



DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOS PARA DETERMINAÇÃO DA MIGRAÇÃO ESPECÍFICA DE PLASTIFICANTES PARA FILMES DE PVC ESTIRÁVEIS PARA CONTATO COM ALIMENTOS

VANESSA A. ARAÚJO¹; LEDA COLTRO²

Nº 12249

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar métodos para análise de migração específica de plastificantes de filmes de PVC estiráveis utilizados para acondicionamento de diversos gêneros alimentícios, a partir do contato com simulantes de alimentos. Devido às restrições sanitárias a muitos plastificantes e à elevada aditivação destes filmes, houve a necessidade de regulamentações de uso para esses compostos, bem como o estabelecimento de limites de migração destes aditivos para os alimentos. Neste estudo foram desenvolvidos e validados métodos para determinação da migração de di(2-etilhexil) tereftalato (DEHT) e óleo de soja epoxidado (OSE) para simulantes de alimentos. Para o DEHT, os ensaios foram conduzidos em simulante ácido utilizando-se como padrão interno o di-isobutil ftalato (DIBP), sendo necessária também a validação do método de extração do plastificante do simulante ácido. Para o OSE, foram conduzidos ensaios em simulante gorduroso alternativo, isooctano, sendo também necessário um método de derivatização para transformação dos ácidos graxos da amostra em ésteres, objetivando a análise dos compostos de interesse sem danificar a coluna cromatográfica. Para ambos os métodos foram utilizados critérios de validação de acordo com o INMETRO. Foram feitos ensaios comparativos de migração específica de DEHT e OSE em filmes de PVC, com diferentes composições e concentrações desses plastificantes, para os simulantes validados. Os resultados mostraram que o poder extrativo do simulante ácido é insuficiente para provocar a migração de DEHT nas composições estudadas. Para os ensaios com isooctano, entretanto, verificou-se que houve migração do OSE dos filmes avaliados para o simulante.

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Química Tecnológica, UNICAMP, Campinas-SP, vanessa_m_araujo@yahoo.com.br.

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

ABSTRACT

The objective of this work was to validate method to evaluate specific migration of plasticizers from stretch PVC films used to pack many foodstuffs, through contact with food simulants. According to sanitary restrictions of many plasticizers and due to the large amount of additives used in these films, it was necessary both to establish regulations for using these additives as well as migration limit references of them to food. In this study methods to evaluate the migration of di(2-ethylhexyl) terephthalate (DEHT) and epoxidized soybean oil (ESBO) were developed and validated. For DEHT, the analyses were conducted in acid food simulant using di-isobutyl phthalate (DIBP) as internal standard, being necessary also to validate the method for extraction of the plasticizer from the acid simulant. For ESBO, the analyses were conducted in alternative fatty food simulant, isooctane, being necessary a method for derivatization of the fatty acids of the sample into esters aiming to the analysis of the compounds without damaging the chromatographic column. INMETRO's validation criteria were used to validate both methods. Comparative analyses of specific migration of DEHT and ESBO 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 DEHT for the PVC compositions studied. However, the analyses with isooctane showed migration of ESBO from the films evaluated to the fatty food simulant.

INTRODUÇÃO

As cobranças para que os alimentos não ofereçam risco à saúde do consumidor são crescentes por parte de órgãos reguladores, empresas e até da própria sociedade. As embalagens para alimentos e bebidas fazem parte dessa cadeia produtiva e devem seguir os mesmos princípios de controle e segurança. Dentre suas várias funções, as embalagens visam proteger o produto da contaminação externa, porém, a possibilidade de ocorrência de contaminação do produto por constituintes da própria embalagem não pode ser negligenciada.

A maioria dos alimentos interage em diferentes níveis com os materiais de embalagem, sendo os principais mecanismos de interação entre a embalagem e o produto a migração, a permeação e a absorção (MANNHEIM, PASSY, 1990).

Vários fatores devem ser considerados ao se avaliar o potencial de migração dos componentes da embalagem para os alimentos, entre eles, a densidade dos plásticos, a concentração do componente migrante no material de embalagem, o tempo e temperatura de contato e as propriedades físico-químicas dos componentes do sistema polímero/composto de baixo peso molecular (migrante) /alimento.

Os compostos de PVC, utilizados nas suas diversas formas, são constituídos do polímero base e de diversos aditivos como estabilizantes à luz ultravioleta e ao calor, antioxidantes, plastificantes, entre outros. Estes aditivos por não estarem quimicamente ligados à matriz polimérica, devido aos baixos pesos moleculares e sua natureza química, possuem potencial de migração para os alimentos com os quais se encontram em contato (FERNANDES, GARCIA, PADULA, 1987).

