



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2014
12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

DETERMINAÇÃO DE FTALATOS EM EMBALAGENS PLÁSTICAS

Rafaela **Rodrigues**¹; Mary Ângela F. Perez²; Fabiana Ramos Souza **Felipe**³; Joyce Borghetti **Pitta**⁴;
Leda **Coltro**⁵

Nº 14215

RESUMO – *Estudos recentes indicam que os plastificantes adicionados aos polímeros podem causar riscos à saúde humana, dependendo dos potenciais de migração e toxicidade. E, a atual demanda por embalagens plásticas para contato com alimentos leva à necessidade do controle da qualidade desses materiais, para prevenir e diminuir os riscos inerentes ao seu uso. Assim, este projeto tem por objetivo o desenvolvimento e validação de método de ensaio para quantificação de alguns plastificantes do tipo ftalatos (DEHP, DIBP e DBP), em concentrações muito baixas ou comprovar sua ausência. O método desenvolvido foi validado seguindo critérios da ANVISA e do INMETRO, de forma que pode-se determinar a presença desses ftalatos nas embalagens, para confirmar se as mesmas estão de acordo com a resolução RDC nº 17, de 2008, da ANVISA.*

Palavras-chaves: ftalatos, cromatografia, plásticos, validação, alimentos, embalagens

1Rafaela Rodrigues, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Química Tecnológica, UNICAMP, Campinas-SP; rafaella_rodri07@yahoo.com.br

2 Mary Ângela Favaro Perez, Pesquisador Técnico do CETEA - ITAL, Campinas - SP

3 Fabiana Ramos Souza Felipe, Pesquisador Técnico do CETEA - ITAL, Campinas-SP.

4 Joyce Borghetti Pitta, Pesquisador Técnico do CETEA - ITAL, Campinas-SP.

5 Leda Coltro: Pesquisador do Centro de Tecnologia de Embalagem – CETEA - ITAL, Campinas –SP; ledacoltr@ital.sp.gov.br.



ABSTRACT- *Recent studies indicates that plasticizers added to polymers can cause risks to human health depending on the potential of migration and toxicology. The current demand for plastic containers for use in contact with foodstuffs lead to the necessity of quality control of these materials in order to prevent and reduce the risks inherent in their use. Therefore, the aim of this project is the development and validation of analytical method for quantification of some plasticizers of phthalate class (DEHP, DBP and DIBP). The analytical method was validated following ANVISA's and INMETRO's criteria, so in this way, it is possible to determine the presence of these phthalates in packaging to make sure it is in accordance with RDC Resolution nº 17, of 2008, published by ANVISA.*

Key words: phthalates, chromatography, plastics, validation, food, packaging.

1 INTRODUÇÃO

Ftalato é o nome genérico dado para um grupo de diésteres derivados do ácido orto-ftálico (MANKIDY et al,2013). Os ftalatos são muito importantes para a produção de plásticos e borrachas no mundo todo, correspondendo a mais de 80 % de todos os plastificantes empregados no mercado, sendo que o di-etil hexil ftalato (DEHP) representa pelo menos 60 % deste montante. Os ftalatos têm como principais características a excelente compatibilidade, baixa volatilidade, resistência à água e baixo custo. Devido ao fato de estarem ligados não covalentemente aos produtos, os ftalatos são facilmente lixiviados e, conseqüentemente, podem ser ingeridos, inalados, absorvidos por via dérmica, ou podem entrar diretamente na corrente sanguínea (exposições intravenosas). Além disso, devido a ampla utilização, os ftalatos são comumente encontrados na poeira domiciliar e no ar em concentrações que variam dependendo do ambiente circundante (KOCH et al, 2007). Recentemente, os ftalatos têm recebido grande atenção devido à possibilidade de atuarem como disruptores endócrinos químicos (BANG et al, 2012).

Desse modo, há necessidade de controle de plastificantes em embalagens plásticas destinadas ao contato com alimentos. A ANVISA publicou a resolução RDC nº 17, de 17 de março de 2008, baseada na legislação Europeia que trata da lista positiva e limite de migração de aditivos para os alimentos. A resolução classifica alguns plastificantes como positivos e negativos, ou seja, aqueles que podem ser utilizados com restrição e, aqueles que não podem ser utilizados na fabricação de embalagens plásticas para contato com alimentos, respectivamente e, determina a quantidade máxima permitida para a migração do aditivo para o alimento (AGÊNCIA, 2008)



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

Este projeto tem por objetivo desenvolver e validar método analítico para a determinação de ftalatos em embalagens plásticas, para permitir o controle e a fiscalização desses compostos de forma a diminuir os riscos à saúde humana impostos por estes plastificantes. Os ftalatos estudados neste projeto são o di-etil-hexil ftalato (DEHP) com limite de migração específica (LME) de 1,5 mg/kg, o di-isobutil ftalato (DIBP) que não é aprovado para contato com alimentos, mas é muito utilizado em outros tipos de embalagem e o di-butil ftalato (DBP), com LME de 0,3 mg/kg.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Hexano grau HPLC, Merck; Di-etil hexil ftalato – DEHP, Elekeiroz S.A; Di-isobutil ftalato – DIBP, Elekeiroz S.A; Di-butil ftalato – DBP, Elekeiroz S.A; Ciclohexano, Merck; Isopropanol, Merck.

