de IPA contaminado com APD, em concentrações de 10% a 0,1%.

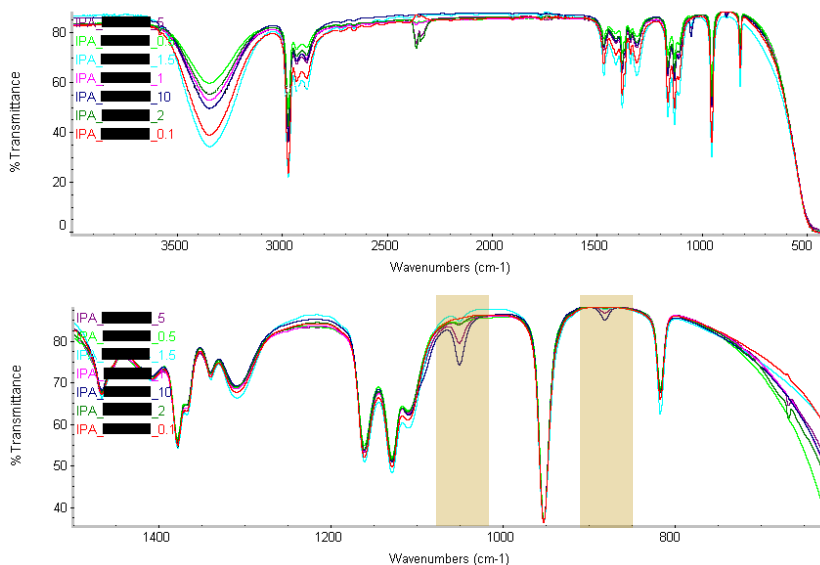


Fig. 39. Sobreposição dos espetros FTIR de IPA contaminado com Deo, em concentrações de 10% a 0,1%.

Nos espectros acima, nas zonas sombreadas, verifica-se uma diminuição no tamanho dos picos dos produtos contaminantes, acabando por se tornar praticamente indistinguíveis da linha de base. Avaliar uma contaminação visualmente introduz uma grande variabilidade, uma vez que o resultado fica sujeito à interpretação do analista. Com o intuito de eliminar esta influência do analista, foi utilizada uma função do sistema para detetar os picos. A função “Find Peaks” faz parte do *software* OMNIC, assinalando os picos com o seu número de onda. Esta função permite ainda um ajuste de sensibilidade.

A função foi então utilizada para identificar as bandas, sendo que se os picos característicos dos contaminantes estiverem assinalados com o respetivo número de onda, a amostra é considerada contaminada. Foram feitos testes com diversas sensibilidades e concluiu-se que a sensibilidade 75 permite assinalar o máximo de bandas possível, ainda sem as confundir com o ruído da linha de base ou da amostra. Mais ainda, esta sensibilidade permite obter um limite de deteção concordante com o critério de aceitação interno das amostras contaminadas.

Assim, os espectros das amostras anteriormente mencionadas foram analisados com recurso à função “Find Peaks”, tendo sido obtidos os resultados representados na Fig. 40 para APD e na Fig. 41 para Deo.

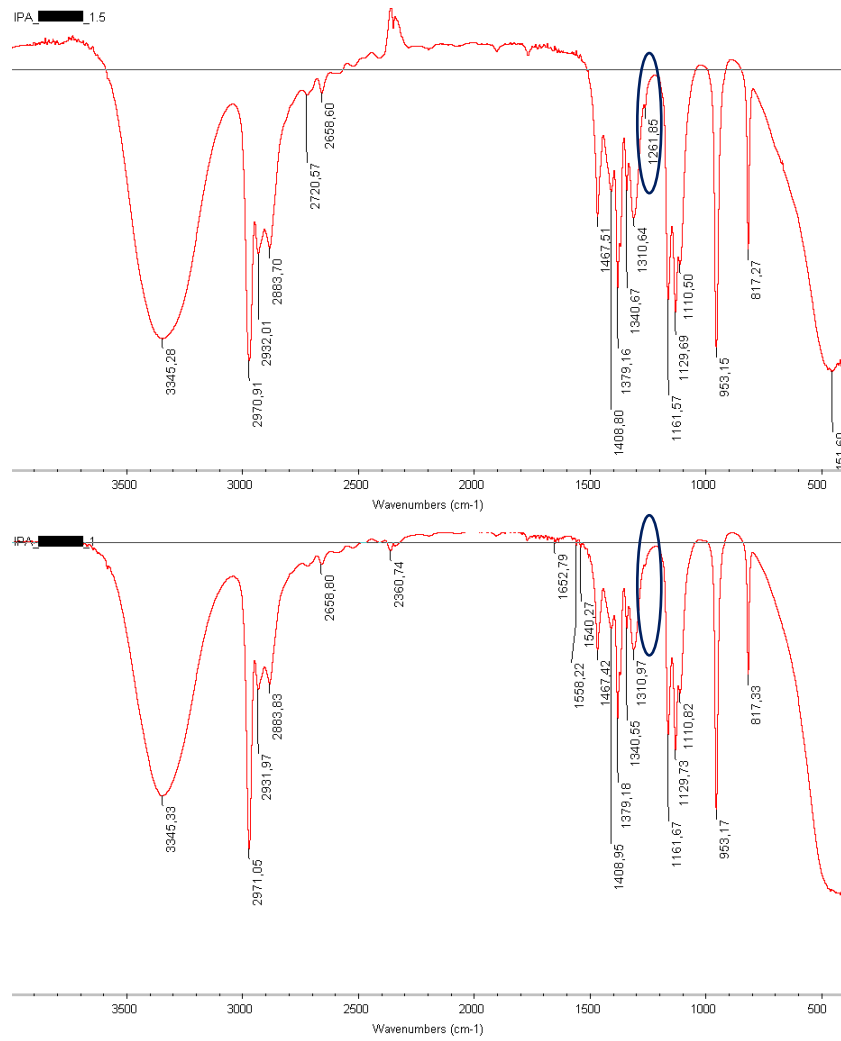


Fig. 40. Espetros FTIR na função "Find Peaks" de uma contaminação de IPA com APD, a 1,5% e 1%.