Plastificantes são usados para conferir ao produto final maior flexibilidade e para reduzir a temperatura de processamento do polímero (FERNANDES, GARCIA, PADULA, 1987). E têm sido alvo de muitas investigações, uma vez que são adicionados ao PVC em quantidades altas, bem como devido ao potencial de migração e a toxicidade. A possibilidade de que haja migração decorrente do contato da embalagem com o alimento pode afetar tanto a estabilidade do alimento e da embalagem, comprometendo a resistência química e mecânica do material e também acarretando conseqüências toxicológicas ao consumidor.

Portanto, os polímeros e resinas utilizados para fabricação de embalagens plásticas que entrarão em contato com alimentos devem constar no Regulamento Técnico sobre a Lista Positiva de Aditivos para Materiais Plásticos destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos da Resolução RDC nº 17, de 17 de Março de 2008, da ANVISA, que harmoniza as normas nacionais e do MERCOSUL relacionadas às embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos.

Assim, o objetivo deste estudo foi desenvolver métodos para avaliar a migração de plastificantes de filmes de PVC, identificando os limites de migração dos plastificantes em estudo. Além disso, levantar dados para apreciação pela ANVISA para inclusão na Lista Positiva um novo plastificante, contribuindo assim para maior variedade de substâncias para o setor de manufatura.

MATERIAL E MÉTODOS

Validação do método de extração de DEHT em simulante ácido:

A extração do DEHT migrado para o 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, verificou-se a influência do solvente utilizando-se sete soluções de diferentes concentrações de DEHT 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 DEHT em simulante ácido, das quais se transferiu de cada solução 25 mL 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 da 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 o método de extração realizado com funil de separação, testando-se ainda diferentes volumes de solvente para extração.

Validação da migração específica de DEHT 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 DEHT em simulante ácido em balões de 25 mL. Após o procedimento de extração e preparo das soluções com padrão interno, as soluções apresentavam as concentrações de 5, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 mg/kg de DEHT e 50 mg/kg de padrão interno. As soluções foram injetadas, em triplicata, no CG e 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).

Método de esterificação de OSE em simulante gorduroso:

Para a análise de ácidos graxos por cromatografia gasosa foi necessário esterificar as amostras, convertendo os ácidos graxos em compostos mais voláteis, tais como ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG). O método de esterificação utilizado foi catálise básica realizada de acordo com a norma ISO 12966-2, sendo este método mais indicado quando o óleo analisado possui baixa acidez. Este método tem vantagem de ser mais barato e menos tóxico quando comparado aos métodos que utilizam trifluoreto de boro (BF_3).

O procedimento foi realizado a partir de $(0,100 \pm 0,002)$ g da amostra, utilizando-se hidróxido de potássio em metanol para esterificação. As amostras derivatizadas foram injetadas no CG, em triplicata, nas condições cromatográficas que apresentaram a melhor resolução dos picos.

Validação do método de migração específica de OSE para simulante gorduroso:

Ensaio com simulante gorduroso azeite de oliva:

Para construção da curva analítica de OSE em azeite de oliva utilizou-se o método de adição de padrão. Este método é importante quando a amostra é muito complexa, quando as interações com a matriz são significativas e quando houver dificuldade de encontrar um padrão interno adequado ou uma matriz isenta da substância de interesse.

Preparou-se as soluções de trabalho para curva analítica pesando-se quantidades iguais da solução de 50 mg/kg de OSE em azeite de oliva, massas crescentes de OSE e adicionando-se azeite de oliva até completar a massa de solução de 2,50 g. Procedeu-se à esterificação das amostras pesando-se $(0,100 \pm 0,002)$ g das soluções preparadas, as quais continham 0, 10,0, 20,0, 30,0, 40,0, 50,0 e 60,0 mg de OSE/ 0,1 g de solução. Injetaram-se as soluções no CG, em triplicata, nas condições cromatográficas selecionadas anteriormente para validação.

Ensaio com simulante gorduroso alternativo isooctano:

Para validação da migração específica do OSE em simulante alternativo isooctano, prepararam-se soluções de OSE em isooctano nas concentrações de 5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mg/kg. Posteriormente, 20 mL de cada solução foram transferidos à béqueres e aquecidos à 50 °C, em chapa de aquecimento e sob fluxo constante de nitrogênio, até a evaporação da solução e concentração para aproximadamente 2 mL. A alíquota concentrada foi transferida a um tubo de ensaio e o volume corrigido para 2 mL, caso necessário. Procedeu-se à esterificação no tubo de ensaio e, posteriormente, injetaram-se no CG, em triplicata, as soluções de diferentes concentrações utilizando as condições validadas. Com os resultados obtidos, foi possível validar parcialmente o método de migração específica de OSE em isooctano, de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo INMETRO: seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, precisão intracorrida e exatidão (INMETRO, 2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação do método de extração de DEHT em simulante ácido:

Na Tabela 1 observa-se que a extração da solução padrão (64 mg/kg de plastificante e 20 mg/kg de DIBP) com n-heptano apresentou uma melhor eficiência de extração do que a extração com hexano, uma vez que as áreas dos cromatogramas resultantes da extração com n-heptano foram maiores do que com hexano.

