



## DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DA MIGRAÇÃO ESPECÍFICA DE ÓLEO DE SOJA EPOXIDADO PARA FILMES DE PVC ESTIRÁVEIS PARA CONTATO COM ALIMENTOS

Natalia Souza **Fidelis**<sup>1</sup>; Fabiana Ramos Souza **Felipe**<sup>2</sup>; Bruna Santos da **Silva**<sup>3</sup>; Leda **Coltro**<sup>4</sup>;

Nº 16209

**RESUMO** – O projeto consiste na análise de migração específica do óleo de soja epoxidado - OSE, um aditivo do tipo plastificante, que é usado em filmes de PVC estiráveis para contato com alimentos com o objetivo de melhorar a estabilidade térmica do polímero. Filmes de PVC são usados em grande escala para acondicionar diversos tipos de alimentos, e como este produto vem crescendo a cada dia mais no mercado consumidor, é necessário cada vez mais pesquisas e desenvolvimento para encontrar aditivos alternativos, que visam sempre à melhora do polímero. E junto disto, também houve a necessidade de elaboração de uma legislação para o uso desses compostos, pois estes quando incorporados à resina do polímero, podem apresentar migração para o alimento, causando então um possível risco à saúde humana, por isso é necessário conhecer o limite de migração específica da substância, para a mesma se adequar ao que a legislação determina. No caso do OSE, seu limite de migração específica é de 60 mg/kg de simulante de alimentos. Nos ensaios foi utilizado simulante de alimentos lácteos (solução aquosa de etanol 50% v/v), e a metodologia foi validada segundo critérios estabelecidos pela ANVISA e INMETRO. No projeto também se avaliou a migração específica do OSE para 4 amostras comerciais de filmes de PVC para o simulante lácteo, e os resultados foram confrontados com os requisitos estabelecidos pela ANVISA.

**Palavras-chaves:** Plastificante, PVC, migração, filme, embalagem, alimentos.

1 Autor: Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Química, UNICAMP, Campinas-SP; natyfidelis.12@gmail.com

2 Colaborador: Pesquisadora, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL/CETEA, Campinas-SP.

3 Colaborador: Técnico de laboratório, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL/CETEA, Campinas-SP.

4 Orientador: Pesquisadora, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL/CETEA, Campinas-SP.



**ABSTRACT** – *The project consists of specific migration analysis of epoxidized soybean oil - ESBO, an additive type plasticizer, which is used in PVC films for food contact with the objective of improving the thermal stability of the polymer. PVC films are used on a large scale for packaging various types of food, and how this product is growing every day more in the consumer market, it is increasingly necessary research and development to find alternative additives, which always aim to improve the polymer. And with this, there was also the need to draw up legislation for the use of these compounds as these when incorporated into the polymer resin may exhibit migration to food, thus causing a possible risk to human health. Therefore, it is necessary to know the specific migration limit of the substance to the same suit that the law provides. In the case of ESBO, the specific migration limit is 60 mg/kg of food simulant. In tests it was used dairy foods simulant (aqueous solution of ethanol 50 %, v/v), and the method was validated according to ANVISA and INMETRO. The project also evaluated the specific migration of OSE for four commercial samples of PVC films into dairy simulant, and the results were compared with the requirements established by ANVISA.*

**Keywords:** Plasticizer, PVC, migration, film, package, food.

## **1 INTRODUÇÃO**

As embalagens vêm se tornando cada vez mais resistentes e viáveis para os diversos tipos de produtos que a indústria produz. A maioria delas é feita de polímeros, e podem ser melhoradas para se obter um melhor desempenho na preservação do produto final. Estes polímeros podem ser moldados de diversas formas com o objetivo de oferecer uma melhora da embalagem. Os aditivos são usados para melhorar as propriedades do polímero, sem alterar a estrutura química do mesmo, porém podem apresentar certo grau de toxicidade.

Um dos polímeros mais utilizados no ramo das embalagens, devido às suas características é o PVC - policloreto de vinila. A estrutura molecular contém cloro, tornando o PVC um polímero resistente à propagação de chamas, tornando sua molécula polar e permitindo a mistura com uma gama de aditivos. Os aditivos são compostos não poliméricos que promovem características específicas, tais como rigidez ou flexibilidade, estabilidade térmica, transparência ou opacidade, etc. Os aditivos que conferem a flexibilidade são chamados de plastificantes. (RODOLFO, NUNES, ORMANJI, 2006).