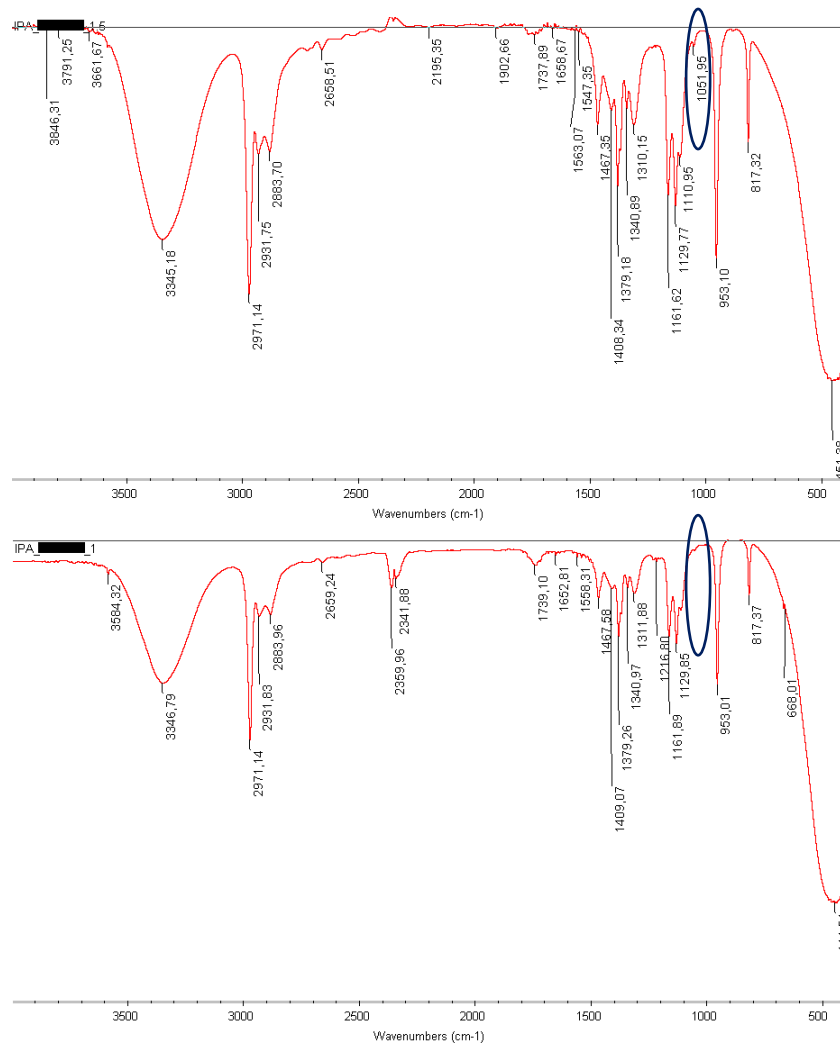


Fig. 41. Espectros FTIR na função “Find Peaks” de uma contaminação de IPA com Deo, a 1,5% e 1%.

Nos espectros acima é visível que para as concentrações de 1,5% os picos dos contaminantes encontram-se assinalados, mas o mesmo não se verifica para as concentrações de 1%. O mesmo foi verificado nas restantes amostras analisadas, tendo sido detetadas todas as concentrações iguais ou superiores a 1,5% e nenhuma abaixo o foi. Assim sendo, o limite de deteção do método FTIR é 1,5%, o que está de acordo com as especificações internas. Desta forma, o método encontra-se validado a nível de limite de deteção, tendo sido ainda eliminada a influência da interpretação do analista.

5.3. Robustez

Para validar a robustez do método foi necessário avaliar os fatores que poderiam introduzir variabilidade. As amostras a analisar serão provenientes de tanques de formulação ou linhas de enchimento, pelo que não existe qualquer tipo de preparação. A análise dos espectros será feita com recurso à ferramenta de *software* “Find Peaks”, pelo que a influência do analista neste caso não é aplicável. Assim, o único fator que

poderá ter alguma variabilidade seria a preparação da amostra nas células de NaCl. Apesar de ser feito de acordo com um procedimento padrão, existem pequenas variações que podem ter alguma influência. Desta forma, cinco analistas diferentes analisaram dois tipos de contaminações, uma de APD e uma de Deo, aleatoriamente selecionados. Dentro de cada tipo de contaminação foram feitas três concentrações diferentes: uma contaminação significativa (5%), uma contaminação no limite de rejeição que ainda deve ser detetada (1,5%), e uma contaminação mínima que seria aceite (0,5%). Seria esperado que as duas primeiras fossem sempre detetadas, e a última nunca fosse. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 17.

Tabela 17. Resultados obtidos no teste de robustez com cinco analistas diferentes.

Tipo de produto	Concentração (%)	Picos detetados? (<i>Find Peaks, Sensibilidade 75</i>)					Nº de resultados diferentes
		Analista 1	Analista 2	Analista 3	Analista 4	Analista 5	
APD	5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
	0,5	Não	Não	Não	Não	Não	0
		Não	Não	Não	Não	Não	0
		Não	Não	Não	Não	Não	0
Deo	5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
		Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
	0,5	Não	Não	Não	Não	Não	0
		Não	Não	Não	Não	Não	0
		Não	Não	Não	Não	Não	0

Com os dados anteriores verifica-se que as concentrações de 5% e 1,5% são sempre detetadas, enquanto que as concentrações de 0,5% nunca são. Mais ainda, entre os analistas, não se registou nenhum resultado diferente para a mesma amostra.

Assim, todos os resultados são concordantes entre os analistas e face ao esperado, o que valida a robustez do método FTIR.

5.4. Repetibilidade

Com o objetivo de verificar se o método FTIR origina uma resposta precisa, foi efetuado um teste de repetibilidade. Para realizar o teste foram escolhidos aleatoriamente um APD e um Deo. Foram preparadas soluções de IPA contaminado

com os produtos a 5%, 1,5% e 0,5%. Estas concentrações foram escolhidas pelos mesmos critérios apresentados para o teste de robustez. Cada solução foi analisada dez vezes, sendo que o critério de aceitação é que todas as repetições originem o mesmo resultado, sendo este de acordo com o esperado para cada concentração. Nas Fig. 42 e Fig. 43 encontram-se sobrepostos os dez espectros obtidos para as contaminações com APD e Deo, respetivamente.

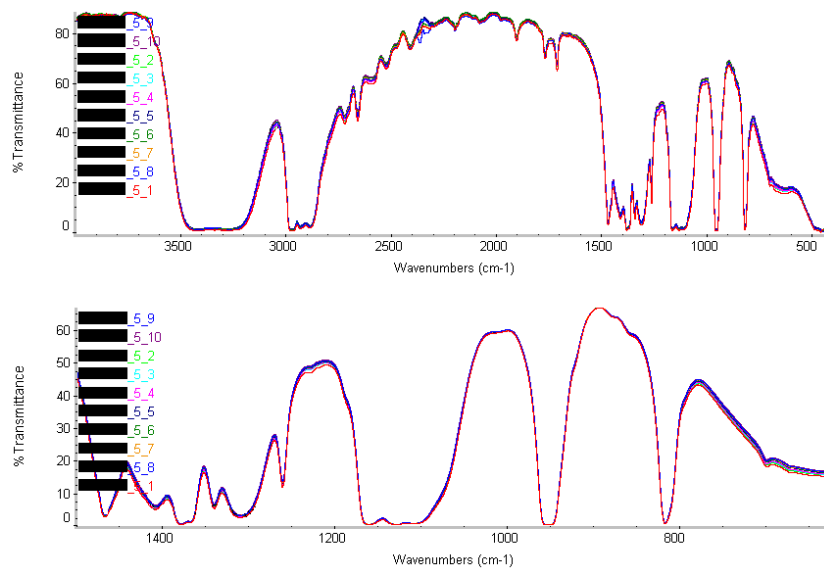


Fig. 42. Sobreposição dos espectros FTIR das dez repetições para a contaminação de IPA com APD a 5%.

