

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

DANIELA F. OLIVEIRA¹; MARISA PADULA²;

Nº 12213

RESUMO

Os polímeros formam uma classe de materiais que são amplamente buscados no setor de produção de embalagem, devido suas atribuições como facilidade de manuseio e outras vantagens tecnológicas. Além da resina podem ser adicionadas ao plástico substâncias conhecidas como aditivos que conferem propriedades importantes e específicas a embalagem. Os estabilizantes à UV podem ser citados como exemplos de aditivos, que tem como função impedir ou dificultar a foto-oxidação do polímero. Porém, partes dos aditivos podem permanecer livres no material, se difundir e migrar para os alimentos. Visando identificar e quantificar substâncias possivelmente tóxicas a saúde humana ensaios de migração total e específica foram desenvolvidos. Os ensaios de migração específica, por serem muito demorados e de alto custo, tornam o atendimento à legislação muito difícil. Uma possibilidade para essa estimativa é o uso de modelos matemáticos com banco de dados validados e a concentração inicial do aditivo no polímero. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia para determinação do aditivo Chimassorb-944 em filme de PEAD segundo as normas do INMETRO e ANVISA. O método desenvolvido apresentou boa seletividade, linearidade de 10 a 400 µg/mL, limites de detecção e quantificação segundo a ANVISA de 1,65 e 5,52 µg/mL, respectivamente, e recuperação em torno de 90%.

ABSTRACT

Polymers form a class of materials that are widely sought in the manufacturing of packaging due to their ease of handling assignments and other technological advantages. Apart from resin, substances called additives can be added to the plastic, which confer specific and important properties to the packaging. The UV stabilizers can be cited as examples of additives, which are designed to prevent or hinder the photo-

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.

oxidation of the polymer. However, on adding them, very often some part of the additives can remain free in the material and migrate to food. To identify and quantify substances potentially toxic to human health, testing of total and specific migration were developed. The specific migration determination, for being time consuming and costly, becomes the compliance with the legislation difficult. One possibility to estimate the specific migration is using mathematical models with validated database and the initial concentration of the additive in the polymer. The aim of this study was to develop and to validate a methodology for determining the additive Chimassorb-944 HDPE film according to INMETRO and ANVISA rules. The developed method showed good selectivity, linearity from 10 to 400µg/mL, limit of detection and quantification according to ANVISA of 1.65 and 5.52 mg/mL, respectively, and recovery around 90%.

INTRODUÇÃO

A embalagem tem como funções proteger os produtos de agentes ambientais, facilitar o manuseio, armazenamento e transporte dos mesmos, sem promover alterações que comprometam sua integridade, qualidade e segurança (FREITAS, 2007).

O uso dos polímeros se torna amplo devido às possibilidades de diferentes conformações, atribuindo propriedades. Buscando alcançar novas funções, criou-se o processo de adição de diferentes compostos às cadeias poliméricas. Com isso, surgiram os chamados aditivos, que quando adicionados, não devem alterar apreciavelmente as estruturas do polímero (ROBERTSON, 1993).

Os estabilizantes à luz ultra-violeta são um dos exemplos de aditivos de embalagens cuja função é interferir nos processos físicos e químicos da foto-oxidação dos polímeros (ocorrência comum quando há ar atmosférico, mais precisamente oxigênio, em presença de luz solar, que contém 6,1% de radiação ultravioleta), prevenindo a deterioração dos mesmos. Dentre os estabilizantes existentes, aqueles que agem como seqüestradores de radicais livres devem ser ressaltados, pois evitam a reação destas espécies altamente reativas com parte do polímero, como exemplo os que são à base de aminas estericamente impedidas (HALS).

Para realizar a adição dos aditivos à embalagem, se faz necessário a incorporação no ato da polimerização durante a fabricação da resina ou na extrusão da mesma. Dessa forma o aditivo é adicionado ao polímero, porém com sua fixação à cadeia polimérica comprometida, podendo difundir-se pelo polímero. Essa difusão pode ocorrer não somente com aditivos, mas com qualquer substância que esteja livre no material. Esse fenômeno começou a ser estudado devido à descoberta de

substâncias que promoviam alterações no produto e na saúde do consumidor, quando ingeridas em altas concentrações (GARCIA *et al.*, 2008).

