

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE CAPROLACTAMA EM SIMULANTES DE ALIMENTOS

Juliana Silva Félix*

Marisa Padula**

José Eduardo Manzoli***

Magali Monteiro*

RESUMO: A caprolactama é o monômero utilizado na fabricação da poliamida 6, usada como embalagem de alimentos, especialmente produtos cárneos e queijos. Durante a polimerização parte do monômero permanece na resina e pode migrar para o alimento em contato. Este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar método analítico para determinar caprolactama nos simulantes de alimentos solução de ácido acético 3% e azeite de oliva, usando a cromatografia gasosa. Foi utilizado como padrão interno a 2-azociclononano e a caprolactama, como padrão analítico. Os tempos de retenção obtidos para a caprolactama e a 2-azociclononano foram 6,4 e 8,8 min. para ácido acético 3% e para azeite de oliva, usando coluna DB-1701. O intervalo de linearidade obtido foi 1,60 a 640,00 µg/mL para ácido acético e 0,80 a 1062,34 µg/mL para azeite de oliva, com coeficiente de correlação maior que 0,999. O limite de detecção do método foi de 0,24 e 0,10 ng para ácido acético e azeite de oliva, respectivamente. A repetibilidade e a precisão intermediária do método revelaram valores de coeficientes de variação menores que 5%, para os três níveis de concentração avaliados (8,00, 80,00 e 400,00 µg/mL para ácido acético 3% e 2,13, 106,30 e 797,28 µg/mL para azeite de oliva). O método desenvolvido e validado poderá ser empregado para dosar os níveis de caprolactama migrados para simulantes de alimentos em contato com poliamida 6 usada como embalagens de produtos cárneos e queijos.

PALAVRAS-CHAVE: Poliamida; caprolactama; validação de método analítico; cromatografia gasosa.

Introdução

A poliamida 6 (PA6) é produzida pela polimerização do monômero caprolactama¹⁷. Durante o processo de polimerização, parte do monômero empregado permanece na resina, já que a polimerização não é completa. Podem também estar presentes oligômeros de baixo peso molecular, aditivos, compostos de degradação, entre outros, que podem migrar para o alimento em contato^{1, 2, 12, 17}.

A PA 6 é muito usada como embalagem de alimentos. Sua maior aplicação é na forma de filmes e envoltórios, como componente único ou em estruturas de multicamadas^{7, 16}. Filmes de PA têm sido muito empregados como embalagens a vácuo e com atmosfera modificada para carnes e aves frescas e processadas, além de queijos, e como embalagens tipo *cook in* para carnes e aves processadas. De maneira geral, a PA oferece boa barreira a gases, a aromas, a gorduras e ao vapor d'água e boa resistência mecânica, além de ser termoformável e termorresistente^{14, 15}.

Uma variedade de métodos cromatográficos tem sido utilizada na determinação de caprolactama e seus oligômeros no próprio polímero, em simulantes de alimentos e em alimentos: cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG/DIC)^{6, 9, 13, 18}, cromatografia líquida de alta eficiência usando detector de ultravioleta (CLAE/UV)^{1, 2, 3, 5, 10, 17, 18}, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM)^{9, 21} e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE/EM)^{1, 17, 18, 19}. A CG/DIC é amplamente utilizada em ensaios de migração por detectar a caprolactama em níveis de traços. A CLAE tem sido uma técnica muito empregada por permitir a análise da caprolactama e oligômeros (até o nanômero). Já a CG/EM e CLAE/EM permitem identificar e quantificar os compostos presentes e são usadas dependendo da massa molecular, da polaridade e da volatilidade.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar método analítico para determinar caprolactama nos simulantes de alimentos ácido acético 3% e azeite de oliva.

*Departamento de Alimentos e Nutrição – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – 14801-902 – Araraquara – SP – Brasil

** Centro de Tecnologia de Embalagem - ITAL, CP 139, 13070-178, Campinas, SP, Brasil.

***Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (CTR) – CNEN – CP 11049, 05508-000, São Paulo, SP, Brasil e Universidade São

Judas Tadeu, 03166-000, São Paulo, SP, Brasil.

Material e Métodos

Material

A caprolactama (pureza>99%, Sigma-Aldrich) foi utilizada como padrão analítico e a 2-azociclononana (pureza>98%, Sigma-Aldrich) como padrão interno. Os simulantes de alimentos solução de ácido acético 3% e azeite de oliva extra virgem foram empregados durante a validação da metodologia.

Metanol (MeOH) e n-Heptano foram adquiridos da Mallinckrodt Chemicals (Phillipsburg, USA), etanol (EtOH) da J. T. Baker, todos de grau cromatográfico. Ácido acético 100% grau P.A. foi adquirido da Merck (Darmstadt, Germany). Azeite de oliva extra virgem (La Española) adquirido em supermercado e água destilada também foram utilizados.