O PVC pode ser usado tanto em embalagem flexível quanto em embalagem rígida, acondicionando vários tipos de produtos e, principalmente, como embalagem de alimentos. Uma embalagem flexível é aquela cujo formato depende da forma física do produto acondicionado e, cuja espessura é inferior a 250  $\mu\text{m}$  (SARANTÓPOULOS, 2002.). E por ser um tipo de embalagem que entra em contato com alimentos, há a possibilidade de migração do aditivo para o produto, e por isso tem-se que controlar o tipo e a quantidade de substâncias que podem ser adicionadas ao polímero de PVC, sem que isto cause riscos à saúde humana.

A ANVISA publicou a resolução RDC nº17, de 17 de março de 2008, que determina a quantidade máxima permitida para a migração dos aditivos para o alimento e também as restrições de uso (ANVISA, 2008).

O óleo de soja epoxidado – OSE é um aditivo do tipo plastificante usado em PVC com propriedades de estabilização térmica e possui em sua estrutura um grupo epóxi, quanto maior o teor de epóxi, maior a compatibilidade com o PVC, melhor a permanência e melhores as características de estabilização térmica (RODOLFO, NUNES, ORMANJI, 2006). O plastificante apresenta o limite de migração específica de 60 mg/kg e, para embalagens de produtos infantis este limite é reduzido para 30 mg/kg. (FANKHAUSER-NOTI, GROB, 2006).

Sendo assim, o objetivo do projeto foi desenvolver e validar método de ensaio para a determinação da migração específica de OSE de filmes de PVC estiráveis para contato com alimentos para o simulante de alimentos lácteos, bem como avaliar a migração do plastificante de amostras comerciais de filme de PVC para o simulante de alimentos lácteos, segundo critérios estabelecidos pela ANVISA.

## **2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Materiais e equipamentos**

Balões volumétricos calibrados de 25, 50 e 100 mL; béqueres de 10, 50 e 250 mL; micropipetas Transferpette® com volumes de 10 a 1000  $\mu\text{L}$  e de 0,5 a 5 mL; micropipeta Pipetman® com volumes de 1 a 10 mL; vial de 2 mL para CG; pipeta Pasteur; ponteiros para pipetas; tubos graduados de 10 mL; tubos não graduados de 10 mL; espátula; Cromatógrafo gasoso Agilent Technologies, modelo 7890 A, com detector por ionização de chama (CG-FID); balança analítica, Sartorius, com resolução de 0,00001 g; Milli-Q Gradient, Merck Millipore; chapa de aquecimento



Fisatom, modelo 752 A; filmes de PVC das marcas Great Value®, Wyda®, Prasty® e Facilita & Pronto®.

### **2.1.1 Condições Cromatográficas**

Coluna Cromatográfica DB1 – 30 m x 0,250 mm x 0,25 µm; temperatura da coluna: inicial de 175 °C, variando-se em seguida, 25°C/ min até 250 °C, permanecendo por 4 minutos; temperatura do detector: 280°C; temperatura do injetor: 280°C; fluxos dos gases do cromatógrafo: Hélio: 1,8 mL/min; Oxigênio: 80 mL/min; Hidrogênio: 40 mL/min; injeção Split: 60:1; volume da amostra: 0,5 µL.

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Análise da migração específica de OSE em simulante de alimentos lácteos**

Foram preparados em balões volumétricos de 25 mL, cinco padrões de OSE em simulante lácteo nas concentrações de 10, 20, 40, 60 e 100 mg/L, adicionando alíquotas de 1,25, 2,50, 5,0, 7,5 e 12,5 mL de solução padrão de OSE de 200 mg L<sup>-1</sup>. Transferiu-se 20 mL de cada padrão para um respectivo béquer para a evaporação completa do simulante. Após resfriar, lavou-se o béquer com 2 mL de isooctano, e procedeu-se à esterificação segundo o método da norma ISO 12966-2 (ISO, 2011), como segue:

Em um tubo de ensaio contendo 2 mL da solução de isooctano, foram adicionados 100 µL da solução metanólica de KOH 2 mol L<sup>-1</sup> e, agitou-se vigorosamente por um minuto. Após repouso de dois minutos, adicionou-se 2 mL de solução saturada de NaCl e o tubo foi agitado rapidamente. Assim houve a separação das fases, e a fase orgânica (superior) do tubo foi transferida para um outro tubo de ensaio com tampa que já continha 1,0 g ± 0,1 de bissulfato de sódio anidro, e este último tubo foi homogeneizado.