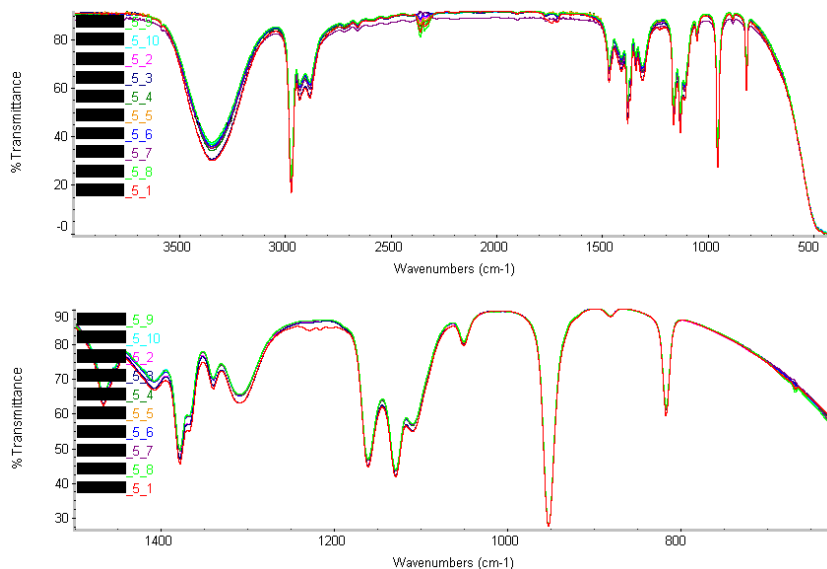


Fig. 43. Sobreposição dos espectros FTIR das dez repetições para a contaminação de IPA com Deo a 5%.

Visualmente os dez espectros são muito semelhantes, o que indica que os resultados são aparentemente também repetíveis. As restantes concentrações foram testadas e os espectros analisados pela função “Find Peaks”. Os resultados obtidos para

todas as concentrações usadas no teste de repetibilidade encontram-se apresentados na Tabela 18.

Tabela 18. Resultados obtidos no teste de repetibilidade com 10 repetições.

Tipo de produto	Concentração (%)	Picos detetados? (<i>Find Peaks</i> , Sensibilidade 75)										Nº de resultados diferentes	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
APD	5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
	0,5	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	0
Deo	5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	0
	0,5	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	0

Tal como é visível na tabela anterior, todas as concentrações originaram o resultado esperado: picos detetados a 5% e 1,5% e não detetados a 0,5%. No que diz respeito às repetições, todos os resultados foram coerentes, não se tendo verificado nenhum resultado diferente dentro de cada concentração. Assim, o método encontra-se validado para a repetibilidade.

5.5. Análise Sensorial

Sendo o objetivo do método FTIR ser aplicado como complemento à análise sensorial, os resultados obtidos foram comparados com os de um painel de analistas de odor qualificados para complementar a validação.

5.5.1. Método de Análise de Odor

Para que os resultados da análise de odor sejam concordantes as especificações internas, o método de análise deve ser estabelecido de forma a que as amostras contaminadas em percentagem superior ao aceite sejam reprovadas, e vice-versa. Sendo uma contaminação $\leq 1\%$ considerada aceite, um analista de odor deve aprovar amostras contaminadas em $\leq 1\%$, e reprovar amostras com contaminações $> 1\%$.

O solvente de limpeza (IPA), tem um odor muito forte, pelo que no início pode mascarar praticamente qualquer outro odor. Porém, após a sua evaporação completa, qualquer outro odor seria detetado, mesmo que se encontrasse em concentrações muito baixas ($< 0,01\%$ foi detetado após evaporação total). Esta deteção não é vantajosa, uma vez que a empresa poderia estar a consumir solvente de limpeza em excesso, desnecessariamente, pois existe uma etapa final de enxaguamento do solvente de limpeza, que remove o odor residual. Assim, foi necessário desenvolver um método que permitisse detetar contaminações até à gama de 1%, para que as limpezas sejam

eficazes e vão ao encontro das especificações internas, sem criar custos extra para a empresa.

O método desenvolvido consiste em dar algum tempo para que o odor do IPA perca intensidade, mas sem desaparecer por completo. Vários métodos foram testados, e um deles revelou-se capaz de originar resultados válidos e semelhantes ao FTIR. Neste método, após mergulhar o papel na amostra, deve-se aguardar cerca de 15 segundos, abanando ligeiramente o papel até que este fique apenas húmido. Após este tempo a amostra deve ser analisada apenas durante aproximadamente 5 segundos. A amostra deverá ser comparada com IPA não contaminado e avaliada de acordo com a escala apresentada na Tabela 19.

Tabela 19. Escala e descrição para avaliação de amostras de IPA de limpeza.

Nota	Escala de Odor	Comentários
5	Sem diferença	Não sou capaz de detetar a presença de qualquer odor característico de algum produto que não seja IPA. A amostra de teste é igual ao padrão de IPA.
4	Pequena diferença	Posso detetar uma nota não característica do IPA, com uma intensidade baixa, e praticamente não identificável. A amostra de teste é essencialmente o mesmo que o padrão de IPA.
3	Diferença moderada	Posso detetar a presença de um produto distinto de IPA com uma intensidade moderada. No entanto, a amostra ainda representa o caráter de odor do padrão, sendo que a contaminação não tem intensidade suficiente para se sobrepor ao IPA.
2	Diferença significativa	Posso detetar a presença de um produto distinto do IPA, com uma intensidade elevada. A contaminação da amostra tem intensidade suficiente para ser facilmente detetada e representa uma contaminação significativa que pode contaminar o produto seguinte.
1	Diferença grande	Posso detetar a presença de um produto distinto do IPA, com uma intensidade muito elevada. A contaminação da amostra tem intensidade suficiente para se sobrepor ao IPA e representa uma contaminação severa que irá contaminar o produto seguinte.

As notas individuais devem ser depois convertidas na média dos resultados, e, de acordo com a escala anterior, a média tem o seguinte critério de aceitação:

- 5/4 – amostra aceite;
- 3 – amostra aceite, exceto se algum resultado do *panel test* for 1 ou 2;
- 2/1 – amostra rejeitada.

Tendo em consideração a escala anterior, as concentrações das contaminações de IPA testadas foram associadas a uma nota, com o objetivo de avaliar o painel. As associações foram feitas de acordo com os critérios de aceitação internos, e ainda as características das amostras contaminadas. As notas são apresentadas na Tabela 20.

Tabela 20. Associação de notas de avaliação de odor a concentrações de contaminações de IPA.

Concentração	Nota esperada
$c \geq 5\%$	1
$1,5\% \leq c < 5\%$	2
$1\% \leq c < 1,5\%$	3
$0,5\% \leq c < 1\%$	4
$< 0,5\%$	5

Desta forma, as concentrações aceites foram associadas aos valores 4 e 5 e as rejeitadas aos valores 1 e 2. A nota 3, sendo a que reflete maior dúvida e tem critérios específicos, foi associada ao intervalo de concentrações mais difíceis de analisar, no qual 1% já seria aceite.