Equipamento

Foi utilizado o cromatógrafo gasoso (CG) Shimadzu 17-A (Shimadzu, Kyoto, Japão), com detector de ionização de chama (DIC) e coluna capilar DB-1701 (J&W Scientific) de 30m de comprimento por 0,25mm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura do filme interno. A coluna DB-5 (J&W Scientific) de 60m de comprimento por 0,25mm de diâmetro interno e 0,25µm de espessura do filme interno também foi utilizada no estabelecimento das condições cromatográficas.

Métodos

Condições cromatográficas

As condições de operação do equipamento foram estabelecidas utilizando diferentes colunas (DB-5 e DB-1701). Os parâmetros analíticos como temperatura do injetor, coluna e detector, fluxo do gás de arraste, volume de injeção e fase estacionária foram estabelecidos com base no método descrito pela União Européia⁹, otimizados de acordo com as condições do laboratório.

Preparo das soluções

As soluções estoque de caprolactama e de 2-azociclononana foram preparadas em MeOH na concentração de 10.000 e 350µg/mL, respectivamente. Posteriormente, por diluições sucessivas, foram obtidas as soluções de trabalho, as quais foram diluídas em ácido acético 3% e azeite de oliva, conforme necessário. As soluções padrão de caprolactama e 2-azociclononana em MeOH de diferentes concentrações foram adicionadas ao ácido acético 3% e injetadas no CG. Já para o azeite de oliva, após adição das soluções padrão, foi realizada uma extração líquido-líquido usando n-heptano e solução de etanol/água (1:2). Após agitação por 2 min. e descanso de 30 min., a fase aquosa foi recolhida e filtrada em PTFE 0,22µm, sendo posteriormente injetada no CG. Tais soluções foram armazenadas sob refrigeração (10°C) no escuro, sendo utilizadas por no máximo três meses. As soluções eram pesadas diariamente.

Validação de método analítico

A validação do método analítico incluiu a avaliação dos seguintes parâmetros: calibração, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação.

Calibração e linearidade

Cinco concentrações das soluções padrão foram usadas na construção da curva analítica, injetadas no CG em decuplicata. Foi empregado o método do padrão interno.

A linearidade do método foi determinada a partir dos dados referentes à curva de calibração. O cálculo da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados forneceu a equação da reta ($y = a + bx$), onde x é a concentração do analito na matriz e y a área do pico.

Limite de detecção e limite de quantificação do método

O limite de detecção (LD) do método foi determinado como sendo a quantidade de caprolactama correspondente a três vezes a área do ruído de fundo no tempo de retenção do pico do analito, injetando-se no sistema cromatográfico soluções padrão de caprolactama em ácido acético e azeite de oliva, em hexaduplicata.

O limite de quantificação (LQ) do método foi determinado como sendo a quantidade de caprolactama correspondente a dez vezes a área do ruído de fundo no tempo de retenção do pico do analito, ou quando se obtinha um coeficiente de variação menor que 5%, injetando-se no sistema cromatográfico soluções padrão de caprolactama em ácido acético e azeite de oliva, em decuplicata.

Precisão e exatidão do método

A precisão do método foi avaliada mediante ensaio de repetibilidade e de precisão intermediária. A repetibilidade foi avaliada realizando medidas intra-dias. Para tanto três concentrações da solução padrão (8,00, 80,00 e 400,00 µg/mL para ácido acético 3% e 2,13, 106,30 e 797,28 µg/mL para azeite de oliva) foram injetadas no CG em triplicata e em quadruplicata num mesmo dia. A precisão intermediária foi avaliada realizando medidas inter-dias. As mesmas concentrações empregadas no ensaio de repetibilidade foram usadas, e foram injetadas no CG três e quatro vezes em dias consecutivos, totalizando 10 injeções.

A exatidão do método foi avaliada mediante o estudo de recuperação. Para tanto, soluções padrão contendo 8,00, 80,00 e 400,00 µg de caprolactama em ácido acético e 2,13, 106,30 e 797,28 µg/mL de caprolactama em azeite de oliva, foram injetadas 10 vezes no CG. A exatidão foi expressa como a razão percentual entre a concentração de caprolactama obtida e a concentração adicionada^{4, 8, 11, 20}.

Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados da validação do método analítico envolveu a determinação da média, do desvio padrão e do coeficiente de variação utilizando o software MICROSOFT EXCEL, 2000.