O bissulfato foi necessário para evitar danos ao cromatógrafo, retirando as impurezas e os resíduos que possivelmente estavam presentes na solução. Então, transferiu-se 1,5 mL da fase orgânica para um vial de 2 mL, e neste foram adicionados 75 µL da solução de DIBP 1000 mg/kg (padrão interno em isooctano). Em seguida injetou-se no GC-FID no método descrito no item 2.1.1.



## **2.2.2 Desenvolvimento e validação do método para determinação de OSE em simulante de alimentos lácteos**

Para a validação do método de determinação da migração específica de OSE em simulante de alimentos lácteos (solução aquosa de etanol a 50% v/v) foram avaliados os parâmetros de seletividade, linearidade, faixa de trabalho, limites de detecção e de quantificação, precisão, recuperação, exatidão e robustez (INMETRO, 2011).

## **2.2.3 Migração de OSE de amostra de filmes de PVC em simulante de alimentos lácteos**

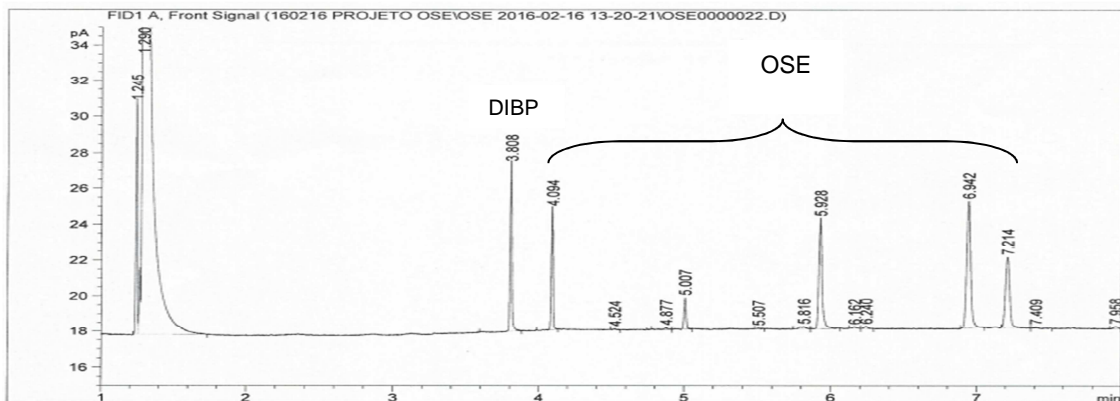
As amostras de filme de PVC comerciais foram colocadas em contato com simulante lácteo obedecendo à relação área/volume de 600 cm<sup>2</sup>/1000 mL. A condição de contato utilizada no ensaio foi 40 °C, por 10 dias, a qual simula a condição de uso para contato prolongado à temperatura de até 40 °C. Foi preparado um branco correspondente, submetendo um volume do simulante igual ao utilizado para contato com o corpo de prova às mesmas condições de condicionamento, porém sem o contato com a amostra. A análise do simulante após contato com as amostras foi realizada em um cromatógrafo a gás com detecção por ionização de chama (CG-FID) operando nas condições descritas em 2.1.1.

# **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **3.1 Validação da migração específica de OSE em simulante de alimentos lácteos**

