

Desenvolvimento e validação de metodologia para determinação da migração específica de plastificantes para filmes de PVC estiráveis para contato com alimentos - I

TAMAIRA I. S. **SILVA**¹; LEDA. **COLTRO**²; CAMILA. **GODOY**³

Nº 12247

RESUMO

Diferentes tipos de aditivos vêm sendo desenvolvidos a fim de aperfeiçoar o desempenho dos polímeros durante o processamento, fabricação e uso de embalagens plásticas, sendo inclusive empregados intensamente empregados no mercado de embalagem alimentícia. Muitos destes aditivos podem apresentar restrições sanitárias, devido a isso foram criadas regulamentações quanto à natureza química e à quantidade de aditivos presentes nas embalagens plásticas para alimentos com o objetivo de proteger os consumidores, uma vez que o contato dos alimentos com as embalagens pode possibilitar a migração de constituintes da própria embalagem para o produto. Neste estudo um novo plastificante de fonte renovável (mistura de acetatos de glicerina) foi avaliado como proposta de aplicação em filmes de PVC estiráveis no Brasil. Assim, neste estudo foram desenvolvidos e validados métodos para determinação da migração do plastificante de filmes de PVC em contato com simulante de alimentos aquosos ácidos (solução aquosa de ácido acético 3%) e simulante de alimento gorduroso isooctano, empregando di-isobutil ftalato (DIBP) como padrão interno. Também foi validado o método de extração do plastificante do simulante ácido. Foram utilizados os critérios de validação de métodos analíticos estabelecidos pelo INMETRO. A validação do método de migração do plastificante para simulante ácido foi satisfatória visto que todos os parâmetros exigidos pelo INMETRO foram atendidos. A validação do método para o simulante gorduroso foi efetuada parcialmente. Também foram realizados ensaios comparativos de migração específica do plastificante em filmes de PVC, com diferentes composições e concentrações desse plastificante, para o simulante ácido validado. Os resultados mostraram que o poder extrativo do simulante ácido é insuficiente para provocar a migração do Mistura de acetatos de glicerina nas composições estudadas.

¹ Bolsista CNPq: Graduação Química Bacharelado, UNICAMP, Campinas-SP, tamairasaldanha@hotmail.com.

² Orientadora: Pesquisadora, CETEA/ITAL, Campinas-SP.

³ Colaborador: Aluna, Graduação Química Bacharelado, UNICAMP, Campinas-SP.

ABSTRACT

Different types of additives have been developed in order to Improve the performance of the polymers during processing, manufacture and use of plastic containers, being largely employed in the food packaging market. Many of these additives can have sanitary restrictions and then regulations were elaborated regarding the chemical nature and the amount of additives used in plastic containers for food packaging in order to protect the consumers, since the contact of the food with the packaging may allow the migration of constituents from the packaging to the product. In this study a new plasticizer from renewable sources - a mixture of glycerine acetates has been evaluated as a proposal for the application of stretch PVC film in Brazil. Thus, this study addressed the development and validation of methods for determination of specific migration of the mixture of glycerine acetates plasticizer from PVC films in contact with acid aqueous food simulant (aqueous acetic acid solution 3%) and fatty food simulant isooctane, employing di-isobutyl phthalate (DIBP) as internal standard. A method for plasticizer extraction from the acid food simulant was also validated. The method validation criteria established by INMETRO were employed. The validation of the migration method of mixture of glycerine acetates to acid food simulant was adequate since all parameters established by INMETRO were accomplished. The validation of the migration method of the plasticizer to fatty food simulant was done partially. Comparative analyses of specific migration of mixture of glycerine acetates from PVC films, with different compositions and concentrations of these plasticizers, to food simulants were performed. The results showed that the extractive power of the acid food simulant is insufficient to cause the migration of mixture of glycerine acetates for the PVC compositions studied.