O tratamento estatístico dos dados para a obtenção da curva de calibração envolveu a determinação da equação da reta de regressão linear e do coeficiente de correlação utilizando o software ORIGIN 7.0, 2000.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Condições cromatográficas

Foram realizados estudos preliminares para estabelecer as condições de operação do equipamento (diferentes fases estacionárias, diferentes programações de temperatura) utilizando soluções padrão de caprolactama e 2-azociclononano, segundo o método de determinação de caprolactama em simulantes de alimentos⁹. A temperatura da coluna foi aquecida por 1 min. a 130°C, e então programada a 10°C/min. até 170°C, permanecendo 1 min. Em seguida foi empregada nova programação de temperatura a 10°C/min. até 200°C, permanecendo 2 min. O gás de arraste₃

utilizado foi hidrogênio com um fluxo de 1ml/min. Injeções (1µL) no modo split na razão 1:20 foram feitas a 240°C. A temperatura de detecção foi de 250°C.

Os cromatogramas obtidos a partir do branco (metanol) e das soluções de concentração 80,00µg/mL de caprolactama e 14,20µg/mL de 2-azociclononanona em ácido acético e 10,63µg/mL de caprolactama e 9,40µg/mL de 2-azociclononanona em azeite de oliva estão apresentados na Figura 1. De acordo com os cromatogramas obtidos, verificou-se que a caprolactama e a 2-azociclononanona estavam livres de compostos interferentes ou que sobrepunham aos seus sinais.

Validação do método analítico

A validação foi efetuada de acordo com os protocolos relatados na literatura^{8, 11, 20}. A calibração, linearidade, limite de detecção, precisão e exatidão foram avaliadas.

Curva de calibração e linearidade

As curvas de calibração obtidas para cada simulante apresentaram linearidade no intervalo de concentração de 1,60 a 640,00µg/mL para o ácido acético e 0,80 a 1062,34µg/mL para o azeite de oliva. A equação de regressão foi $y = -0,0744 + 0,93463x$ para ácido acético 3% e $y = 0,0623 + 1,0697x$ para azeite de oliva, onde y é a razão da área do pico da caprolactama pela área do padrão interno e x, a razão da concentração da caprolactama pela concentração do padrão interno. O coeficiente de correlação foi maior que 0,999, em ambos os casos. Foram injetadas 10 replicatas de cada concentração (1,60, 16,01, 64,00, 160,11 e 640,00µg/mL para ácido acético e 0,80, 1,06, 10,63, 531,03 e 1062,34µg/mL para azeite de oliva), e determinadas as médias, os desvios padrão e os coeficientes de variação, que foram menores que 5 e 5,1%, respectivamente, para todas concentrações.

Nas Tabelas 1 e 2 estão apresentadas as áreas do pico da caprolactama e da 2-azociclononanona correspondentes a cada concentração das soluções padrão usadas para o simulante ácido acético e para o azeite de oliva, respectivamente.

A linearidade foi estudada, utilizando a área relativa versus concentração relativa para a obtenção da curva de calibração e utilizando a razão área relativa/concentração relativa versus log da concentração relativa usada na curva de calibração²⁰ (Figura 2 e 3). Foi verificado que as concentrações usadas na curva de calibração estavam dentro do intervalo de confiança de 95%.

Precisão e Exatidão

A precisão é um critério utilizado para avaliar o desempenho de um método analítico ou equipamento e expressa concordância entre os dados experimentais obtidos, ou seja, quanto mais próximos entre si maior será a precisão^{4, 8}. A precisão do método foi avaliada utilizando a repetibilidade e a precisão intermediária durante o ensaio de recuperação. Os resultados obtidos para cada simulante estão apresentados nas Tabelas 3 e 4. Os valores do coeficiente de variação obtidos na avaliação da precisão intra-ensaio e inter-ensaio foram menores que 3,9 e 4,3% para ácido acético 3% e 2,5 e 3,1% para azeite de oliva, respectivamente, demonstrando boa repetibilidade e precisão intermediária.

A exatidão do método foi estudada durante a recuperação usando diferentes níveis de fortificação e foi expressa como a porcentagem entre o valor real de caprolactama na amostra e o valor obtido pelas análises^{4, 8, 11, 20}. Verifica-se pelas Tabelas 3 e 4 que foram obtidos valores entre 100,5 a 106,0% para ácido acético e entre 93,8 a 108,6% para azeite de oliva. Os coeficientes de variação foram inferiores a 4,3 e 3,1% para o ácido acético e para o azeite de oliva, respectivamente, indicando boa exatidão do método.

Limite de detecção e de quantificação do método

O limite de detecção (LD) do método foi determinado experimentalmente, para cada simulante, utilizando sucessivas diluições a partir da solução padrão de concentração 0,05µg/mL, que foram injetadas no CG (n=6). O valor obtido para LD (S/R=3)^{8, 11, 20} foi 0,24ng para o simulante solução de ácido acético a 3% e 0,10ng para azeite de oliva, que estão apresentados nas Tabelas 5 e 6. Os coeficientes de variação referentes às áreas dos picos da caprolactama e 2-azociclononano obtidos quando a solução foi injetada seis vezes no CG foram de 5 e 3,1%, respectivamente para ácido acético 3% e 4,8 e 3,4%, respectivamente, para azeite de oliva, indicando boa precisão em ambos os casos.