Para determinar quais são essas substâncias e quantificá-las, foram estabelecidos os ensaios de migração total e específica com simulantes de alimentos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a Resolução RDC nº 51 de 26 de novembro de 2010 (BRASIL, 2010) onde descreve as condições dos ensaios de migração e quais são os simulantes adotados pela Legislação Brasileira e Mercosul. Além disso, para controle do uso dessas substâncias foram elaboradas Listas Positivas que relacionam as substâncias aprovadas e os limites de migração específica (LME) que são baseados no valor de ingestão diária aceitável ou tolerável (IDA ou IDT). O valor de LME para o aditivo estabilizante à luz UV, Chimassorb-944, por exemplo, é de 3mg/kg de simulante, como descrito na Resolução nº 17 de 17 de Março de 2008 – Lista Positiva de Aditivos para Materiais Plásticos Destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos (BRASIL, 2008). Contudo, ensaios de migração demandam muito tempo de analista e equipamento, além de atribuírem altos valores de despesas e dificuldade de manipulação.

Como nova alternativa, desde 1994 vem-se discutindo a utilização de modelos matemáticos validados, que se baseiam nos modelos de difusão de Fick (BARNER *et al.*, 1994). Este modelo utiliza informações como potenciais migrantes e propriedades de difusão de polímeros adquiridas durante anos e reunidas em um banco de dados. Com essas informações e a concentração de substância de interesse livre na embalagem, é possível estimar rapidamente qual a migração da mesma para o produto (ROSA *et al.*, 2006).

Um dos parâmetros a ser determinado para o uso do modelo matemático é a quantidade da substância de interesse livre no polímero. O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia para determinação do aditivo Chimassorb-944 (Poli[6-[(1,1,3,3-tetrametilbutil)amino]-1,3,5-triazina-2,4-diil]-[(2,2,6,6-tetrametil-4-piperidil)-imino]hexametilen[(2,2,6,6-tetrametil-4-piperidil)imino], número CAS: 071878-19-8) em filme de PEAD segundo as normas do INMETRO (INMETRO, 2010) e ANVISA (BRASIL, 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras e Reagentes

O padrão analítico utilizado foi Chimassorb-944 (nº produto: 533963 lote: #08310PE, Sigma Aldrich), como solvente de fase móvel, de diluição de extratos e de

soluções, utilizou-se Tetrahidrofurano (THF) (grau HPLC, J.T.Baker) e tolueno Merck como solvente de extração. Para compor as fases móveis, foram usados também os seguintes solventes: água ultra-purificada (Milli-Q), álcool metílico (grau HPLC, J.T.Baker) e trietanolamina (Lote : SZBA2030).

A amostra utilizada para determinação do método foi filme de polietileno (PE), contendo um teor entre 800 e 1200ppm, do estabilizantes a luz UV.

Condições cromatográficas:

Cromatógrafo líquido de alta eficiência com Detector de Diodos modelo HP1100 e Injetor automático modelo HP1200.

- Sistema de bomba quaternária com degasser;
- Coluna: LiChroCART® 100RP-18 (5 µm) – LiChrospher (250 mm X 4 mm)
- Temperatura da Coluna: 25°C
- Volume de Injeção: 50 µL
- Comprimento de Onda (UV): 244 nm
- Fluxo da Fase Móvel: 1,0 mL. Min⁻¹
- Tempo de Corrida: 24,20 minutos
- Composição da Fase Móvel: FASE A: THF + Água (900 mL + 100 mL)
FASE B: THF + Álcool Metílico + Trietanolamina
(900 mL + 100 mL + 1,82 mL)

TABELA 1. Gradiente de corrida do Método de Determinação do Chimassorb-944.

Tempo de Corrida (min)	Fase A	Fase B
0,0	100%	0,0%
7,0	0,0%	100%
7,1	0,0%	100%
17,1	0,0%	100%
17,2	0,0%	100%
24,2	100%	0,0%

Método de Extração

Para estabelecer o método descrito abaixo, baseou-se em Freitag (1988).