INTRODUÇÃO

Os aditivos usados em embalagens de alimentos são regulamentados via Listas Positivas, a exemplo da Resolução n.17, de 18 de março de 2008, na qual a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA estabelece a restrição de uso, limite de composição e/ou limite de migração específica para os aditivos em embalagens plásticas em contato com alimentos (AGÊNCIA..., 2008).

Os filmes de PVC são empregados para acondicionar uma grande variedade de produtos alimentícios, tais como carnes, queijos, embutidos, frutas, legumes, etc. e

devido à alta concentração de plastificantes nestes filmes, é muito importante avaliar a segurança do consumidor ao ingerir alimentos que ficaram em contato com estes materiais de embalagem.

Para garantir a segurança do consumidor é preciso conhecer todas as substâncias presentes nos alimentos, bem como a suas concentrações o que pode ser feito por análises químicas. Como os alimentos são sistemas bastante complexos, os estudos de migração de componentes das embalagens plásticas para os alimentos podem ser realizados utilizando-se simulantes de alimentos, sendo que os limites de migração são regulamentados pela Resolução nº 17, da ANVISA e pelas Diretivas 2005/79, 2002/72, 82/711 e 85/572, da Comunidade Européia (AGÊNCIA..., 2008; DIRETIVA..., 2002; DIRETIVA..., 2005; DIRETIVA..., 2007).

Assim, este estudo teve por objetivo desenvolver e validar métodos de ensaio para a determinação de migração específica da mistura de acetatos de glicerina para simulantes de alimentos. Este plastificante tem como matéria prima moléculas de fonte renovável e possui limite de migração específica de 60 mg/kg .

MATERIAL E MÉTODOS

Validação do método de extração de Mistura de acetatos de glicerina em simulante ácido:

A extração do plastificante contido no simulante ácido foi validada verificando-se a eficiência da extração do plastificante presente no simulante ácido por solventes e por métodos de extração diferentes.

Inicialmente, foi avaliada a influência do solvente utilizando-se sete soluções de diferentes concentrações de mistura de acetatos de glicerina em simulante ácido, transferindo-se 25 mL de cada solução para erlenmeyers contendo sulfato de sódio. Aos erlenmeyers foram adicionados 25 mL de n-heptano p.a., levando-os para banho de ultra-som, por quinze minutos e deixando-os em repouso por uma hora até a separação das fases. Em balões volumétricos de 5 mL foram preparadas soluções de 20 mg/kg de padrão interno DIBP em n-heptano, completando-se o volume dos balões com a fase orgânica dos erlenmeyers. Realizaram-se injeções no GC, em triplicata. Repetiu-se o procedimento, utilizando-se o hexano em substituição ao n-heptano.

Após a escolha do solvente, comparou-se o método de extração realizado em erlenmeyer com o método de extração líquido-líquido utilizando-se funil de separação.

Utilizaram-se sete soluções de diferentes concentrações de mistura de acetatos de glicerina em simulante ácido, das quais foram transferidos 25 mL de cada solução para funis de separação. A extração foi realizada com três alíquotas de 10, 10 e 5 mL de n-heptano, sendo o funil agitado durante um minuto e deixado em repouso por dez minutos, adicionando-se solução saturada de cloreto de sódio, caso necessário, para separação das fases. As alíquotas de fase orgânica foram recolhidas no mesmo recipiente contendo sulfato de sódio anidro p.a.. Preparou-se uma solução de 50 mg/kg de DIBP, completando-se o volume com a fase orgânica obtida anteriormente. As soluções foram injetadas no CG, em triplicata. Avaliaram-se ambos os métodos de extração e escolheu-se para validação do método a extração realizada com funil de separação, testando-se ainda diferentes volumes de solvente para extração.

Validação da migração específica de Mistura de acetatos de glicerina para simulante ácido:

Para validação do método, procedeu-se à extração das soluções nas concentrações de 6,7, 20, 40, 60, 80, 100 e 120 mg/kg de Mistura de acetatos de glicerina em simulante ácido em balões de 25 mL. Após o procedimento de extração e preparo das soluções com padrão interno, as soluções estavam nas concentrações de 5, 15, 30, 45, 60,75 e 90 mg/kg de Mistura de acetatos de glicerina e 50 mg/kg de padrão interno. As soluções foram injetadas no CG, em triplicata. Após a obtenção dos resultados, validou-se o método de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo INMETRO: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, recuperação, precisão, exatidão e robustez (INMETRO, 2010).