TABELA 1. Avaliação da eficiência de extração com diferentes solventes.

	Composto	Área do composto
Extração com hexano	DIBP	169,9
	Plastificante	469,3
Extração com n-heptano	DIBP	235,5
	Plastificante	609,0

A extração líquido-líquido em erlenmeyer não se mostrou satisfatória, pois ocorre a formação de emulsão durante a extração, fornecendo-se uma fase orgânica turva e ocorrendo perda de analito para fase aquosa.

A seleção do método de extração com funil de separação foi finalizada com a avaliação do volume de extração (Tabela 2), sendo observada uma maior recuperação do plastificante utilizando-se três alíquotas de 10, 10 e 5 mL de n-heptano.

TABELA 2. Avaliação da extração com diferentes volumes de solvente n-heptano.

Alíquotas para extração (mL)	Volume total do extrato (mL)	Área de plastificante/ Área de padrão interno*	% relativa das áreas
10,10 e 5	25	0,8579	100,0
5, 5 e 5	15	0,8293	96,7
10 e 5	15	0,7373	85,9
5 e 5	10	0,7380	85,8
10 e 10	20	0,7342	85,6

* a relação de áreas dos diversos volumes de extração foi corrigida para o mesmo volume final.

Validação da migração específica de DEHT para simulante ácido:

Após a verificação dos melhores parâmetros para obter a maior eficiência de extração, realizou-se a validação do método obtendo-se valores satisfatórios dos parâmetros de validação estabelecidos pelo INMETRO, calculados a partir da equação da reta ajustada na Figura 1.

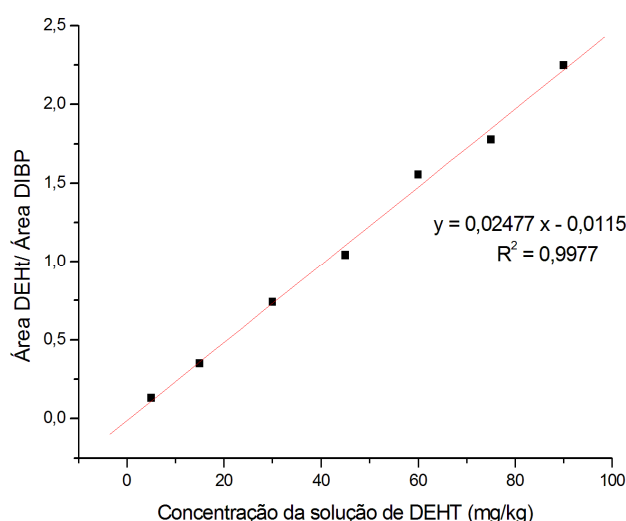


FIGURA 1. Curva de calibração do DEHT em simulante ácido.

A partir do limite de migração específica (LME) de 60 mg/kg, trabalhou-se em uma faixa linear 5 a 90 mg/kg. Foram obtidos limites de detecção de 0,22 mg/kg e de

quantificação de 6,23 mg/kg. Também foram obtidas excelentes taxas de recuperação, acima de 90 % e exatidão satisfatória (<9 %).

Validação do método de migração específica de OSE para simulante gorduroso:

Ensaio com simulante gorduroso azeite de oliva:

O método de validação da migração do OSE utilizando como simulante gorduroso o azeite de oliva não se mostrou adequado, pois apesar dos métodos avaliados para curva de calibração fornecerem dados coerentes com relação à área de OSE versus sua concentração em solução (Figura 2), não foi possível a quantificação de OSE na amostra sem adição de padrão. Houve interação entre a matriz e a amostra, onde os picos dos ésteres derivados do azeite de oliva somaram-se aos picos dos ésteres do OSE, interferindo nos resultados.

