

DETERMINAÇÃO DE MONÔMERO E ADITIVO EM EMBALAGENS PLÁSTICAS DESTINADAS A ENTRAR EM CONTATO COM ALIMENTOS

DANIELA F. OLIVEIRA¹; MARISA PADULA²; MARY A. F. PEREZ³

Nº 11235

RESUMO

As embalagens plásticas ganharam força no mercado devido suas características, como a variedade de polímeros existentes, as diferentes propriedades adquiridas com diferentes estruturas químicas, a transparência, leveza, em alguns casos a rigidez e em outros a flexibilidade. Um importante e preocupante aspecto pelo uso de embalagens plásticas para contato direto com alimentos é a interação material/alimento. Os materiais plásticos não são inertes e componentes da embalagem podem vir a migrar para o alimento acondicionado e em alguns casos em níveis significativos de toxicidade para o organismo humano. A legislação estabelece restrições para o uso de substâncias potencialmente tóxicas. Estas restrições são feitas através de listas positivas que apresentam uma relação de substâncias aprovadas para uso na formulação de materiais de embalagem, que foram previamente estudadas e analisadas e que não apresentam riscos para uso em embalagem para contato direto com alimentos, desde que sejam observadas as restrições estabelecidas como limite de migração específica. Para avaliação da migração destas substâncias a interação embalagem/alimentos, ensaios com simulantes de alimentos são realizados para quantificar o teor da substância migrante. Por outro lado, há outros métodos para estimar a migração destas substâncias para os alimentos como modelos matemáticos com bancos de dados validados ou através de cálculos considerando o pior caso da migração, ou seja, toda substância de interesse livre no material de embalagem migra para o alimento. A vantagem em utilizá-los está em conseguir resultados mais rapidamente. Para uso destas ferramentas, um dado essencial é a quantidade da substância livre no material de embalagem. Para tanto, é

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Eng. de Alimentos, Unicamp, Campinas-SP,
daniela_fornaziero@yahoo.com.br ou danielaf@fea.unicamp.br.

² Orientadora: Pesquisadora, CETEA/ITAL, Campinas-SP, mpadula@ital.sp.gov.br.

³ Colaboradora Técnica: Pesquisadora-Tecnológica, CETEA/ITAL, Campinas-SP, mary@ital.sp.gov.br.

necessário o desenvolvimento e a prévia validação de métodos analíticos capazes de avaliar as substâncias de interesse. Neste projeto, foi desenvolvido um método para determinação do monômero 1-octeno em embalagens de polietileno linear de baixa densidade (PELBD) por cromatografia gasosa. O método foi validado atendendo as exigências feitas pela ANVISA (BRASIL, 2003) e pelo INMETRO (INMETRO, 2010).

ABSTRACT

The plastic packages gained the market because of their different characteristics and properties obtained with their different chemical structures, transparency and lightness, rigidity in some cases and in other the flexibility. An important aspect of the use of plastic packaging for direct food contact is the interaction material / food. The plastics are not inert and packaging components can migrate to food and in a few cases in significant levels of toxicity for humans. The legislation establishes restrictions on the use of potentially toxic substances. These restrictions are made through positive lists that present a relation of substances approved for use in the formulation of packaging materials, which were previously studied and analyzed and have no risks for use in packaging for direct food contact, provided they are in compliance with restrictions set forth as specific migration limit. To evaluate the migration of these substances, tests with food simulants are performed to quantify the content of the migrant substance. However, there are other methods to estimate the migration of these substances to foods as mathematical models with validated databases or by calculation considering the worst case of migration, ie, all the interest free substance in the packaging material migrates to food. The advantage of using them is to get results in less time. To use these tools, an essential data is the amount of free substance in the packaging material. Therefore, it is necessary to develop and to validate an analytical method able to evaluate the substance of interest. In this project a method for determining the monomer 1-octene in packages of linear low density polyethylene (LLDPE) by gas chromatography was developed. The method was validated taking into account the requirements established by ANVISA (BRAZIL, 2003) and INMETRO (INMETRO, 2010).

INTRODUÇÃO

A embalagem, em sua definição clássica, tem como função proteger os produtos que ela contém, facilitar o manuseio, armazenagem e transporte, promover o

produto e a marca e estimular sua venda. De modo geral as embalagens podem ser classificadas por sua matéria prima base: embalagens plásticas (a base de polímeros), celulósicas (a base de papel), vídricas (a base de vidro) e metálicas (a base de metal).