Ensaio com simulante gorduroso alternativo isooctano:

Para validação da migração específica do plastificante Mistura de acetatos de glicerina em simulante alternativo isooctano, prepararam-se soluções de Mistura de acetatos de glicerina em isooctano nas concentrações de 10, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 mg/kg. As soluções foram injetadas no CG, em triplicata, nas condições cromatográficas selecionadas anteriormente para validação.

Equipamentos:

A validação do método e quantificação do plastificante foi feita empregando-se cromatógrafo gasoso da marca Agilent, modelo 7890A, com detector de ionização em chama (CG/FID), com injetor automático.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação do método de ensaio de migração específica da Mistura de acetatos de glicerina em simulante ácido e gorduroso

A validação do método de ensaio de migração específica da Mistura de acetatos de glicerina em simulante ácido (solução aquosa de ácido acético 3% m/v) e gorduroso (isooctano) foi feita baseando-se nos critérios para validação de métodos analíticos do INMETRO, considerando os seguintes aspectos: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, recuperação, precisão, exatidão e robustez (INMETRO, 2010).

Linearidade

As curvas obtidas apresentam 7 pontos e o LME do plastificante Mistura de acetatos de glicerina de 60 mg/kg, está na faixa intermediária da curva (Figuras 1 e 2).

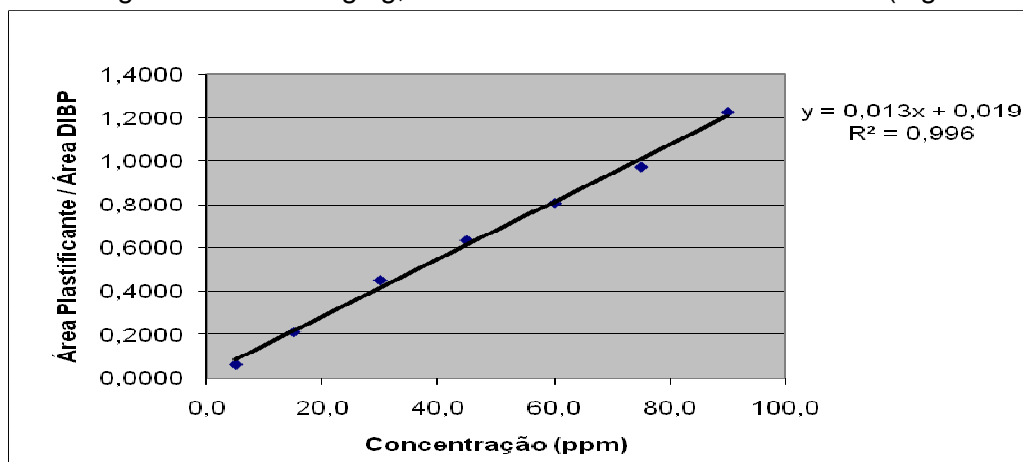


FIGURA 1. Curva de calibração da Mistura de acetatos de glicerina em simulante ácido