O limite de quantificação (LQ) do método foi determinado experimentalmente, para cada simulante, utilizando sucessivas diluições a partir da solução padrão de concentração 0,05µg/mL, que foram injetadas no CG (n=10). O valor obtido para LD (S/R=10)^{11, 20} foi 1,60µg/mL para o simulante ácido acético 3% e 0,80µg/mL para azeite de oliva, que estão apresentados nas Tabelas 7 e 8. Os coeficientes de variação referentes às áreas dos picos da caprolactama e 2-azociclononano obtidos quando a solução foi injetada dez vezes no CG foram de 4,2 e 4,5%, respectivamente para ácido acético 3% e 4,4 e 4,2%, respectivamente, para azeite de oliva, indicando boa precisão em ambos os casos.

CONCLUSÕES

O método analítico baseado no método determinado pela União Européia e adaptado às condições do laboratório foi considerado efetivo para determinação quantitativa da caprolactama em ácido acético 3% e em azeite de oliva, obtendo boa precisão e exatidão, além de coeficientes de correlação maiores que 0,999 para os dois simulantes analisados. O tempo de análise máximo foi de 11 minutos para os dois padrões utilizados.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao PADC-FCF/UNESP e à CAPES pela suporte financeiro à este trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARKBY, C. T.; LAWSON, G. Analysis of migrants from nylon 6 packaging films into boiling water. **Food Addit. Contam.**, v.10, n.5, p.541-553, 1993.
2. BEGLEY, T. H.; GAY, M. L.; HOLLIFIELD, H. C. Determination of migrants in and migration from nylon food packaging. **Food Addit. Contam.**, v.12, n.5, p.671-676, 1995.
3. BONIFACI, L.; FREZZOTTI, D.; CAVALCA, G.; MALAGUTI, E.; RAVANETTI, G. P. Analysis of ε-caprolactam and its oligomers by high-performance liquid chromatography. **J. Chromat.**, v.585, p.333-336, 1991.
4. CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC: fundamentos, estratégias e validação**. São Carlos: EdUFSCar, 2001. 77p. (Série Apontamentos).
5. GRAMSHAW, J. W.; SOTO-VALDEZ, H. Migration from polyamide 'microwave and roasting bags' into roast chicken. **Food Addit. Contam.**, v.15, n.3, p.329-335, 1998.
6. GROMAN, A.; GUBERSKA, J. Gas chromatographic determination of ε-caprolactam migrating from plastic materials. **Polimery**, v.44, n.9, p.618-622, 1999. In: **Chemical Abstracts**, 1997-2001. Abstract 132:22239. CD ROM.
7. HERNANDEZ, R. J.; SELKE, S. E. M.; CULTER, J. D. **Plastics packaging: properties, processing, applications and regulations**. Cincinnati: Hanser Gardner Publications, 2000. p.113-115.
8. INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY (IUPAC). Harmonised guidelines for the in-house validation of methods of analysis (Technical Report). Disponível em: <<http://www.iupac.org/divisions/V/501/draftoct19.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2006.

9. JOINT RESEARCH CENTRE. European Commission. Determination of caprolactam in food simulants. Disponível em: <<http://cpf.jrc.it/smt/monomers/downloads/pm14200.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2006.
10. KULKARNI, R.; KANEKAR, P. Simultaneous determination of epsilon-caprolactam and epsilon-aminocaproic acid by high-performance liquid chromatography. **Process Control Qual.**, v.9, n.1/3, p.31-37, 1997.
11. LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. Rima: São Carlos, 2004, p.62.
12. NERÍN, C. Alimentos preparados para cocinar en la bolsa. In: NERÍN, C.; CACHO, J.; REYES, F. G. R.; FARIA, J. A.; ANJOS, C. A. R.; PADULA, M. **Materiais plásticos em contato com alimentos**. Campinas: CETEA/ITAL, 1995. Cap.5, p.1-21. (apostila).
13. POGORZELSKA, Z.; MIELNICZUK, Z. Determination of ϵ -caprolactam migration from polyamide plastics: A new approach. **Packag. Technol. Sci.**, v.14, p.31-35, 2001.
14. SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. Carnes, aves, pescados e derivados. In: SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, 2001. p.151-171.
15. SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. Queijos. In: SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, 2001. p. 175-182.
16. SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, M.L.; COLTRO, L.; VERCELINO, A. R. M.; CORRÊA, G. E. E. Principais materiais plásticos para embalagens flexíveis. In: SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, M.L.; COLTRO, L.; VERCELINO, A. R. M.; CORRÊA, G. E. E. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. p.1-43.
17. SOTO-VALDEZ, H.; GRAMSHAW, J. W.; VANDERBURG, H. J. Determination of potential migrants present in Nylon 'microwave and roasting bags' and migration into olive oil. **Food Addit. Contam.**, v.14, n.3, p.309-318, 1997.
18. STOFFERS, N. H.; BRANDL, F.; LINSEN, J. P. H.; FRANZ, R. Development and validation of analytical methods for monomeric and oligomeric migrants from nylon 12 packaging materials. **Food Addit. Contam.**, v.20, n.4, p.410-416, 2003a.
19. STOFFERS, N. H.; DEKKER, M.; LINSEN, J. P. H.; STÖRMER, A.; FRANZ, R. Alternative fatty food simulants and diffusion kinetics of nylon 12 packaging. **Food Addit. Contam.**, v.20, n.10, p.949-959, 2003b.
20. RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.
21. ZHAO, Y.; JING, Z.; LI, H.; ZHANG, H. The determination of impurities in caprolactama by capillary gas chromatography-mass spectrometry. **Microchem. J.**, p.213-217, 2001.