As embalagens plásticas são sempre muito buscadas por concentrarem nelas diversas características dos demais tipos de materiais. Segundo Gorni (2011), há diversas maneiras de se identificar os polímeros, porém a classificação conforme as características mecânicas talvez seja a mais importante. Ela decorre da configuração específica das moléculas dos polímeros, sendo considerados os termoplásticos, termorrígidos (termofixos) e elastômeros (borrachas).

Termoplásticos são os chamados plásticos e constituem a maior parte dos polímeros comerciais atuais. Entre os polímeros estão as chamadas poliolefinas, polímeros compostos apenas por carbonos e hidrogênios (SARANTÓPOULOS et. al, 2002), que representam a grande parte da demanda mundial de termoplásticos, onde são bem representados pelos polietilenos e polipropilenos (COUTINHO et. al., 2003).

As poliolefinas podem ser classificadas em homopolímeros ou copolímeros, dependendo se são compostas por uma ou mais espécies de monômeros (pequena molécula que pode ligar-se a outros monômeros formando polímeros). Neste caso, as diferentes espécies que os compõem são denominadas comonômeros (LEMOS et. al, 2008).

Polietileno linear de baixa densidade (PELBD) é um copolímero linear formado por etileno e uma α -olefina (propileno, 1-butenos, 1-hexeno ou 1-octeno). Este apresenta estrutura molecular de cadeias lineares com ramificações curtas (SARANTÓPOULOS et. al., 2002). As ramificações de cadeia curta influenciam a morfologia e outras propriedades físicas como rigidez, densidade, dureza e resistência à tração do polímero.

Para efetuar a produção de PELBD, adiciona-se à resina de etileno os monômeros desejados, onde ocorrerá entrada das moléculas de 1-octeno, por exemplo, na estrutura do polímero, formando assim as ramificações curtas característica do PELBD.

Durante a polimerização, algumas moléculas adicionadas podem não entrar na cadeia polimérica, restando monômeros livres no filme e estes podem migrar pelo material em direção a superfície do material. Havendo interação química favorável e contato direto do produto acondicionado com a embalagem é possível a saída da substância para o alimento. Essa migração pode causar tanto alterações no produto

quanto prejudicar a saúde do consumidor, caso a molécula apresente nível significativo de toxicidade. (LEMOS, 2008)

Para avaliar quais dessas substâncias e quanto delas saem do material, métodos conhecidos como ensaios de migração total e específica foram desenvolvidos e são realizados em simulantes de alimentos a fim de reproduzir a interação que ocorre entre a embalagem e o produto.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou recentemente a Resolução RDC nº 51 de 26 de novembro de 2010 (BRASIL, 2010) onde descreve as condições em que devem ser realizados os ensaios de migração e quais são os simulantes adotados pela Legislação Brasileira e MERCOSUL. Além disso, a legislação de embalagem para contato com alimento apresenta uma Lista Positiva contendo as substâncias permitidas para uso na composição de embalagens e estabelece o limite de migração específica (LME) para cada um desses compostos. A lista positiva de polímeros e resinas para embalagens para contato com alimento está no Anexo II, na Resolução nº 105 de 19 de Maio de 1999 (BRASIL, 1999). O limite de migração específica para o monômero 1-octeno é de 15mg/kg de simulante, por exemplo.

Um agravante neste tipo de análise é o tempo. Ensaios de migração demandam um tempo de analista e equipamento muito prolongado. Como nova alternativa de método para avaliação da migração de substâncias, desde 1994 vem-se discutindo a utilização de modelos matemáticos validados, que se baseiam nos modelos de difusão de Fick (BARNER et al., 1994). Ou ainda, esta determinação pode ser feita através de cálculos considerando o pior caso da migração, ou seja, toda substância de interesse livre no material de embalagem migra para o alimento. A vantagem em utilizá-los está em conseguir resultados mais rapidamente. Para uso destas ferramentas, um dado essencial é a quantidade da substância livre no material de embalagem. Para tanto, é necessário o desenvolvimento e a prévia validação de métodos analíticos capazes de avaliar as substâncias de interesse.