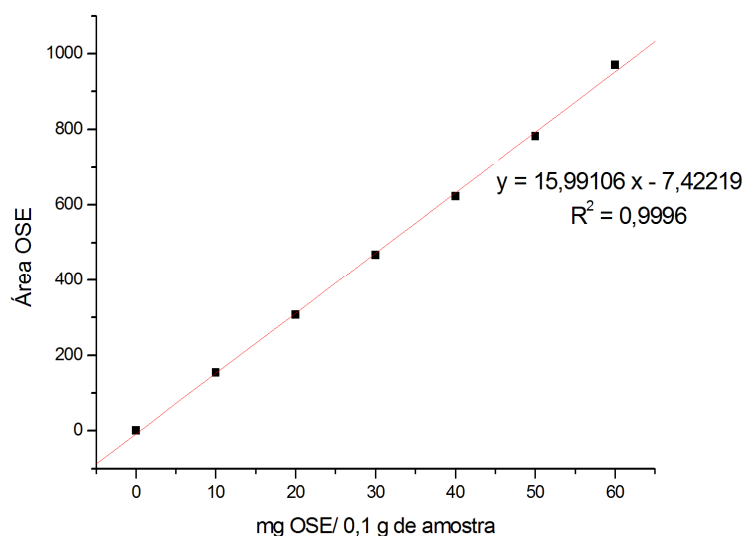


FIGURA 2. Curva de Calibração de OSE em azeite de oliva construída pelo método de adição de padrão.

Validação do método com simulante gorduroso alternativo isooctano:

A validação do método de migração específica utilizando-se como simulante alternativo ao azeite de oliva o isooctano mostrou-se muito eficaz. A ausência de ésteres metílicos derivados do azeite de oliva possibilitou a análise quantitativa de OSE

mesmo em pequenas concentrações, pois não havia picos do azeite de oliva interferentes na análise. Além disso, a utilização do isooctano, reagente componente também do processo de esterificação, viabilizou a derivatização diretamente no simulante.

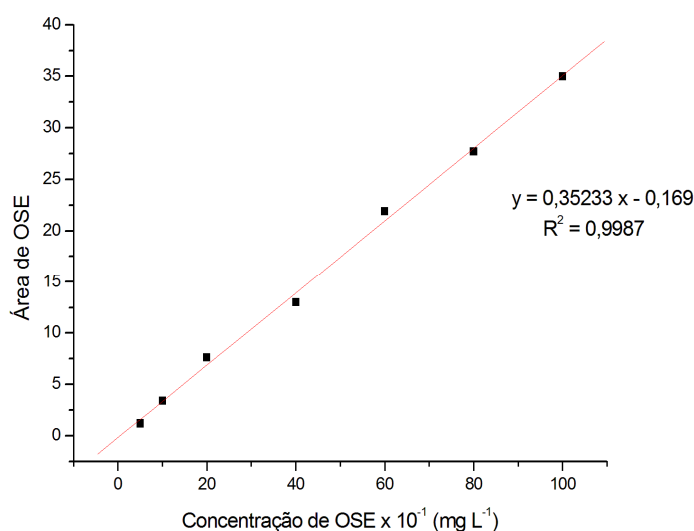


FIGURA 3. Curva de calibração do OSE em simulante gorduroso alternativo (Isooctano).

Considerando-se o LME do OSE de 60 mg/kg, trabalhou-se em uma faixa linear de 5 mg/kg a 100 mg/kg, obtendo-se LD de 0,35 mg/kg e LQ de 4,7 mg/kg. Obteve-se ainda características como boa exatidão e precisão.

CONCLUSÃO

Ambas as metodologias de migração, de DEHT para simulante ácido usando padrão interno DIBP e de OSE para simulante gorduroso, foram satisfatórias visto que os parâmetros necessários para validação foram atingidos. Sendo o método validado para o OSE, uma alternativa viável quando não se dispõe de equipamentos mais sofisticados para preparo das amostras e análise desse plastificante em azeite de oliva. E a observação dos valores de precisão e exatidão permite afirmar que os métodos apresentam boa repetibilidade e reprodutibilidade.

A migração do DEHT das amostras de filme de PVC para simulante ácido foi inferior ao limite de detecção do método. A migração de OSE foi avaliada em diversas composições, pois o OSE é um plastificante secundário presente nos filmes juntamente com outros plastificantes, os quais influenciam em sua migração. A faixa



de migração do OSE nos filmes avaliadas foi de 0,9 a 1,8 mg/kg, abaixo do limite de migração específica (LME) do plastificante de 60 mg/kg.

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 nº 51, de 26 de novembro de 2010. Dispõe sobre migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 de dezembro de 2010. Seção I, p. 75-79.

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 I, p. 43-51.

FERNANDES, M. H. C.; GARCIA, E. E. C.; PADULA, M. **Migração de componentes de embalagens plásticas para alimentos**. Campinas: ITAL/SBCTA, Campinas, 1987. 175 p.

INMETRO. Coordenação Geral de Acreditação. **DOQ-CGCRE-008**: Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro, fev. 2010. 20 p. Revisão nº 03. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf>. Acesso em: 1 junho de 2011.

MANNHEIM, C. H., PASSY, N. Interaction between packaging materials and foods. **Packaging Technology and Science**. West Sussex, v.3, n.3, Jul/Ago. 1990.