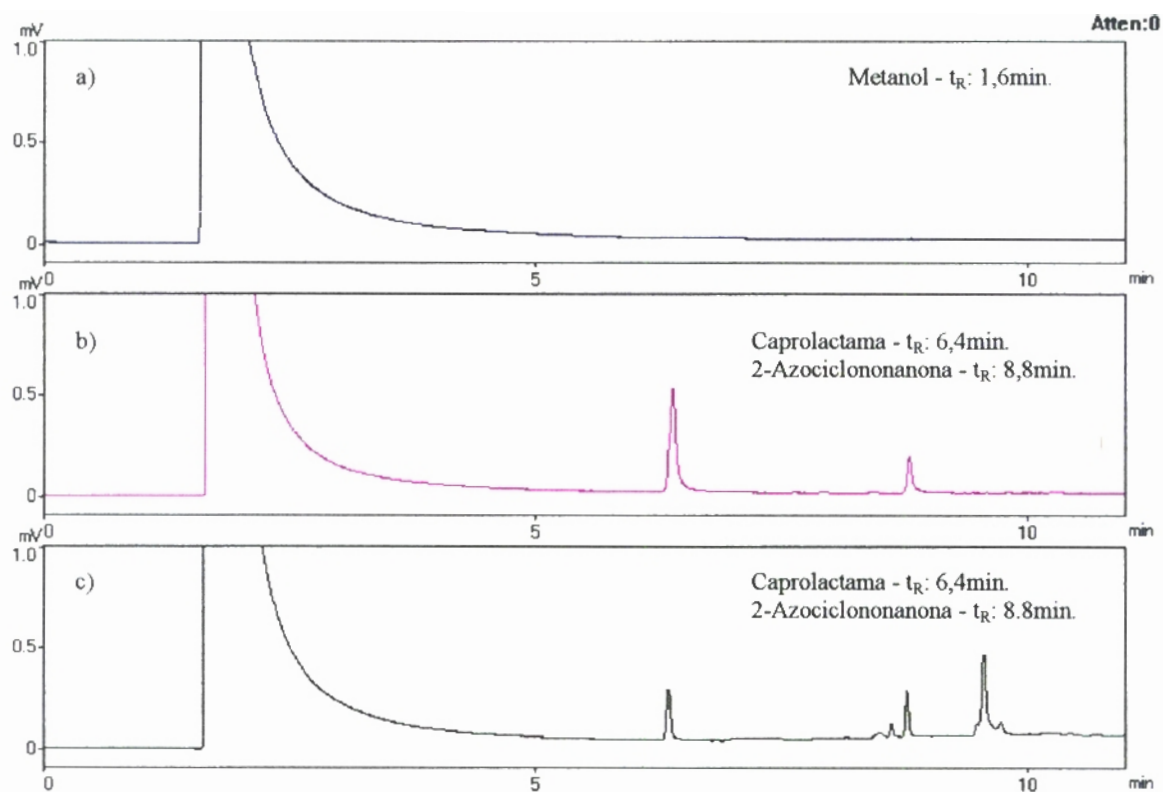


Figura 1. Cromatogramas de: (a) metanol e das soluções padrão de caprolactama e 2-azociclononanon em: (b) ácido acético 3% (80,00 e 14,20 μ g/mL, respectivamente) e (c) azeite de oliva (10,63 e 9,40 μ g/mL, respectivamente), obtidos em CG/DIC.

Tabela 1. Áreas dos picos referentes às soluções padrão de caprolactama (CP) em diferentes concentrações e 2-azociclononano (PI) (14,2µg/mL) em ácido acético a 3%, obtidas por CG/DIC.