Desta forma, os objetivos deste trabalho foram: desenvolver e validar, segundo a ANVISA (ANVISA, 2003) e INMETRO (INMETRO, 2010) o método de determinação do monômero 1-octeno livre em filmes de polietileno linear de baixa densidade (PELBD) e quantificação por cromatógrafo a gasosa e detecção por ionização de chama e estimar a migração do monômero livre para o alimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras e Reagentes

O 1-octeno (pureza>99%, Sigma Aldrich) foi utilizado como padrão analítico, isooctano (pureza>99%, Sigma Aldrich) como padrão interno e dimetilacetamida (DMA) (pureza>99%, Sigma Aldrich) como solvente de extração. As soluções utilizadas foram a solução-mãe de isooctano (2mg/mL) e de 1-octeno (2mg/mL). As amostras utilizadas para testes de extração foram filmes de PELBD contendo 12, 14 e 16% de 1-octeno na sua formulação segundo informações recebidas dos fabricantes dos filmes.

Condições cromatográficas:

Cromatógrafo a gás com detecção por ionização de chama modelo Agilent Technologies 6890N.

Para o método desenvolvido foi utilizada coluna capilar HP 1 100% dimetilpolisiloxano (30 m x 0,53 mm x 1,5 μ m), operando com programação de temperatura: inicial de 110 °C/11 minutos, razão de 10 °C/min até 150 °C, permanecendo nessa temperatura por 30 minutos. Tempo total de corrida: 35 minutos. Temperatura do injetor foi de 150 °C e do detector de 250 °C. Para os gases, utilizou-se os fluxos de 1,8 mL/min de hélio, 40 mL/min para o hidrogênio, 80 mL/min de oxigênio. Split de 18,5 mL/min (10:1) e pressão constante de 1,97 psi.

Amostrador automático de espaço-livre (*headspace*) modelo HP 7694E.

A temperatura de aquecimento utilizada foi de 110 °C, para o loop de 125 °C e para a linha de transferência (tr. line) de 130 °C. Os parâmetros de tempo são apresentados abaixo:

- Tempo de ciclo (cycle time): 40 minutos
- Tempo de aquecimento do vial (vial eq. time): 30 minutos
- Tempo de pressurização do vial (pressuriz. time): 0,50 minutos
- Tempo de enchimento do loop (loop fill. time): 0,20 minutos
- Tempo de equilíbrio do vial (loop eq. time): 0,10 minutos
- Tempo de injeção (inject time): 0,50 minutos

Método de Extração:

Aproximadamente 2,0 g de amostra moída foram pesadas em erlenmeyer de 250mL e adicionou-se volumetricamente 50mL de DMA. A amostra tampada foi colocada para extração em banho de ultra-som (45Hz) à 70°C/45min. Após finalizada essa etapa separou-se o extrato da amostra em sistema de filtragem simples. Retirou-se 4,75mL do extrato obtido o qual foi colocado em frasco de vidro de 20mL adequado para headspace, e em seguida adicionou-se 46µL da solução-mãe de isooctano. O frasco foi lacrado e o extrato aquecido por 30 minutos no headspace e em seguida o espaço-livre do frasco foi analisado em CG/FID nas condições descrita à cima.

Validação do Método de Determinação do monômero 1-octeno:

Para validação do método foram seguidas as exigências feitas pela ANVISA (BRASIL, 2003) e pelo INMETRO (INMETRO, 2010). Os parâmetros avaliados foram: seletividade, linearidade, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), recuperação, repetibilidade e precisão intermediária.

Seletividade: Avaliou-se diversos solventes para estabelecer o método de extração. Os pontos limitantes foram o tempo de retenção no cromatógrafo e pureza do solvente.

Linearidade: Após estabelecidas as concentrações dos pontos da curva analítica de 1-octeno em DMA (2,35; 4,70; 9,40; 18,80; 37,60µg/mL), as soluções foram injetadas em triplicatas e calculadas as equações das retas ($y = ax + b$), coeficiente de correlação das retas e o desvio-padrão dos coeficientes de correlação.