5.5.2. Limite de Detecção

Para verificar se todos os tipos de produtos são detetados nas concentrações a serem aceites ou rejeitadas, foi testado o limite de deteção. Este teste não teve como objetivo avaliar o grau de contaminação, apenas verificar se é detetado algum odor não característico no IPA. Foram feitos quatro grupos de produtos que podem ter diferenças no tipo ou na intensidade do odor: APDs com alumínio, APDs sem alumínio, Deos, e ainda produtos com perfumes encapsulados. Dentro destes grupos foram selecionados os produtos mais e menos intensos, e um de cada foi escolhido para as contaminações de IPA, por grupo. Várias soluções foram preparadas a concentrações de 1,5%, 1%, 0,5% e 0,2% e analisadas por cinco analistas. Cada analista avaliou a amostra de acordo com o método descrito anteriormente, mas sem aplicar a escala de avaliação. Neste caso a resposta é “Sim” ou “Não”, à questão se é detetado algum odor não característico do IPA. Neste teste, detetar o odor não significa que a amostra seja considerada contaminada.

Para que a análise de odor seja concordante com o FTIR, as contaminações a 1,5% têm de ser detetadas por todos os analistas. Com os testes do método de análise de odor, seria de esperar que as concentrações de 1,5% fossem sempre detetadas, sendo este o limite de deteção. As contaminações a 1% também podem ser detetadas por todos, mas abaixo disso não devem ser detetadas por todos. Assim, o limite de deteção esperado deveria ser 1,5% ou 1%, sendo que, pelo menos numa das concentrações, todos os analistas devem detetar o odor não característico. Os resultados obtidos encontram-se apresentados na Tabela 21.

Tabela 21. Resultados obtidos no teste de limite de deteção do odor de amostras de IPA contaminado.

Tipo de produto	Produto	Concentração (%)	Contaminação detetada pelo avaliador?				
			A	B	C	D	E
APD c/ AI	A	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		0,5	Não	Não	Não	Não	Não
		0,2	Não	Não	Não	Não	Não
	B	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		1	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
		0,5	Não	Não	Sim	Não	Não
		0,2	Não	Não	Não	Não	Não
APD s/ AI	C	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		0,5	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
		0,2	Não	Não	Não	Não	Não
	D	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		0,5	Sim	Sim	Não	Não	Sim
		0,2	Não	Não	Não	Não	Não
Deo	E	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		0,5	Não	Não	Não	Sim	Sim
		0,2	Não	Não	Não	Não	Não
	F	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		1	Sim	Não	Não	Não	Não
		0,5	Não	Não	Não	Não	Não
		0,2	Não	Não	Não	Não	Não
Perfume Encapsulado	G	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		0,5	Não	Não	Não	Sim	Não
		0,2	Não	Não	Não	Não	Não
	H	1,5	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		1	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
		0,5	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
		0,2	Não	Não	Não	Não	Não

De acordo com os resultados anteriores, em todos os tipos de contaminações testados, o limite de deteção foi 1,5% ou 1%, o está de acordo com o critério de aceitação proposto. Assim, verificou-se que o método de análise de odor é adequado para comparação de resultados com o FTIR, tendo um limite de deteção semelhante.

5.5.3. Qualificação

Sendo o objetivo da análise de odor a comparação com os resultados do FTIR para complementar a validação, é necessário que os analistas sejam treinados e qualificados para proceder a avaliações fiáveis. Assim, foi elaborado um plano de treino sensorial com o objetivo de treinar os analistas quer a nível de identificação de odores, quer a nível de utilização de escalas. Este plano foi elaborado de acordo com uma *guideline* interna, tendo sido feitas ligeiras alterações para ser adaptado às amostras

em teste. O plano consistiu em quatro fases: treino inicial, treinos práticos I e II, e qualificação. O treino inicial (6 amostras, 1 não contaminada) teve como objetivo dar a conhecer a escala de avaliação e os odores das contaminações numa gama ampla de concentrações. No treino prático I (8 amostras, 1 não contaminada) a gama de concentrações foi reduzida e foram incluídas todas as matrizes de produtos contaminantes. O treino prático II (8 amostras, 1 não contaminada) foi uma fase extra, com amostras diferentes e concentrações inferiores face ao treino I. Foi introduzida com o objetivo de reduzir ainda mais a gama de análise e para uniformizar o painel, principalmente a nível de amplitude de resultados. Finalmente, a fase da qualificação (8 amostras, 1 não contaminada) teve um *layout* semelhante ao treino II, apenas com amostras diferentes.

De acordo com a *guideline* interna referida, para que um analista possa ser qualificado tem de ter passado num teste de pré-seleção (SIT). Dentro do grupo de pessoas que tinham passado este teste, 5 foram escolhidas para o treino sensorial. Idealmente, o número de analistas deveria ser superior, mas devido à reduzida disponibilidade apenas estes puderam fazer parte deste estudo.

Para que o treino atingisse o seu objetivo, o painel foi controlado através de critérios de aceitação definidos internamente. Para isso foram criados dois critérios: desvio face ao resultado esperado e amplitude do painel. Quanto ao primeiro, foi definido que cada analista deveria dar a nota esperada para a cada amostra contaminada, apresentadas na Tabela 20, com uma tolerância de ± 1 . Neste critério, cada analista pode dar apenas uma nota fora do intervalo de aceitação por fase de treino. Quanto ao segundo critério, em cada *panel test*, a amplitude dos resultados (Amplitude = nota máxima – nota mínima), por amostra, deve ser sempre ≤ 2 . Apenas uma amplitude superior a 2 é tolerada, por fase de treino. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22. Resultados obtidos no treino sensorial.

Critério	Fase	Analista/Painel					Resultado
		A	B	C	D	E	
Número de respostas dentro do intervalo esperado	Inicial	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aceite
	Prático I	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	
	Prático II	7/8	8/8	8/8	8/8	7/8	
	Qualificação	7/8	8/8	7/8	8/8	7/8	
Amplitude do <i>panel test</i>	Inicial	Todas as amplitudes ≤ 2					Aceite
	Prático I	Todas as amplitudes ≤ 2					
	Prático II	Apenas uma amplitude = 3					
	Qualificação	Apenas uma amplitude = 3					

Quanto à comparação face aos resultados esperados, todos os analistas cumpriram o critério de aceitação, tendo no máximo uma resposta errada por fase de treino. Relativamente aos painéis, nenhuma fase de treino teve mais do que uma amplitude superior a 2, pelo que o critério de aceitação foi também cumprido.

É importante realçar que nos treinos inicial e prático I se detetou alguma discrepância nos resultados obtidos face aos esperados nas últimas amostras de cada fase. Isto poderia dever-se a serem as fases iniciais do treino, ou ainda ao intenso odor do IPA que satura a mucosa nasal. Estas amostras foram repetidas de forma cega fora dos treinos, tendo-se verificado que os resultados se aproximaram do valor esperado. Novas repetições foram realizadas e os resultados mantiveram-se concordantes com o esperado. Com estes resultados, as fases seguintes do treino foram divididas em duas partes, com quatro amostras cada. Um dos analistas necessitou de repetir a fase de qualificação, tal como é previsto na *guideline*. No final, os 5 analistas de odor foram qualificados.