		Concentração (µg/mL)									
		CP	PI	CP	PI	CP	PI	CP	PI	CP	PI
		1,60		16,01		64,00		160,11		640,00	
Área do pico (mV)		36	599	663	703	2343	683	6854	631	28409	677
		41	559	708	699	2592	699	6786	619	30082	692
		39	633	684	621	2614	607	6843	655	29374	687
		40	620	720	696	2433	643	7375	694	27742	637
		40	596	727	659	2588	694	7291	624	30050	685
		39	564	733	705	2620	703	7549	670	29770	704
		41	570	725	694	2413	654	7419	681	28256	671
		42	599	656	662	2372	640	7296	673	28547	698
		40	591	649	677	2619	684	7295	642	30218	703
		41	632	651	603	2623	678	7004	676	29224	694
Média (µg/mL)		39,9	596,3	691,6	671,9	2521,7	668,5	7171,2	656,5	29167,2	684,8
DP		1,7	26,6	34,6	35,7	116,1	31,2	274,0	26,2	878,8	19,9
CV (%)		4,2	4,5	5,0	5,3	4,6	4,7	3,8	4,0	3,0	2,9

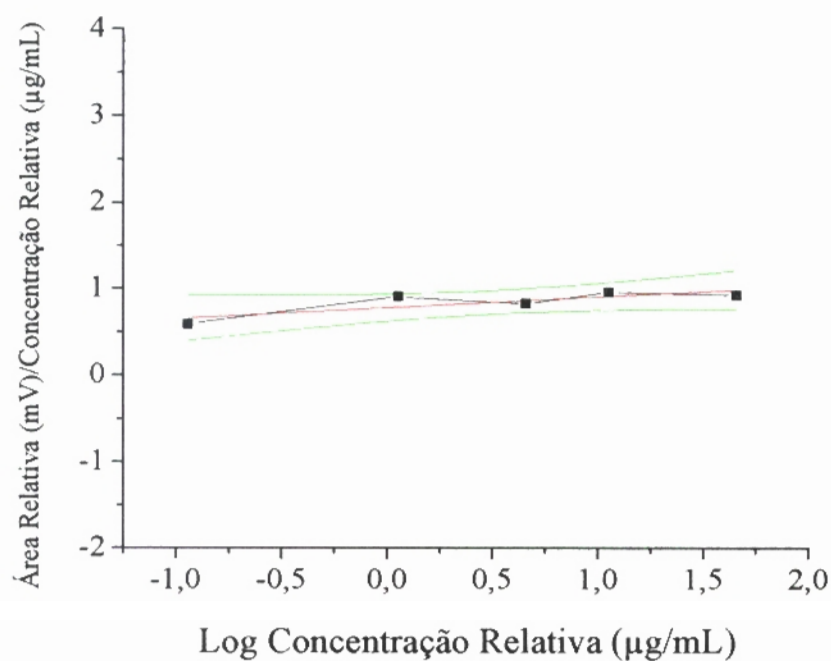
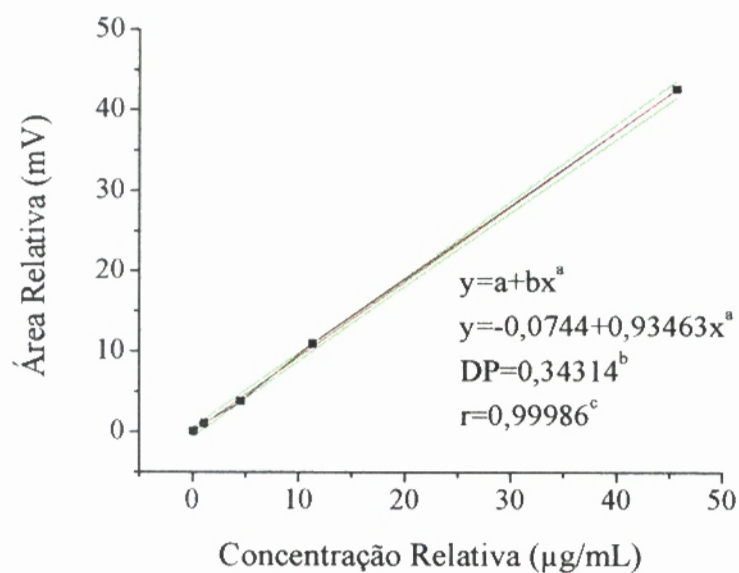
CP: caprolactama; PI: padrão interno; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação.

Tabela 2. Áreas dos picos referentes às soluções padrão de caprolactama (CP) em diferentes concentrações e 2-azociclononano (PI) (9,4 µg/mL) em azeite de oliva, obtidas por CG/DIC.