LD e LQ: Os limites de detecção e quantificação foram determinados injetando sete replicatas do primeiro ponto da curva analítica (2,35µg/mL) e realizados os cálculos a seguir:

Cálculo para determinação do LD e LQ segundo a ANVISA:

$$LD = \frac{DPa * 3}{IC} \quad DPa: \text{Desvio padrão do coeficiente linear}$$
$$LQ = \frac{DPa * 10}{IC} \quad IC: \text{Média do coeficiente angular}$$

Cálculo para determinação do LD e LQ segundo o INMETRO:

$$LD = 0 + (t * s) \quad t: \text{Distribuição de Student} = 3,143$$
$$LQ = M + (5 * s) \quad s: \text{Desvio amostral padrão da concentração}$$

M: Média das concentrações

Recuperação: Depois de estabelecido o método de extração, para o ensaio de recuperação as amostras foram contaminadas em três concentrações diferentes:

87,50, 350,0 e 700,0 mg de 1-octeno /kg de filme de PELBD. O padrão-interno na concentração de 500mg/kg de amostra foi adicionada em todas as amostras, as quais foram analisadas em triplicatas.

Repetibilidade: Essa etapa foi realizada injetando sete replicatas de três concentrações diferentes (3,5; 14,0 e 28,0 µg/mL) contidas dentro da faixa linear do método e avaliou-se sua repetibilidade.

Precisão Intermediária: Para avaliar a precisão intermediária do método foram realizadas as mesmas etapas descritas em Repetibilidade em dois dias diferentes e seguidos, a fim de testar se o método reproduz resultados semelhantes com um intervalo de tempo considerável entre as análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 ilustra um cromatograma do 1-octeno e do padrão-interno (isooctano) e a Tabela 1 apresenta os resultados obtidos na validação do método de quantificação do monômero de 1-octeno.

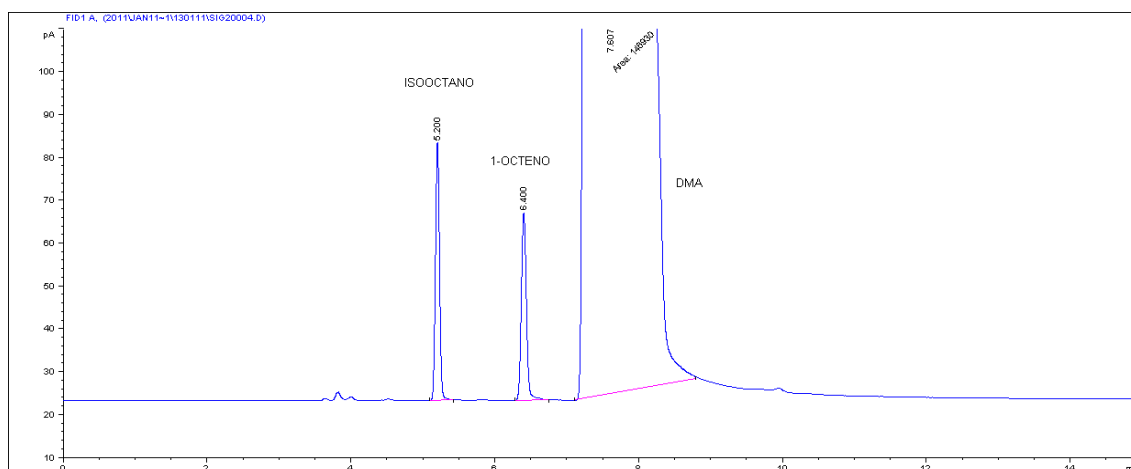


FIGURA 1. Cromatograma contendo pico do padrão-interno/isooctano (20µg/mL), pico de 1-octeno (37,6 µg/mL) em DMA, respectivamente.

Determinação de 1-octeno em filmes de PELBD

Com o método estabelecido foram analisadas três amostras recebidas de fornecedores de embalagens nacionais com teores de 12, 14 e 16% de 1-octeno. Os resultados obtidos foram abaixo do limite de detecção do método. Considerando o limite de quantificação obtido segundo o Inmetro como a quantidade de 1-octeno na amostra foi possível fazer o cálculo do pior caso (worst-case), a relação área de embalagem/quantidade de alimento de 600 cm²/1000 g e a gramatura média dos

filmes de PELBD de 70g/m², o resultado obtido foi de 0,40mg de 1-octeno /kg de simulante/alimento. Desta forma este resultado indica que as amostras atendem o limite estabelecido pela legislação de 15 mg/kg.