5.6. Comparação de Resultados

Como foi referido anteriormente, com o intuito de complementar a validação foram feitos testes de comparação dos resultados FTIR com os da análise sensorial. As amostras testadas foram amostras reais de IPA de limpeza, proveniente de tanques de formulação e linhas de produção, após limpeza de APDs ou Deos. Como foi provado na validação, os espetros de IPA contaminado não diferem entre matrizes de produtos contaminantes, dentro dos respetivos grupos (APDs e Deos). Portanto, a deteção de contaminações baseou-se apenas em dois grandes grupos, APDs e Deos. Dentro dos APDs serão apresentados resultados para com e sem alumínio, apenas para simplificar monitorizações internas das limpezas. Porém, a deteção nos dois é feita da mesma forma, para o mesmo produto contaminante. Dentro do grupo dos Deos não foi feita qualquer distinção.

As amostras reais foram analisadas por FTIR, em triplicado, e por análise de odor feita pelos 5 analistas qualificados, também em triplicado. O critério de aceitação para o FTIR é que as três repetições originem o mesmo resultado: “Contaminado” ou “Limpo”. Para a análise de odor, a avaliação é feita de acordo com a escala da Tabela 19, e os critérios são que cada analista apenas pode ter uma amplitude ≤ 1 nos seus três resultados individuais, por amostra, e a amplitude do painel tem de ser ≤ 2 . Quanto ao resultado final, a amostra apenas é considerada aprovada caso os resultados do FTIR e da análise sensorial sejam ambos “Limpo”. Caso sejam discordantes ou ambos

“Contaminado”, a amostra deve ser considerada contaminada e, portanto, rejeitada. Foi estabelecido que pelo menos 95% dos resultados devem estar concordantes entre si.

Foi criado um *template* numa folha de cálculo em Excel para fazer o registo e tratamento dos dados. Nesta folha foram registados os códigos e lotes dos produtos analisados (aqui não referidos) e a folha automaticamente preenchia as tabelas para os resultados das análises FTIR e sensorial. Após inserir os resultados, a folha classificava a amostra como “Limpa” ou “Contaminada” em cada uma das análises, mediante os critérios de aceitação já mencionados. Por fim, a folha apresentava um resumo, no qual os dois resultados eram considerados e a decisão final sobre a amostra era apresentada (“Aprovado” ou “Reprovado”). As tabelas apresentadas de seguida são versões codificadas da folha de cálculo referida.

Os resultados obtidos pelo método FTIR, para amostras reais de IPA de limpeza, são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23. Resultados obtidos para as amostras reais de IPA de limpeza, pelo método FTIR.

Amostra nº	Tipo de produto	Picos detetados? (<i>Find Peaks, Sensibilidade 75</i>)			Resultado
		1	2	3	
1	APD c/ AI	Sim	Sim	Sim	Contaminado
2	APD c/ AI	Sim	Sim	Sim	Contaminado
3	Deo	Sim	Sim	Sim	Contaminado
4	Deo	Sim	Sim	Sim	Contaminado
5	Deo	Não	Não	Não	Limpo
6	Deo	Não	Não	Não	Limpo
7	Deo	Não	Não	Não	Limpo
8	Deo	Não	Não	Não	Limpo
9	APD c/ AI	Sim	Sim	Sim	Contaminado
10	APD c/ AI	Não	Não	Não	Limpo
11	APD c/ AI	Sim	Sim	Sim	Contaminado
12	APD c/ AI	Não	Não	Não	Limpo
13	APD c/ AI	Sim	Sim	Sim	Contaminado
14	APD c/ AI	Sim	Sim	Sim	Contaminado
15	APD c/ AI	Não	Não	Não	Limpo
16	APD c/ AI	Sim	Sim	Sim	Contaminado
17	APD c/ AI	Não	Não	Não	Limpo
18	Deo	Sim	Sim	Sim	Contaminado
19	Deo	Sim	Sim	Sim	Contaminado
20	Deo	Sim	Sim	Sim	Contaminado
21	Deo	Não	Não	Não	Limpo
22	APD s/ AI	Sim	Sim	Sim	Contaminado
23	APD s/ AI	Não	Não	Não	Limpo

As amostras foram então avaliadas pela média, de acordo com os critérios de aceitação já referidos. Para controlar o painel, os critérios estabelecidos foram verificados, e nenhum dos analistas teve uma amplitude superior a 1 nos seus resultados individuais, por amostra. O painel em si, por amostra, também nunca teve amplitude superior a 2. O perfil do painel está representado na Fig. 44, comparando a média dos resultados individuais de cada analista, com a média do painel, por amostra.

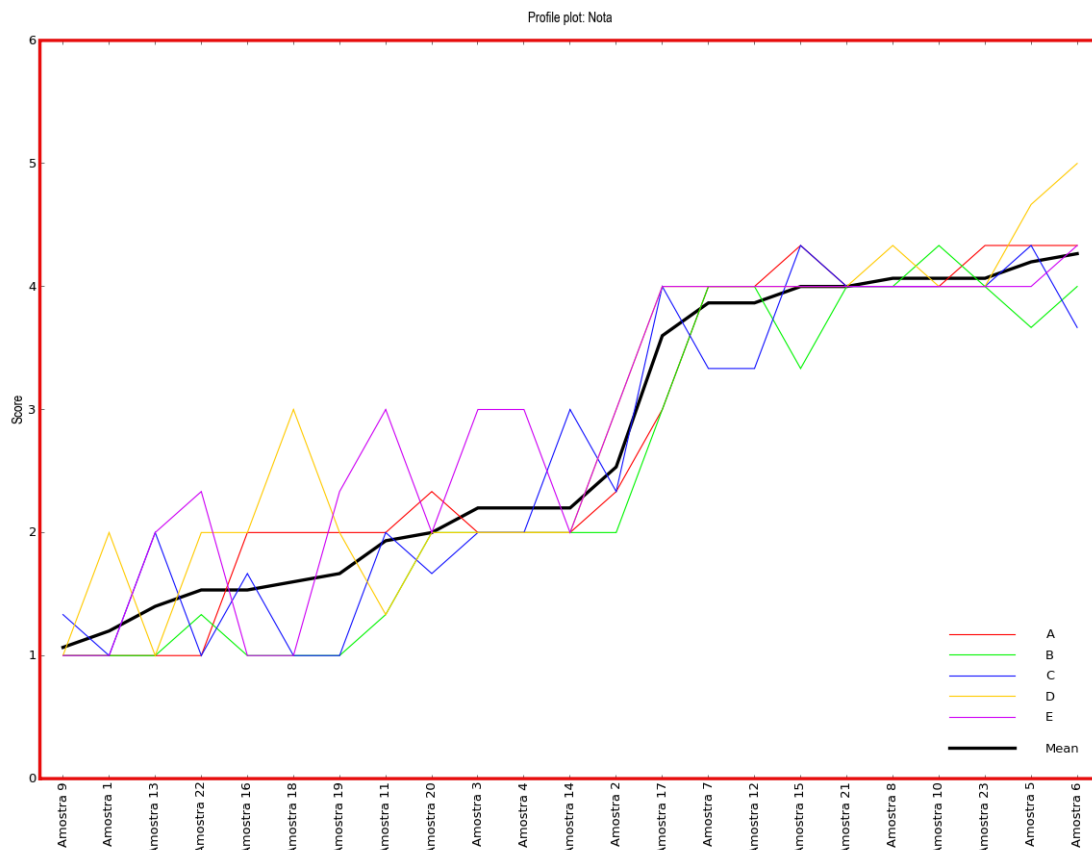


Fig. 44. Perfil do painel, comparando a resposta média dos analistas com a média global, por amostra.