		Concentração (µg/mL)									
		CP	AZO	CP	AZO	CP	AZO	CP	AZO	CP	AZO
		0,80		1,06		10,63		531,03		1062,34	
Área do pico (mV)	50	588	71	653	581	603	37470	619	69559	623	
	52	629	67	575	623	653	36650	610	67326	561	
	46	610	64	592	589	580	37151	602	72847	593	
	47	642	68	617	631	626	36510	583	69263	568	
	47	637	73	636	613	654	36460	587	72630	589	
	47	575	74	551	580	579	34578	545	71739	582	
	49	607	72	573	630	629	34797	579	66846	561	
	48	599	69	601	568	601	34758	575	74562	625	
	48	576	65	587	593	585	38256	638	67383	550	
	52	576	67	593	591	584	35029	558	73052	605	
Média (µg/mL)	48,6	603,9	69	597,8	599,9	609,4	36165,9	589,6	70520,7	585,7	
DP	2,1	25,6	3,4	30,5	22,6	29,2	1297,4	28,2	2791,8	26,2	
CV(%)	4,4	4,2	4,9	5,1	3,8	4,8	3,6	4,8	4,0	4,5	

CP: caprolactama; PI: padrão interno; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação

a)



b)

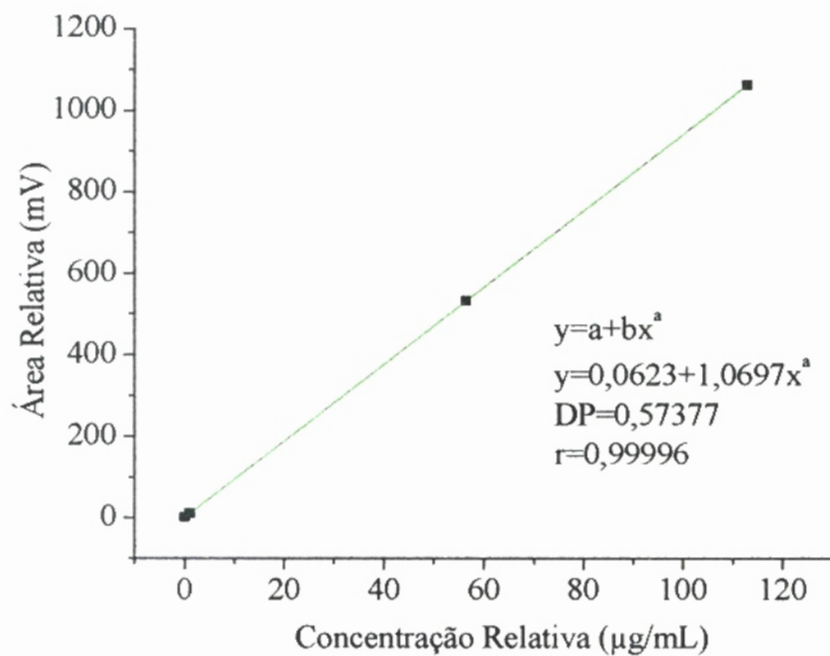
Figura 2. Determinação gráfica da linearidade em ácido acético 3%: (a) curva analítica; (b) gráfico da razão sinal relativo/concentração relativa vs. concentração relativa em escala logarítmica com intervalo de confiança de 95%.

^aEquação da reta

^bDesvio padrão

^cCoefficiente de correlação

a)



b)

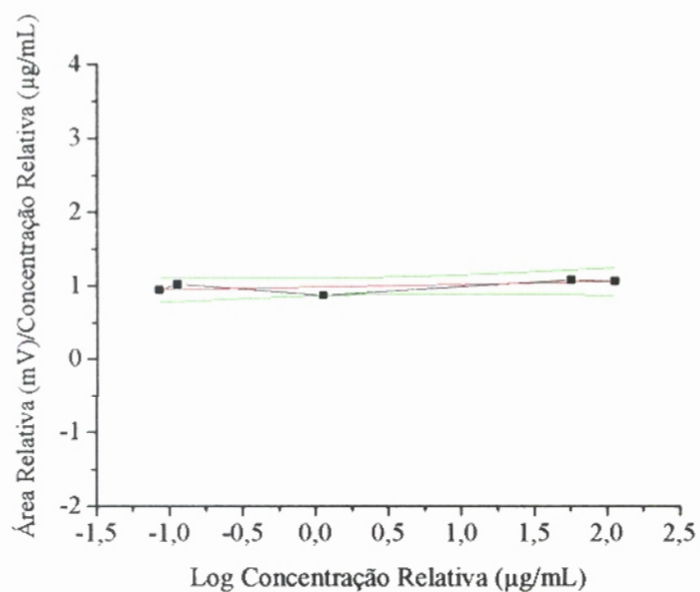


Figura 3. Determinação gráfica da linearidade em azeite de oliva: (a) curva analítica; (b) gráfico da razão sinal relativo/concentração relativa vs. concentração relativa em escala logarítmica com intervalo de confiança de 95%.

^aEquação da reta

^bDesvio padrão

^cCoefficiente de correlação

Tabela 3. Avaliação da exatidão e da precisão intra e inter-ensaios do método para determinação de caprolactama em ácido acético 3% utilizando CG/DIC.