2.1 Condições Cromatográficas

Utilizou-se coluna cromatográfica DB1 – 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m; Volume da amostra: 1,0 μ L; Injeção Split: 35:1; Fluxo de He: 1,2 mL/min, por dez minutos, variando-se 1 mL/min até 2,4 mL/min; Temperatura do Injetor: 270 $^{\circ}$ C; Temperatura do forno: inicial de 60 $^{\circ}$ C, por 1 minuto variando-se em seguida, 7 $^{\circ}$ C/min até 100 $^{\circ}$ C, posteriormente, 20 $^{\circ}$ C/min até 280 $^{\circ}$ C, permanecendo por 5 minutos; Detector de ionização de chama (FID): Temperatura de 300 $^{\circ}$ C; Fluxo de H₂ = 30 mL/min; fluxo de O₂ = 60 mL/min.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Desenvolvimento e validação do método de determinação de ftalatos

3.1.1 Seletividade

Para avaliar os interferentes e a pureza dos picos cromatográficos, foram injetadas soluções de 1 mg L⁻¹ de DEHP em hexano, 1 mg L⁻¹ de DIBP em hexano, 1 mg L⁻¹ de DIBP e o solvente hexano.

3.1.2 Linearidade

Foram preparados oito padrões de DEHP, DIBP e DBP em hexano nas concentrações de 50, 100, 200, 400, 600, 800 e 1000 e 2000 μ g/L. Transferiram-se 50 mL de cada solução para um respectivo balão de junta 24/40 para a evaporação completa do solvente em rotaevaporador. Após resfriar, lavou-se o balão com 2 mL de hexano e transferiu-se todo o conteúdo para um vial (volume final de



8º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2014 12 a 14 de agosto de 2014 – Campinas, São Paulo

1,5 mL). Todos os padrões foram injetados em um cromatógrafo gasoso da Agilent Technologies, modelo 7890 A, com detector por ionização de chama (CG/FID), empregando o método descrito em 2.1. A partir dos cromatogramas obtidos, determinou-se a área de DEHP, DIBP e DBP tendo como referência os picos com tempos de retenção de 16,2; 13,3 e 13,7 minutos, respectivamente.

3.1.3 Faixa de trabalho

A partir do LME do DEHP, 1,5 mg/kg (AGÊNCIA, 2008), determinou-se que a faixa de trabalho tanto para o DEHP como para DIBP seria de 50 µg/L a 2000 µg/L. Desta maneira, será possível identificar a presença de ftalatos de qualquer amostra comercial pelo método validado. O DBP tem LME de 0,3 mg/Kg (AGÊNCIA, 2008) e a faixa de trabalho adotada foi de 200 a 1000 µg/L.

3.1.4 Limite de detecção e de Quantificação

Os Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) podem ser calculados a partir de parâmetros da curva analítica, empregando-se as seguintes equações: $LD = 3,3 * s/S$ e $LQ = 10 * s/S$, onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da curva e S é a inclinação da reta (RIBANI, 2004).

3.1.5 Precisão Intermediária

Foram construídas seis curvas analíticas, duas com concentrações de 800, 1000 e 2000 µg L⁻¹ de ftalato (DEHP e DIBP) em hexano e uma de 200, 600 e 1000 µg L⁻¹ de DBP em hexano. Cada curva foi obtida por um analista diferente, em dias distintos. As soluções foram preparadas conforme descrito no item 3.1.2. A precisão de repetitividade foi calculada utilizando-se apenas uma das curvas e a reprodutibilidade foi calculada considerando-se as curvas obtidas com os dados dos dois analistas. Em ambos os casos, o cálculo foi obtido pelo desvio padrão relativo (DPR) entre as replicatas: $DPR = (S / CMD) * 100$. Onde S = desvio padrão e CMD = concentração média determinada.

3.1.6 Exatidão

A exatidão foi calculada a partir da mesma curva construída para determinação da precisão, sendo avaliada por meio do cálculo do erro relativo (ER), expresso em porcentagem empregando-se a expressão: $ER = (C_{lab} - C_v / C_v) * 100$. Onde: C_{lab} = valor obtido experimentalmente ou média aritmética dos valores obtidos; C_v = valor aceito como verdadeiro.