Com o gráfico verifica-se que os resultados cumprem os critérios de aceitação estabelecidos anteriormente, como a amplitude de resultados individuais e do painel.

Verificou-se que em amostras consideradas “Contaminadas” existem por vezes resultados individuais com a nota 3, o que reflete dúvida quanto à aceitação da amostra. Futuramente, no caso de uma análise individual, para evitar a aprovação de amostras incorretamente, foi estabelecido que perante a nota 3 é obrigatório realizar um *panel test*.

Finalmente, foi feita a comparação dos resultados obtidos no FTIR com os da análise de odor. Esta comparação está apresentada na Tabela 25, bem como a decisão final sobre as amostras.

Tabela 25. Comparação de resultados do FTIR e da análise de odor, com a respetiva decisão sobre a amostra.

Amostra nº	Tipo de produto	Resultado FTIR	Resultado Sensorial	Resultado Final	Decisão
1	APD c/ AI	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
2	APD c/ AI	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
3	Deo	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
4	Deo	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
5	Deo	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
6	Deo	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
7	Deo	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
8	Deo	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
9	APD c/ AI	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
10	APD c/ AI	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
11	APD c/ AI	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
12	APD c/ AI	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
13	APD c/ AI	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
14	APD c/ AI	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
15	APD c/ AI	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
16	APD c/ AI	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
17	APD c/ AI	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
18	Deo	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
19	Deo	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
20	Deo	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
21	Deo	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado
22	APD s/ AI	Contaminado	Contaminado	Contaminado	Reprovado
23	APD s/ AI	Limpo	Limpo	Limpo	Aprovado

Verificou-se então que os resultados obtidos no FTIR foram sempre concordantes com os da análise sensorial. Nas amostras testadas, o grau de concordância entre os resultados das duas análises foi de 100%, pelo que o critério de aceitação foi cumprido.

6. Conclusões e Melhorias Futuras

A análise dos solventes de limpeza na Colep Portugal, S.A. era feita apenas por análise sensorial. Para complementar esta análise, e dar mais confiança no momento da decisão, foi desenvolvido um método FTIR capaz de detetar contaminações em solventes de limpeza de APDs e Deos, provenientes de limpezas em tanques de formulação e linhas de enchimento. Sendo o IPA o solvente de limpeza, o objetivo foi detetar contaminações presentes no mesmo. Assim, foram testadas contaminações com várias matérias primas, tendo sido concluído que a contaminação mais fácil de detetar é através dos produtos base de APDs e Deos. Sendo o produto base o que está

presente em maior percentagem é também a contaminação ideal para ser detetada. Dentro de cada grupo, APDs e Deos, o produto base é o mesmo, pelo que foi possível desenvolver um método geral que se aplica a todos os produtos dentro destes grupos. O método foi validado nos parâmetros de especificidade, limite de deteção, robustez e repetibilidade, tendo todos os resultados cumprido os critérios de aceitação.

Para complementar os resultados foi feita a comparação com um painel de analistas de odor qualificados. Foram treinados cinco analistas de acordo com a *guideline* interna, tendo os cinco sido qualificados. Estes analistas formaram um painel que analisou todas as amostras de IPA provenientes de limpezas, tendo os seus resultados sido comparados com os do FTIR. Nas amostras analisadas todos os resultados das duas análises foram concordantes, superando o critério de aceitação. Assim, o método encontra-se validado, estando a sua eficácia demonstrada. Será agora aplicado nas limpezas, complementando a análise sensorial, após a implementação do novo método de limpeza.

Como proposta de melhoria foi sugerido que o método FTIR substitua a análise de odor na totalidade, visto que a exposição contínua ao IPA pode provocar problemas de saúde, tais como pele seca, inflamações ou perda de memória. Contudo, a substituição total deve apenas ser feita após um maior número de testes ter sido feito, garantindo assim a eficácia na deteção de todos os tipos de contaminações.

Parte III

Outros Projetos

1. Outros Projetos

Ao longo do estágio foram realizados outros projetos como forma de integração no ambiente empresarial e fornecer ferramentas de gestão laboratorial. Assim, alguns projetos foram realizados, nomeadamente ao nível da gestão de procedimentos e equipamentos e ainda na melhoria de processos industriais. De todos os projetos realizados, irão ser destacados alguns que de alguma forma foram mais enriquecedores perante os restantes.

Foi feita a qualificação de equipamentos, a nível de instalação, operação e desempenho. Este trabalho consistiu na recolha e organização de informação relativa aos equipamentos, para estabelecer critérios e verificar se são cumpridos, nomeadamente ao nível da sua localização, requisitos elétricos e de segurança, calibrações, entre outros. Estes critérios foram depois testados, garantindo que o equipamento se encontrava devidamente instalado e localizado, que estava calibrado, e que funcionava corretamente em condições reais. Com os resultados foi elaborado um relatório de qualificação.

Ainda relativamente a equipamentos, foi feita uma revisão das fichas cadastro dos equipamentos do laboratório, tendo sido atualizadas com dados em falta. Foram ainda adicionados detalhes sobre a sua calibração e utilização, de forma a que qualquer pessoa que tenha acesso à ficha possa facilmente perceber para que é usado.

Relacionado com o trabalho feito, o método de limpeza presente no procedimento de manutenção GC, mencionado na parte I deste trabalho, foi adaptado às colunas dos restantes equipamentos, estando agora a ser aplicado em todos os cromatógrafos de gás do laboratório.

Foi também feito um levantamento dos reagentes em utilização no laboratório de forma a inseri-los em sistema informático e facilitar assim a sua gestão, nomeadamente ao nível de prazos de validade e *stock*. Foram ainda associados os reagentes aos métodos de análise, possibilitando ainda uma melhor gestão de necessidades.

No que toca ao processo industrial, foi preparado um procedimento detalhado sobre a libertação de produto acabado no sistema informático, bem como o preenchimento dos respetivos certificados de análise, para que o procedimento a seguir fique registado. Foi ainda efetuado um levantamento dos requisitos de limites de aceitação por cliente, para garantir que estão atualizados.