Pesou-se 1,0 g ($\pm 0,1$) de amostra previamente reduzida em quadrados de 0,5 cm x 0,5 cm, aproximadamente, em balão de fundo achatado de 250 mL. Adicionou-se 50 mL volumetricamente de tolueno e então a mistura é levada ao refluxo por 2 horas, com agitação magnética.

Após o tempo de extração e resfriamento do sistema a temperatura ambiente, adicionou-se do topo do condensador 75 mL de metanol, buscando lavar e arrastar possíveis resíduos de analito. Ao recolher o volume total no balão, este foi filtrado em sistema de vácuo, através do uso de Kitassato, funil de Büchner e papel de filtro, sendo este último lavado duas vezes com 10 mL de metanol para evitar perdas.

O filtrado foi então transferido quantitativamente para balão de fundo redondo, e seco completamente em rotaevaporador. Em seguida, ressuspendeu-se o extrato com 5 mL (volumétricos) de THF, filtrados por disco de 0,45 µm diretamente em frasco de vidro de 2 mL (vial) e injetados em HPLC.

Validação do Método de Determinação do aditivo Chimassorb-944 em embalagem monocamada de filme de polietileno

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), precisão instrumental, precisão intermediária e recuperação e estão descrito:

Seletividade: A seletividade de um método instrumental garante de forma inequívoca que o pico de resposta adquirido durante a análise refere-se a todo o analito presente na amostra, sem ação de interferentes (BOTTOLI, 2004). Diferentes composições de fase móvel foram avaliadas para estabelecer a melhor resolução para o pico de resposta encontrado para o aditivo.

Linearidade: Este parâmetro estabelece a capacidade do método em relacionar de forma direta a proporcionalidade entre o sinal de resposta no equipamento e a concentração do analito na amostra, dentro de uma determinada faixa de aplicação do método (BOTTOLI, 2004). Para determinação da linearidade do método foram preparadas seis soluções de concentrações distintas (10, 25, 50, 100, 200 e 400 µg/mL) e injetadas em triplicatas no cromatógrafo. As curvas analíticas foram construídas ($y = ax + b$), os coeficientes de correlação de cada curva obtidos (r^2) assim como o desvio padrão entre elas.

LD e LQ: Os limites de detecção e de quantificação representam a menor concentração de analito possível de serem detectada e quantificada pelo método (BOTTOLI, 2004). Foram determinados os valores de LD e LQ injetando sete vezes a solução de menor concentração testada (10 µg/mL) e os cálculos a ANVISA e o INMETRO:

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

Precisão Instrumental: Este parâmetro estabelece quão reprodutiva é a resposta dada pelo equipamento de medição utilizado pelo método (BOTTOLI, 2004). Para tanto foram injetadas sete replicatas de três soluções de concentrações distintas conhecidas (50, 200 e 800 µg/mL) em dois dias diferentes e o coeficiente de variação (C.V.) entre os resultados foi determinado.

Precisão Intermediária: Este teste mede a variação entre as respostas dadas por um mesmo método, porém sendo realizado em condições distintas. O objetivo deste parâmetro é comprovar a confiabilidade do método, quando realizado em certo laboratório (BOTTOLI, 2004). O número de replicatas utilizados para este parâmetro foi adaptado devido à pequena quantidade de amostra disponível para a validação do método. Com isso, foram extraídas duas amostras-branco (sem adição de analito), uma em cada dia, utilizando baterias de refluxo diferentes. Cada amostra foi injetada em triplicata no HPLC. Cálculo para determinação do coeficiente de variação (C.V.) para precisão intermediária:

Recuperação: A recuperação (ou fator de recuperação), R, é definida como a proporção de substância de interesse recuperada, ou seja, quantificada através do método testado. Este parâmetro pode ser determinado utilizando a comparação de métodos diferentes, materiais de referência certificados (CRM) ou pela adição de padrão (BOTTOLI, 2004). Para esta determinação contaminou-se uma amostra-branco (já com uma quantidade inicial do aditivo) com uma concentração conhecida de Chimassorb-944 (400 µg/mL) e realizou-se o método de extração definido. A amostra-branco também foi analisada da mesma forma. Então para cálculo é levado em conta a recuperação percentual do analito. O número de replicatas utilizado para este parâmetro foi adaptado devido a pequena quantidade de amostra disponível para a validação do método.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação e Validação do Método