3.1.7 Robustez

Foram selecionados sete parâmetros para serem avaliados, os quais são: temperatura do injetor e do detector, temperatura inicial da coluna, fluxo de hélio, split, volume de hexano na limpeza do balão e fluxo de gases (H_2 / O_2). Estes parâmetros foram alterados para mais e para menos para verificar se uma pequena alteração afetaria os resultados.

3.2 Determinação de ftalatos em embalagens plásticas

Para a aplicação do método validado, foram realizadas análises em amostras de embalagens plásticas destinadas ao uso farmacêutico. As amostras estavam sem uso e, as composições são de PEAD (polietileno de alta densidade) e PEBD (polietileno de baixa densidade).

Em um erlenmeyer de junta 24/40 pesaram-se aproximadamente 2,0 g de amostra de PEAD moída, adicionaram-se 50 mL de ciclohexano. Deixou-se em refluxo por 2 horas. Após resfriar, transferiram-se 40 mL para um balão de junta 24/40 e evaporou-se todo este volume. O balão foi lavado com 2 mL de hexano, e o volume final de 1,5 mL foi transferido para um vial e analisado por cromatografia gasosa empregando-se o método descrito em 2.1.

3.3 Caracterização das amostras de embalagens plásticas

As amostras foram caracterizadas quanto ao peso, capacidade volumétrica e espessura.

O peso e a capacidade volumétrica permitem avaliar a homogeneidade de um lote. As amostras foram pesadas em balança analítica Mettler Toledo, modelo AT 201, com precisão de 0,00001 g. Para a avaliação da capacidade volumétrica total, pesou-se a embalagem vazia, em seguida completou-se até o topo da superfície de acabamento com água ultrapurificada a temperatura conhecida e, pesou-se novamente a embalagem cheia. O cálculo utilizado foi: $C_{\text{Volumétrica}} = (F_{\text{cheio}} - F_{\text{vazio}})/\rho$. Onde $C_{\text{volumétrico}}$ = a capacidade volumétrica, F_{cheio} = massa do frasco cheio de água, F_{vazio} = massa do frasco vazio e, ρ = densidade da água na temperatura do ensaio.

A espessura foi medida em equipamento com sensor magnético Magna – Mike, da Panametrics. Avaliou-se apenas a espessura mínima do corpo da embalagem.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Validação dos métodos para a determinação de DEHP, DIBP e DBP

A seletividade visa encontrar possíveis interferentes e foi feita com a injeção dos padrões de DIBP, DEHP, DBP e hexano. Os tempos de retenção são 2,50, 13,33, 16,20 e 13,75 minutos para o hexano, DIBP, DEHP e DBP, respectivamente. Portanto, não há interferente na análise desses ftalatos em hexano, uma vez que não houve sobreposição dos picos cromatográficos. A Figura 1 mostra um cromatograma de padrões de DIBP, DEHP e DBP. Os resultados para os demais parâmetros para a validação do método são apresentados na Tabela 1.

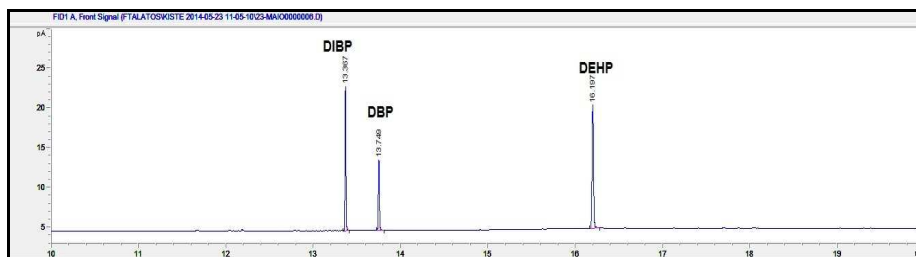


Figura 1: Cromatograma de uma solução de padrões de DIBP, DBP e DEHP nas concentrações de 1000, 600 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ em hexano, respectivamente.

Tabela 1: Parâmetros da validação do método analítico.

Parâmetros	DEHP	DIBP	DBP
Linearidade	$y = 0,017x + 0,594$ $r^2 = 0,996$	$y = 0,026x + 0,643$ $r^2 = 0,995$	$y = 0,012x + 0,746$ $r^2 = 0,995$
Limite de Detecção	78 $\mu\text{g L}^{-1}$	99 $\mu\text{g L}^{-1}$	89 $\mu\text{g L}^{-1}$
Limite de Quantificação	235 $\mu\text{g L}^{-1}$	300 $\mu\text{g L}^{-1}$	270 $\mu\text{g L}^{-1}$
Exatidão	< 5%	< 5%	< 5%
Precisão intermediária	< 5%	< 5%	< 5%
Robustez	Split e Fluxo de gases	Split e Fluxo de gases	Split e Fluxo de gases

Segundo a ANVISA e o INMETRO, todos os parâmetros avaliados estão dentro dos limites aceitáveis para a validação de um método analítico, de forma que os três ftalatos analisados por este método podem ser quantificados.