TABELA 1. Resultados da validação do método de determinação de 1-octeno.

Parâmetro	Resultado para ANVISA e INMETRO				
Seletividade	Uso de DMA				
Linearidade	Eq. Reta	R ²	Desvio Padrão (D.P.)		
	y=5,422x - 3,3611	0,99938			
	y=5,302x - 3,4651	0,99946	0,00703		
	y=5,407x - 4,1246	0,99932			
Limite de Detecção	ANVISA	0,23 µg/mL			
	INMETRO	0,60 µg/mL			
Limite de Quantificação	ANVISA	0,77 µg/mL			
	INMETRO	3,80 µg/mL			
Repetibilidade		3,5 µg/mL	14 µg/mL	28 µg/mL	
	D.P.	0,0412	0,0453	0,1918	
	C.V.	1,37%	0,37%	0,76%	
Precisão Intermediária		3,5µg/mL	14µg/mL	28µg/mL	
	Dia 1	D.P.	0,0412	0,0453	0,1918
		C.V.	1,37%	0,37%	0,76%
	Dia 2	D.P.	0,0316	0,0567	0,1269
		C.V.	1,04%	0,46%	0,50%
	Recuperação	Rec (%)	87,5mg/kg	350mg/kg	700mg/kg
100,8			114,0	122,5	

CONCLUSÃO

Analisando os resultados obtidos, o método de determinação de 1-octeno em filmes de polietileno linear de baixa densidade por cromatografia gasosa e detecção por ionização de chama foi validado segundo a Anvisa e o Inmetro. O método apresenta boa sensibilidade e precisão, sendo estabelecido os valores de limite de quantificação (LQ) de 0,77µg/mL e 3,80 µg/mL segundo a ANVISA e INMETRO, respectivamente. Os valores de coeficiente de variação de repetibilidade e precisão

intermediária ficaram abaixo de 2%, a faixa linear foi de 2,35 á 37,60 µg/mL e a recuperação foi considerada boa. Ao utilizar a ferramenta de cálculo do estudo do pior caso (worst-case), o resultado obtido foi abaixo do estabelecido pela legislação

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.
Ao CETEA – ITAL, pela oportunidade de estágio.
A FAPESP, pelo apoio financeiro para execução do projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANER, A. L.; FRANZ, R.; PIRINGER, O. Alternative methods for the determination and evaluation of migration potential from polymeric food contact materials. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, Hamburg, v. 90, n. 6, p. 181-185, 1994.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 51, de 26 de Novembro de 2010. Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Migração em Materiais, Embalagens e Equipamentos Plásticos Destinados a Entrar em Contato com Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 nov. 2010. Disponível em: <<http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/106390-51.html>>. Acesso em 18 fev. 2011.

BRASIL Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC nº 105, de 19 de Maio de 1999. Regulamento Técnico e Disposições Gerais para Embalagens e Equipamentos Plásticos em contato com Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 maio 1999. Disponível em: <http://www.fiscolex.com.br/doc_347188_RESOLUCAO_N_105_19_MAIO_1999.aspx>. Acesso em: 18 fev. 2011.

COUTINHO, Fernanda M. B.; MELLO, Ivana L.; SANTA MARIA, Luiz C. **Polietileno**: principais tipos, propriedades e aplicações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/po/v13n1/15064.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2011.

GORNI, Antônio A. Introdução aos plásticos: materiais de nosso dia a dia. Disponível em: <http://www.ingaprojetos.com.br/download/INTRODUCAO_AOS_PLASTICOS%5B1%5D.pdf>. Acesso em: 11 jan. 2011.

INMETRO. Coordenação Geral de Acreditação. **DOQ-CGCRE-008**: orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro, fev. 2010. 20 p. Revisão nº 03.

LEMONS, Aline B.; SARANTÓPOULOS, Claire I. G. L.; ITO, Danielle et al. **Embalagens plásticas rígidas**: principais polímeros e avaliação de qualidade. Campinas, SP: CETEA/ITAL, 2008. 372 p.

SARANTÓPOULOS, Claire I. G. L.; GARCIA, Eloísa E. C.; COLTRO, Leda; OLIVEIRA, Léa M.; PADULA, Marisa; ALVES, Rosa M. V. **Embalagens plásticas flexíveis**: principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas, SP: CETEA/ITAL, 2002. 267 p.