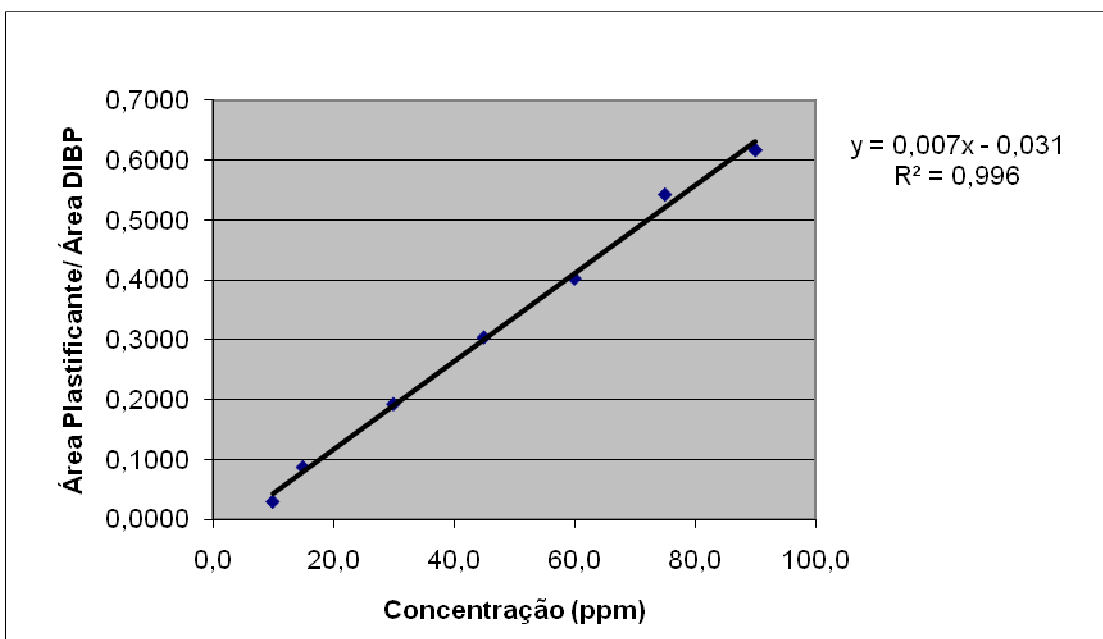


FIGURA 2. Curva de calibração da Mistura de acetatos de glicerina em simulante gorduroso isooctano.

De acordo com a ANVISA, o coeficiente deve ser maior que 0,9900 (AGÊNCIA, 2003). Portanto, em ambos os métodos conclui-se que a linearidade está de acordo com o requisitado.

Limites de Detecção e Quantificação

O Limite de Detecção (LD) corresponde à menor concentração de Mistura de acetatos de glicerina presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada. Já a menor concentração do plastificante em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis é obtida por meio do Limite de Quantificação (LQ). Os métodos apresentaram limite de detecção e limite de quantificação bem inferiores ao LME de 60 mg/kg para este plastificante (Tabela 1).

Tabela 1: Limite de Detecção (LD) e Quantificação (LQ) para simulantes ácido e gorduroso isooctano.

Limite	Simulantes	
	Ácido	Gorduroso
Detecção (LD)	0,09	7,55

Quantificação (LQ) 3,94 24,20

Precisão e Exatidão

Foram construídas duas curvas com concentrações de 30, 60 e 90 mg/kg de Mistura de acetatos de glicerina e 50 mg/kg de DIBP, sendo cada curva obtida por um analista diferente. Para o preparo das soluções foram adicionadas alíquotas de 0,375, 0,750 e 1,125 mL das soluções padrão de plastificante (2000 mg/kg) em balões volumétricos de 25 mL e completado o volume com simulante ácido e gorduroso.

A precisão de repetitividade foi calculada utilizando-se apenas uma das duas curvas e foi obtida pelo Desvio Padrão Relativo (DPR) entre as replicatas:

$$DPR = (DP / CMD) \times 100$$

Onde: DP= desvio padrão; CMD= concentração média determinada.

A precisão intermediária foi obtida pelo mesmo cálculo de desvio padrão apresentado anteriormente, mas considerando-se as duas curvas analíticas, foram feitas oito injeções de cada concentração.

A exatidão foi calculada a partir da mesma curva construída para determinação da precisão. A exatidão é avaliada por meio do cálculo do erro relativo (ER), expresso em porcentagem por meio da expressão:

$$ER = (C_{lab} - C_v / C_v) \times 100$$

Na Tabela 2 e 3 são apresentados os valores de precisão e exatidão obtidos na validação.