O limite de detecção mostra que o primeiro ponto da curva está bem abaixo do limite de detecção, podendo ocasionar erros. Portanto nestes casos, deve-se considerar o LD como a menor concentração da curva de calibração.

Os principais efeitos que interferem na sensibilidade (Robustez) do método são o split e o fluxo de gases (hidrogênio e oxigênio). Portanto, estes parâmetros precisam ser cuidadosamente ajustados para evitar influência nos resultados.

4.2 Caracterização das amostras de embalagens plásticas

Foram caracterizadas quanto ao peso, capacidade volumétrica e espessura seis amostras de frascos plásticos (PEAD e PEBD) destinados ao uso farmacêutico. A determinação foi feita em três amostras diferentes. A tabela 2 apresenta os resultados da caracterização das amostras.



Figura 2: Frascos caracterizados nos métodos desenvolvidos no projeto.

Tabela 2: Caracterização das amostras.*

Amostra	Composição	Peso médio (g)	Capacidade volumétrica total (mL)	Espessura
1	PEAD	7,99 ± 0,03	58,73 ± 0,04	0,51 ± 0,03
2	PEAD	5,16 ± 0,05	33,16 ± 0,23	0,57 ± 0,03
3	PEAD	9,84 ± 0,06	47,14 ± 0,24	0,84 ± 0,04
4	PEAD	5,42 ± 0,08	20,09 ± 0,16	0,58 ± 0,02
5	PEAD	9,53 ± 0,03	59,09 ± 0,39	0,64 ± 0,06
6	PEBD	2,47 ± 0,03	8,88 ± 0,04	0,66 ± 0,03

* Resultados obtidos a partir de duas determinações (amostra 1) e 10 determinações (amostras 2 a 6).

4.3 Determinação de ftalatos das amostras de embalagens plásticas

A tabela 3 apresenta os resultados da determinação de ftalatos das amostras. Os resultados obtidos indicam que as embalagens não apresentavam quantidades significativas de ftalatos. Isso mostra que o processo de produção não apresenta contaminações e, segue as normas exigidas pela ANVISA.



Tabela 3: Resultados obtidos para a determinação de ftalatos em embalagens.

Amostra	Área DIBP	Área DBP	Área DEHP	Concentração DIBP ¹	Concentração DBP ²	Concentração DEHP ³
3	0,48	0,11	0,19	< LD	< LD	< LD
4	0,24	0,34	0,17	< LD	< LD	< LD
5	0,36	0,12	0,09	< LD	< LD	< LD

¹ LD DEHP = 78 µg L⁻¹; ² LD DIBP = 99 µg L⁻¹; ³ LD DBP = 89 µg L⁻¹.

5 CONCLUSÃO

O método de determinação de DEHP, DIBP e DBP mostrou-se adequado para detectar baixas concentrações destes ftalatos, uma vez que todos os parâmetros estabelecidos pelo INMETRO para validação de um método analítico foram obtidos. Esses métodos podem ser aplicados para a confirmação de que estes aditivos não foram usados nas embalagens, como forma de fiscalização e controle de qualidade. Não foram detectados ftalatos nas amostras de PEAD analisadas, indicando que o fabricante seguiu as exigências da ANVISA.

6 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa concedida. Ao CETEA por todo apoio e compreensão durante o projeto. À Roseli Pereira, da empresa Gerresheimer que gentilmente doou amostras para consolidarmos o nosso projeto.

7 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 I, p. 43-51.

BANG, D.Y.; KYUNG, M.; KIM, M.J.; JUNG, B.Y.; CHO, M.C.; CHOI, S.M.; et al. Human risk assessment of endocrine-disrupting chemicals derived from plastics food containers. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, v. 11, 2012.

KOCH, H.M.; et al. Di-n-butylphthalate and butylbenzylphthalate – urinary metabolite levels and estimates daily intakes: pilot study for the German Environmental Survey on children. *Journal of exposure science and environmental epidemiology*, v. 17 n. 4, 2007.

MANKIDY, R.; WISEMAN, S.; MA, H.; GIESY, J.P. Biological impact of phthalates. *Toxicology Letters*, v. 217, 2013.

RIBANI, MARCELO; Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos; *Química Nova*, v. 27 n. 5, p 771-780; 2004