Outro projeto consistiu no melhoramento de uma doseadora de uma solução anticorrosiva para os banhos das linhas de produção, em conjunto com o departamento de engenharia. Neste projeto foi desenvolvido um método para quantificar a substância

de interesse nos banhos através de uma titulação, verificando assim o seu correto doseamento, mediante especificações internas. Foi dada formação aos colaboradores, estando a ser implementada esta rotina. Mais ainda, com o objetivo de reduzir o número de preparações da solução *stock*, foi testada a possibilidade de aumentar a sua concentração, diminuindo a quantidade a dosear. Concluiu-se que existia essa possibilidade, sendo então a concentração da solução aumentada e o seu doseamento por litro reduzido. O processo encontra-se funcional, faltando apenas a introdução de uma sonda de nível na bomba, para que os funcionários sejam alertados quando é necessário preparar a solução.

Por último, juntamente com o departamento técnico, foram acompanhadas algumas limpezas de tanques de formulação e linhas de enchimento, e, recorrendo aos resultados provenientes da análise FTIR e de odor, foram feitas sugestões para otimizar o processo de limpeza. Estas sugestões consistiram na redução do consumo de solventes de limpeza, quando aplicável, e na possibilidade de encontrar formas de promover a evaporação do solvente, acelerando o processo e melhorando a qualidade da limpeza.

Todos estes projetos foram enriquecedores em várias áreas, dando oportunidade de lidar com vários departamentos dentro da fábrica e conhecer melhor o processo. Mais ainda, foram adquiridos conhecimentos de gestão laboratorial e industrial que complementaram a formação e experiência adquiridas ao longo do estágio.

Referências

- [1] Colep - History, <http://www.colep.com/about-us/history> (consultado em 05-05-2018).
- [2] Colep - Global Presence, <http://www.colep.com/global-presence-1> (consultado em 13-06-2018).
- [3] Colep - Consolidated Annual and Financial Statements 2016, [http://www.colep.com/uploads/files/Colep Portugal - Consolidated Annual Report 2016.pdf](http://www.colep.com/uploads/files/Colep_Portugal_-_Consolidated_Annual_Report_2016.pdf) (consultado em 13-06-2018).
- [4] Weil, H.; Williams, T. I., History of Chromatography. *Nature* **1950**, *166*, 1000-1001.
- [5] Willstatter, R., Chlorophyll. *Journal of the American Chemical Society* **1915**, *37*, 323-345.
- [6] Tswett, M., Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **1906**, *24*, 316-323.
- [7] Vigdergauz, M. S., The Continuous Evolution of Chromatography. *Chromatographia* **1988**, *25*, 681-684.
- [8] Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R., *Principles of Instrumental Analysis*, Thomson Brooks/Cole, Ohio, United States of America, 2007.
- [9] Ettre, L. S., The Birth of Partition Chromatography. *LCGC North America* **2001**, *19*, 506-512.
- [10] Martin, A. J. P., Synge, R. L. M., A new form of chromatogram employing two liquid phases: A theory of chromatography and Application to the micro-determination of the higher monoamino-acids in proteins. *Biochem J.* **1941**, *35*, 1358-1368.
- [11] Beesley, T. E., Evolution of Chromatography: One Scientist's 51-Year Journey. *Lc Gc North America* **2010**, *28*, 960-971.
- [12] Bartle, K. D., Myers, P., History of gas chromatography. *Trends in Analytical Chemistry* **2002**, *21*, 547-557.
- [13] Eiceman, G. A., Instrumentation of Gas Chromatography, in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, United Kingdom, 2006.
- [14] CrawfordScientific, Theory and Instrumentation of GC, [http://www.chromacademy.com/lms/sco10/Theory and Instrumentation Of GC Introduction.pdf](http://www.chromacademy.com/lms/sco10/Theory_and_Instrumentation_Of_GC_Introduction.pdf) (consultado em 20-01-2018).
- [15] Dettmer-Wilde, K., Engewald, W., *Practical Gas Chromatography: A Comprehensive Reference*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Germany, 2014.

- [16] van Deemter, J. J., Zuiderweg, F. J., Klinkenberg, A., Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography. *Chemical Engineering Science* **1956**, 5, 271-289.
- [17] Sewell, P. A., Chromatography: Gas | Theory of Gas Chromatography, in *Encyclopedia of Separation Science*, Elsevier Science Publishing Co Inc, San Diego, United States of America, 2000; pp 558-566.
- [18] Jennings, W., Column and Stationary Phase Selection in GC. *Journal of Chromatographic Science* **1990**, 28, 385-391.
- [19] Miller, R. J., Industrial Gas-Chromatography: a personal perspective. *Journal of High Resolution Chromatography* **1995**, 18, 213-216.
- [20] Harvey, D., Gas Chromatography Injectors, <http://community.asdlib.org/imageandvideoexchangeforum/2013/08/01/gc-injectors-2/> (consultado em 20-01-2018).
- [21] Olsavicky, V. M., A Comparison of High-Temperature Septa for Gas Chromatography. *Journal of Chromatographic Science* **1978**, 16, 197-200.
- [22] ChromAcademy, Troubleshooting GC Separation Part II, https://www.chromacademy.com/gc_troubleshooting_separations_part_2_Essential_Guide.html (consultado em 03-02-2018).
- [23] Liu, J. W., Li, C., Sun, C., Zhao, S. G., Insights into the Silanization Processes of Silica with and without Acid-Base Additives via TG-FTIR and Kinetic Simulation. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2017**, 56, 5164-5173.
- [24] Harris, D. C., *Quantitative Chemical Analysis*, W. H. Freeman, New York, United States of America, 2010.
- [25] Agilent Technologies, GC Column Selection Guide Catalog, https://www.agilent.com/cs/library/catalogs/Public/5990-9867EN_GC_CSG.pdf (consultado em 13-02-2018).
- [26] Sellers, K., Why Derivatize? Improve GC Separations with Derivatization, <https://www.restek.com/pdfs/CFTS1269.pdf> (consultado em 30-03-2018).
- [27] Ribani, M., Bottoli, C. B. G., Collins, C. H., Jardim, I. C. S. F., Melo, L. F. C., Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova* **2004**, 27, 771-780.
- [28] Stephenson, G. R., Ferris, I. G., Holland, P. T., Nordberg, M., Glossary of terms relating to pesticides (IUPAC Recommendations 2006). *Pure Appl. Chem.* **2006**, 78, 2075-2154.
- [29] Gilbert, S. G., *A Small Dose of Toxicology: The Health Effects of Common Chemicals*, CRC Press, London, United Kingdom, 2004.