Injeções	Repetibilidade (intra-ensaio)			Precisão Intermediária (inter-ensaio)		
	n=3	n=3	n=3	n=10	n=10	n=10
Concentração Real (µg/mL)	8,00	80,00	400,00	8,00	80,00	400,00
Concentração Obtida (µg/mL)	8,15	87,34	412,29	8,16	87,34	412,29
	8,43	87,28	414,54	8,10	87,28	414,54
	8,31	86,47	441,78	7,58	84,23	441,78
				8,12	82,12	426,04
				8,15	85,43	414,03
				8,43	86,47	394,23
				8,31	84,21	437,64
				7,73	87,90	393,40
				7,43	82,94	425,32
				8,38	80,40	437,97
Média (µg/mL)	8,3	87,0	422,9	8,0	84,8	419,7
DP	0,1	0,5	16,4	0,3	2,5	17,2
CV (%)	1,7	0,6	3,9	4,3	2,9	4,1
Exatidão (%)				100,5	106,0	104,9

DP, desvio padrão

CV, coeficiente de variação (%)

Tabela 4. Avaliação da exatidão e da precisão intra e inter-ensaios do método para determinação de caprolactama em azeite de oliva utilizando CG/DIC.

Injeções	Repetibilidade (intra-ensaio)			Precisão Intermediária (inter-ensaio)		
	n=3	n=3	n=3	n=10	n=10	n=10
Concentração Real ($\mu\text{g/mL}$)	2,13	160,30	797,28	2,13	106,30	797,28
	2,30	103,62	770,20	2,12	99,24	805,03
	2,30	103,01	788,71	2,34	103,62	805,44
	2,29	99,00	771,88	2,37	103,01	803,13
				2,35	98,57	788,27
Concentração Obtida ($\mu\text{g/mL}$)				2,34	97,84	770,20
				2,35	100,06	788,71
				2,36	93,90	771,88
				2,30	100,23	752,00
				2,30	99,00	792,81
				2,29	101,44	799,09
Média ($\mu\text{g/mL}$)	2,30	101,88	776,93	2,31	99,69	787,66
DP	0,0	2,5	10,2	0,1	2,8	17,8
CV (%)	0,4	2,5	1,3	3,1	2,8	2,3
Exatidão (%)				108,6	93,8	98,8

DP, desvio padrão

CV, coeficiente de variação (%)

Tabela 5. Quantidade de caprolactama (ng) e áreas do pico de caprolactama (CP) e 2-azociclononano (PI) obtidas no ensaio de determinação experimental do limite de detecção em ácido acético a 3%.

Quantidade de caprolactama (ng)	Área do pico da CP (mV)	Área do pico do PI (mV)
0,24 (n=6)	10	658
	10	638
	11	675
	10	687
	10	692
	11	683
Média	10,3	672,2
DP	0,5	20,5
CV (%)	5,0	3,1

DP, desvio padrão

CV, coeficiente de variação (%)

Tabela 6. Quantidade de caprolactama (ng) e áreas do pico de caprolactama (CP) e 2-azociclonononona (PI) obtidas no ensaio de determinação experimental do limite de detecção em azeite de oliva.

Quantidade de caprolactama (ng)	Área do pico da CP (mV)	Área do pico do PI (mV)
0,10 (n=6)	10	602
	11	575
	11	571
	11	593
	11	547
	10	592
Média	10,7	580,0
DP	0,5	20,0
CV	4,8	3,4

DP, desvio padrão

CV, coeficiente de variação (%)

Tabela 7. Quantidade de caprolactama ($\mu\text{g/mL}$) e áreas do pico de caprolactama (CP) e 2-azociclononano (PI) obtidas no ensaio de determinação experimental do limite de quantificação em ácido acético 3%.

Quantidade de caprolactama ($\mu\text{g/mL}$)	Área do pico da CP (mV)	Área do pico do PI (mV)
1,60 (n=10)	36	599
	41	559
	39	633
	40	620
	40	596
	39	564
	41	570
	42	599
	40	591
	41	632
Média	39,9	596,3
DP	1,7	26,6
CV (%)	4,2	4,5

DP, desvio padrão

CV, coeficiente de variação (%)

Tabela 8. Quantidade de caprolactama ($\mu\text{g/mL}$) e áreas do pico de caprolactama (CP) e 2-azociclonononona (PI) obtidas no ensaio de determinação experimental do limite de quantificação em azeite de oliva%.

Quantidade de caprolactama ($\mu\text{g/mL}$)	Área do pico da CP (mV)	Área do pico do PI (mV)
0,80 (n=10)	50	588
	52	629
	46	610
	47	642
	47	637
	47	575
	49	607
	48	599
	48	576
	52	576
Média	48,6	603,9
DP	2,1	25,6
CV (%)	4,4	4,2

DP, desvio padrão

CV, coeficiente de variação (%)