Para determinação da composição da fase móvel utilizada para este método, foi necessário inicialmente compreender a conformação da molécula do Chimassorb-

944 e suas afinidades. Com isso verificou-se a presença de um grupo amina, o qual mantinha forte interação com a fase estacionária utilizada. Para conseguir que este fato não fosse considerado um problema foi necessário o uso de uma substância na fase móvel que conseguisse interagir mais com o analito que o recheio da coluna. Desta forma, se mostra indispensável o uso de uma substância com grupo amina para que seja possível a separação e identificação do aditivo. Em bibliografias consultadas foram citadas as substâncias n-hexilamina, dietanolamina e trietanolamina, sendo este último o adquirido e empregado para o método em questão.

A Figura 1 ilustra cromatograma do quinto ponto da curva analítica de Chimassorb-944 (200 µg/mL):

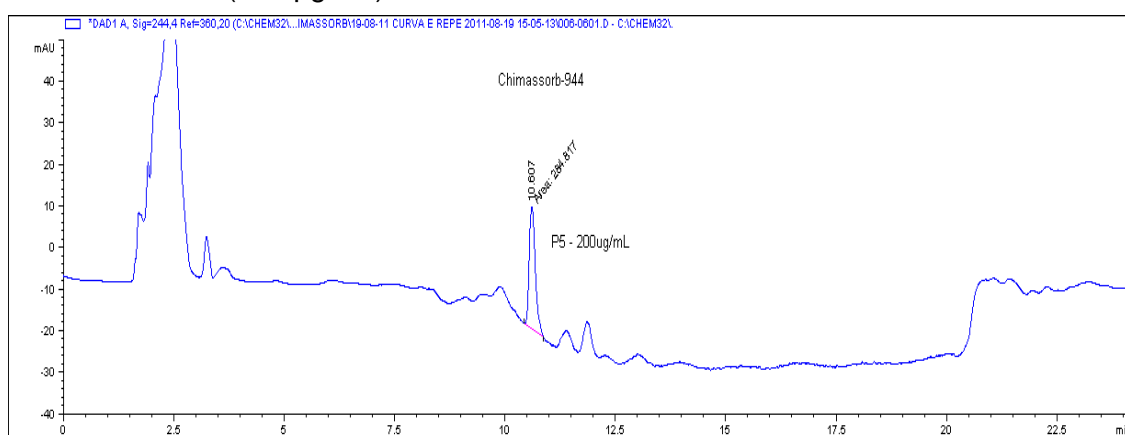


FIGURA 1. Cromatograma contendo pico de Chimassorb-944 (200 µg/mL) em THF, com tempo de retenção igual à 10,607 minutos.

Após realizada a validação, os resultados obtidos foram satisfatórios. A seletividade do método foi boa (Figura 1), sendo 10,5 minutos o tempo de retenção do Chimassorb-944 nas condições descritas acima. O método se manteve linear na faixa entre 10 e 400µg/mL. Os limites de detecção e quantificação obtidos foram bons, as precisões intermediária e instrumental resultaram em valores de coeficiente de variação muito bons, inferiores a 5%. E a recuperação apresentou resultado de 90%.

A Tabela 2 relaciona os valores calculados para os parâmetros de validação do método.

TABELA 2. Resultados da validação do método de determinação de Chimassorb-944.

Parâmetro	Resultados ANVISA e INMETRO				
Linearidade	Identificação	Equação		R ²	D.P.R.
	Curva 1	y = 1,40672x + 4,13850		0,99934	
	Curva 2	y = 1,42631x + 2,58279		0,99940	0,00012
	Curva 3	y = 1,42493x + 3,20706		0,99917	
LD e LQ	ANVISA			INMETRO	
	LD (µg/mL)	1,65		2,97	
	LQ (µg/mL)	5,52		22,58	
Precisão Instrumental	Dia 1			Dia 2	
	Conc. (µg/mL)	D.P.	C.V. (%)	D.P.	C.V. (%)
	50,0	0,77609	1,46	1,32441	2,37
	200,0	2,61251	1,30	2,46401	1,13
	800,0	41,36707	5,14	5,41629	0,64
Precisão Intermediária	Dia1			Dia 2	
	Conc. Média (mg/kg)		895,05	872,07	
	D.P.R.		4,705	1,586	
	C.V. (%)		0,53	0,18	

Com o método validado o teor de Chimassorb 994 no filme de PEAD foi quantificado. O resultado obtido foi de 883,0 ±4,7 mg de Chimassorb-944 para cada quilograma de amostra (filme de PEAD). Este resultado é coerente com a informação dada pelo fornecedor da amostra (uso de 800 à 1220 ppm).