TABELA 2. Valores da precisão do método para os simulantes ácido e gorduroso

Simulantes	Precisão			
	Intercorridas		Intracorridas	
Ácio	30	0,79	30	2,17
	60	3,01	60	3,78
	90	2,52	90	3,03
	30	0,99	30	*
Gorduroso	60	0,86	60	*
	90	1,42	90	*

*a reprodutibilidade do ensaio em simulante gorduroso ainda não foi realizada

Segundo a ANVISA, os valores aceitáveis de precisão devem apresentar variação máxima de 5% para que o método seja eficiente e passível de validação. Os resultados apresentados na Tabela 2 demonstram que a precisão do método é adequada.

TABELA 3. Valores da exatidão do método para os simulantes ácido e gorduroso

Simulante	Conc. (mg/kg)	Exatidão (%)
Ácido	30	4,83
	60	0,32
	90	3,42
Gorduroso	30	1,12
	60	-2,44
	90	0,50

Segundo a ANVISA, os valores aceitáveis de exatidão devem apresentar variação máxima de 5% para que o método seja eficiente e passível de validação. Os resultados apresentados na Tabela 3 demonstram que a exatidão do método está dentro da faixa admissível.

Conclusão

A metodologia de extração da Mistura de acetatos de glicerina para o simulante ácido empregando o padrão interno DIBP é satisfatória, uma vez que se verificou uma grande eficiência de extração do analito.

Consiste ainda em uma técnica de fácil realização e obtenção de bons resultados podendo abranger as concentrações limite de migração específica (LME) estabelecida para o plastificante estudado.

Os limites de detecção e de quantificação foram inferiores ao limite de migração específica (LME) estabelecido pelo EFSA para a Mistura de acetatos de glicerina (LME = 60 mg/kg), permitindo a determinação da migração desse aditivo de embalagens plásticas em simulante de alimentos ácidos e gordurosos. O método foi validado conforme os critérios do INMETRO e os valores obtidos são adequados.

A metodologia de migração de Mistura de acetatos de glicerina para o simulante gorduroso azeite de oliva se mostrou complexa devido a presença de ésteres metílicos interferentes do azeite de oliva. Por este motivo, foi utilizado o simulante gorduroso alternativo isooctano. A validação parcial do método com isooctano como simulante alternativo mostrou resultados adequados.

Agradecimentos

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.

À FAPESP, pelo apoio financeiro.

Ao CETEA – ITAL, pela oportunidade de iniciação científica.

Referências Bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Diretoria Colegiada. **Resolução RDC nº 17, de 17 de março de 2008**. Dispõe sobre regulamento técnico sobre lista positiva de aditivos para materiais plásticos destinados à elaboração de embalagens e equipamentos em contato com alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 de março de 2008. Seção 1, p. 43-51.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos e seus anexos. **Resolução n. 105, de 19 de maio de 1999**. Diário Oficial (da República Federal do Brasil), Brasília, p. 21-34, 20 de maio de 1999. Sec. I.

DIRETIVA 2002/72/CE da Comissão, de 6 de novembro de 2005, relativa aos materiais e objetos plásticos destinados a entrar em contato com produtos alimentícios. **Diário Oficial**, 220p. 2002.

DIRETIVA 2005/79/CE da Comissão, de 18 de agosto de 2005, modifica a Diretiva 2002/72/CE sendo, relativa aos materiais e objetos plásticos destinados a entrar em contato com produtos alimentícios. **Diário Oficial**, 302p. 2005.

DIRETIVA 2007/19/CE da Comissão, de 2 de abril de 2007, altera a Diretiva 2002/72/CE sendo, relativa aos materiais e objetos de matéria plástica destinados a



entrar em contato com produtos alimentícios e a Diretiva 85/572/CEE do Conselho que fixa a lista de simulantes para verificar a migração dos constituintes dos materiais e objetos de matéria plástica destinados a entrar em contato com produtos alimentícios. **Diário Oficial**, 20p. 2007.

INMETRO. Coordenação Geral de Acreditação. DOQ-CGCRE-008: **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Rio de Janeiro, fev. 2010. Revisão n. 3. 20p.