- [30] Santos, S. P., A Química dos Insecticidas (parte I). *Boletim da Sociedade Portuguesa de Química* **2002**, *85*, 43-47.
- [31] Santos, S. P., A Química dos Insecticidas (parte II). *Boletim da Sociedade Portuguesa de Química* **2002**, *86*, 37-41.
- [32] Metcalf, R. L., Insect Control, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany, 2000.
- [33] Carson, R., *Silent spring*, Houghton Mifflin, Boston, United States, 1962.
- [34] Hirata, R., Piretróides: Estrutura química - Actividade biológica. *Química Nova* **1994**, *18*, 368-374.
- [35] Thatheyus, A. J., Selvam, A. D. G., Synthetic Pyrethroids: Toxicity and Biodegradation. *Applied Ecology and Environmental Sciences* **2013**, *1*, 33-36.
- [36] Wenclawiak, B., Otterbach, A., Carbon-based quantitation of pyrethrins by supercritical-fluid chromatography. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* **2000**, *43*, 197-207.
- [37] ATSDR, - Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Pyrethrins and Pyrethroids, <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp155-c7.pdf> (consultado em 01-04-2018).
- [38] Liu, Z. B., Jia, F. Y., Wang, W. W., Gao, F. K., Liu, P. P., Liu, Y. M., Yin, J. G., A highly efficient extraction, separation and detection method for pyrethroids in pork using the interaction between pyrethroids and protein. *Analytical Methods* **2014**, *6*, 1353-1358.
- [39] Gopal, M., Niwas, R., Devakumar, C., Analysis of Synthetic Pyrethroids by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Agricultural Research* **2015**, *4*, 208-214.
- [40] Agilent DB-1 Column Specifications, <https://www.agilent.com/en/products/gas-chromatography/gc-columns/capillary/db-1#specifications> (consultado em 14-04-2018).
- [41] Agilent Technologies Inc., Maintaining Your GC, G1530-90010, <https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/G1530-90010.pdf> (consultado em 15-04-2018).
- [42] Miller, J. C., Miller, J. N., *Statistics for Analytical Chemistry*, Ellis Horwood, Harlow, England, 1992.
- [43] European Commission, SANTE/11813/2017: Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. 2017.
- [44] Meilgaard, M. C., Civille, G. V., Carr, B. T., *Sensory evaluation techniques*, Apple Academic Press Inc., Oakville, Canada, 2016.
- [45] Kemp, S. E., Hollowood, T., Hort, J., *Sensory Evaluation: A Practical Handbook*, Wiley-Blackwell, United Kingdom, 2011.
- [46] Pfenninger, H. B., Methods of Quality Control in Brewing. *Schweizer Brauerei-Rundschau* **1979**, *90*.

- [47] Leffingwell, J. C., Olfaction, <http://www.leffingwell.com/olfaction.htm> (consultado em 25-04-2018).
- [48] Harper, R., *Human Senses in Action*, Churchill Livingstone, United Kingdom, 1972.
- [49] ASTM STP758: Guidelines for the Selection and Training of Sensory Panel Members. American Society for Testing & Materials: 1981.
- [50] ISO 8586: Sensory analysis - General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. International Organisation for Standardization: 1993.
- [51] Colep, Internal Guideline: Odour Assesment. 2017.
- [52] Stuart, B. H., *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, Wiley, Chichester, United Kingdom, 2004.
- [53] Thomas, N. C., The early history of spectroscopy. *Journal of Chemical Education* **1991**, *68*, 631.
- [54] Herschel, W., Investigation of the Powers of the Prismatic Colours to Heat and Illuminate Objects; With Remarks, That Prove the Different Refrangibility of Radiant Heat. To Which is Added, an Inquiry into the Method of Viewing the Sun Advantageously, with Telescopes of Large Apertures and High Magnifying Powers. *Phil. Transact. Roy. Soc.* **1800**, *90*, 255.
- [55] Abney, C., Festing, L., On the Influence of the Atomic Grouping in the Molecules of Organic Bodies on Their Absorption in the Infra-Red Region of the Spectrum. *Phil. Transact. Roy. Soc.* **1881**, *172*, 887-918.
- [56] Julius, W. H., *Bolometrisch onderzoek van absorptiespectra*, J. Müller, 1892.
- [57] Coblentz, W. W., *Investigations of infra-red spectra*, Carnegie Institution of Washington, United States of America, 1906.
- [58] PerkinElmer, 60 Years of PerkinElmer Innovation in Infrared Spectroscopy, https://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/46-74388BRO_60YearsInfraredSpectroscopy.pdf (consultado em 19-05-2018).
- [59] Fellgett, P. B. The Theory of Infrared Sensitivities and Its Application to Investigations of Stellar Radiation in the Near Infra-red. University of Cambridge, 1949.
- [60] Cooley, J. W., Tukey, J. W., An algorithm for the machine calculation of complex Fourier series. *Math. Comp.* **1965**, *19*, 297-301.
- [61] Smith, J. P.; Hinson-Smith, V., The endearing FTIR spectrophotometer. *Analytical Chemistry* **2003**, *75*, 37A-39A.
- [62] Micha, D. N.; Penello, G. M.; Kawabata, R. M. S.; Camarotti, T., "Vendo o invisível": experimentos de visualização do infravermelho feitos com materiais simples e de baixo custo. *Revista Brasileira de Ensino de Física* **2011**, *33*, 01-06.

- [63] Faust, B., Johnston, J., Reed, N., *Modern Chemical Techniques*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, 1997.
- [64] Hasegawa, T., *Quantitative Infrared Spectroscopy for Understanding of a Condensed Matter*, Springer Japan, Tokyo, Japan, 2017.
- [65] Doyle, W. M., Principles and applications of fourier transform infrared (FTIR) process analysis, http://www.hellma-axiom.com/pdf/technical_notes/AN-906.pdf (consultado em 19-05-2018).
- [66] Jafari, M. Application of Vibrational Spectroscopy in Organic Electronics. Linköping University, 2017.
- [67] Fourier Transform InfraRed vs Grating InfraRed Instruments for Optical Measurements, <http://www.willeyoptical.com/ftir.html> (consultado em 19-05-2017).
- [68] Analytical Systems, <http://urcqatar.com/analyticalsystem.html> (consultado em 20-05-2018).
- [69] Nernst Lamp, <http://www.edisontechcenter.org/NernstLamps.html> (consultado em 19-05-2018).
- [70] Short FTIR Instrumentation, <https://studentportalen.uu.se/uusp-filearea-tool/download.action?nodeId=111007&toolAttachmentId=44350> (consultado em 19-05-2018).
- [71] Lin, S. Y., Dence, C. W., *Methods in Lignin Chemistry*, Springer, Berlin, Germany, 2012.
- [72] DTGS Detector for Impact 400D, <https://www.labx.com/item/dtgs-detector-for-impact-400d/lv38124227> (consultado em 23-05-2018).
- [73] ISO 22716: Cosmetics Good Manufacturing Practices (GMP) - Guidelines on Good Manufacturing Practices. International Organisation for Standardization: 2007.
- [74] IUPAC, IUPAC Gold Book, <https://goldbook.iupac.org/html/C/C01099.html> (consultado em 26-05-2018).
- [75] Personal Care Products Council - Cleaning and Sanitization, https://eservices.personalcarecouncil.org/bbk/CS_January17-2014.pdf (consultado em 26-05-2018).
- [76] ASTM E1252: Standard Practice for General Techniques for Obtaining Infrared Spectra for Qualitative Analysis. American Society for Testing & Materials: 2013.
- [77] Guia RELACRE 13: Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química. Lisboa, 2000.
- [78] Magnusson, B., Örnemark, U., Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2nd ed.; 2014.