Com o resultado de concentração do aditivo na amostra e utilizando-se o modelo matemático MigrateTestLite[®] foi possível estimar a quantidade de aditivo que migraria para simulantes gordurosos. Os parâmetros considerados para a estimativa seguem descritos na Tabela 3:

TABELA 3: Parâmetros para determinação do valor de migração específica de Chimassorb-944 presente na amostra para simulantes gordurosos.

Parâmetro	Valores
Espessura do filme	50 µm
Densidade do filme	0,945 g.cm ⁻³
Condições de contato	40° C/10 dias
Razão Área/Volume	600cm ² .1000cm ⁻³
Coeficiente de difusão	7,475 cm ² . s ⁻¹ . 10 ⁻¹¹
Coeficiente de partição	1
Simulante	Óleo de oliva
Migração Específica Estimada	2,495mg.kg⁻¹

Considerando essas informações, o valor de migração do Chimassorb-944 para o simulante gorduroso foi de 2,495mg/kg. O valor obtido é inferior ao LME do Chimassorb-944 de 3mg/kg estabelecido pela legislação (BRASIL, 2008), portanto a amostra analisada está de acordo com as exigências brasileiras e do MERCOSUL.

CONCLUSÃO

O método desenvolvido apresentou boa seletividade, linearidade de 10 a 400 µg/mL, limites de detecção e quantificação segundo a ANVISA de 1,65 e 5,52 µg/mL, respectivamente, e recuperação em torno de 90%.

A amostra analisada, considerando a estimativa de migração específica através do modelo matemático, está de acordo com o estabelecido pela Legislação Brasileira e do Mercosul.

Com isso conclui-se que o trabalho obteve resultados satisfatórios a respeito do método estabelecido e do uso do modelo matemático MigratestLite® para estimativa de migrações específicas de substâncias.

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 RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 02 jun. 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 16 fev. 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17, de 17 de Março de 2008. 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**, Brasília, DF, 17 mar. 2008. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2008/res0017_17_03_2008.html>. Acesso em: 24 fev. 2012

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.

BOTTOLI, Carla B. G.; COLLINS, Carol H.; JARDIM, Isabel C. S. F.; MELO, Lúcio F. C.; RIBANI, Marcelo. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 773-778, 2004.

GARCIA, Eloísa E. C.; SARANTÓPOULOS, Claire I. G. L.; COLTRO, Leda. Materiais plásticos para embalagens rígidas. In: OLIVEIRA, Léa M.; QUEIROZ, Guilherme de C. (Ed.). **Embalagens plásticas rígidas: principais polímeros e avaliação da qualidade**. Campinas, SP: ITAL/CETEA, 2008. cap. 1, p. 33-34, 52-53.

FREITAG, W. Determination of the polymeric light stabilizer Chimassorb 944 in polyolefins by reversed-phase high-performance liquid chromatographic. **Journal of Chromatography A**, v. 450, n. 3, p. 430-432, Jan. 1988.

FREITAS, Vitória M. **Estudos das alterações do suco de maracujá integral em embalagem do tipo PET e vidro**. 2007. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007. p. 23, 26. Disponível em: <<http://www.ppgcta.ufc.br/vitoriamatos.pdf>>. Acesso em: 07 fev. 2012.

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

ROBERTSON, G. L. **Food Packaging: principles and practice**. New York: Marcel Dekker, 1993. 676 p.

ROSA, F. M. L.; MONTEIRO, M.; MANZOLI, J. E. Modelo matemático e simulação da migração/difusão de componentes de embalagens plásticas para alimentos ou medicamentos submetidas ou não à irradiação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 17. 2006, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** São Paulo: IPEN, 2006. Disponível em: <<http://www.metallum.com.br/17cbecimat/resumos/17Cbecimat-402-004.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2011