### **3.1.1 Seletividade**

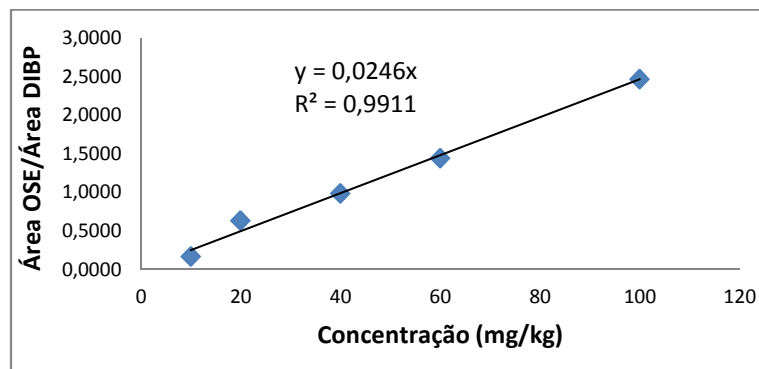
A análise dos possíveis interferentes foi feita com a injeção dos padrões de isooctano, isooctano metilado, solução de 1000 mg L<sup>-1</sup> de DIBP em isooctano, e solução padrão de 60 mg L<sup>-1</sup> de OSE em simulante lácteo. Os tempos de retenção obtidos foram 1,25 min (isooctano), 1,29 min (isooctano metilado) 3,8 min (DIBP) e 4,0; 5,0; 5,9; 6,9 e 7,2 min (OSE), sendo utilizado para elaboração da curva de calibração o pico em 6,9 minutos. Portanto, pode-se concluir que não há interferente na análise de OSE em simulante lácteo, uma vez que o solvente apresentou tempo de retenção diferente do OSE. A Figura 1 mostra o cromatograma de uma solução de OSE 60 mg L<sup>-1</sup> em simulante lácteo.



**Figura 1:** Cromatograma do padrão de OSE 60 mg de OSE L<sup>-1</sup> em simulante lácteo. Nas seguintes condições cromatográficas: Coluna DB1 – 30 m x 0,250 µm; gás de arraste: He; Cromatógrafo gasoso Agilent Technologies, modelo 7890 A, com detector por ionização de chama (FID).

### 3.1.2 Linearidade

A curva analítica com cinco pontos apresentou coeficiente de correlação de 0,9911, e o limite de migração específica (LME) para o OSE é de 60 mg L<sup>-1</sup>, situando-se na região intermediária da curva, permitindo que seja possível analisar uma eventual migração do OSE para o simulante lácteo na faixa de interesse.



**Figura 2:** Curva de calibração do OSE em simulante de alimentos lácteos.

### 3.1.3 Limite de Detecção e de Quantificação

O limite de detecção (LD) corresponde à menor concentração de OSE presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada, e o limite de quantificação (LQ) corresponde a menor concentração do plastificante em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis (BOTTOLI, 2004). Os limites obtidos a partir de 9 replicatas da solução de 5 mg L<sup>-1</sup> foram os seguintes: LD = 1,9 mg L<sup>-1</sup> e LQ = 9,3 mg L<sup>-1</sup>. Os dados obtidos indicam que o LD e LQ obtidos são aceitáveis, uma vez que são inferiores ao LME do OSE.



#### **3.1.4 Precisão**

Segundo a ANVISA, o maior valor de desvio padrão relativo (DPR) em relação às replicatas não pode ultrapassar 5% para a validação de um método. O DPR para as concentrações de 10 a 100 mg L<sup>-1</sup> variou de 0,62% a 4,54%, ou seja, valor dentro do esperado. A precisão intermediária obtida por dois analistas apresentou DPR de 3,71% e 4,39% para as concentrações de 20 e 100 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente, e 7,29% para a concentração de 60 mg L<sup>-1</sup>, o valor está acima do que é permitido.

#### **3.1.5 Recuperação**

A recuperação calcula a proximidade do valor observado em relação ao valor esperado para o respectivo ensaio. Uma recuperação adequada segundo a ANVISA se encontra na faixa de ± 10% do valor esperado, que é de 100%. Os resultados obtidos foram 93,37% para 20 mg L<sup>-1</sup>, 95,19% para 60 mg L<sup>-1</sup> e 106,33% para 100 mg L<sup>-1</sup>, indicando que os valores são aceitáveis.

#### **3.1.6 Exatidão**

Através do erro relativo (ER) expresso em porcentagem, pode-se avaliar a exatidão do método. Segundo a ANVISA, os valores aceitáveis de exatidão apresentam uma variação de 5% para que o método seja eficiente e passível de validação. Os resultados obtidos, - 4,38% para concentração de 20 mg L<sup>-1</sup> e - 4,17% para ambas as concentrações de 60 e 100 mg L<sup>-1</sup>, indicam que a exatidão do método está dentro da faixa admissível.

#### **3.1.7 Robustez**

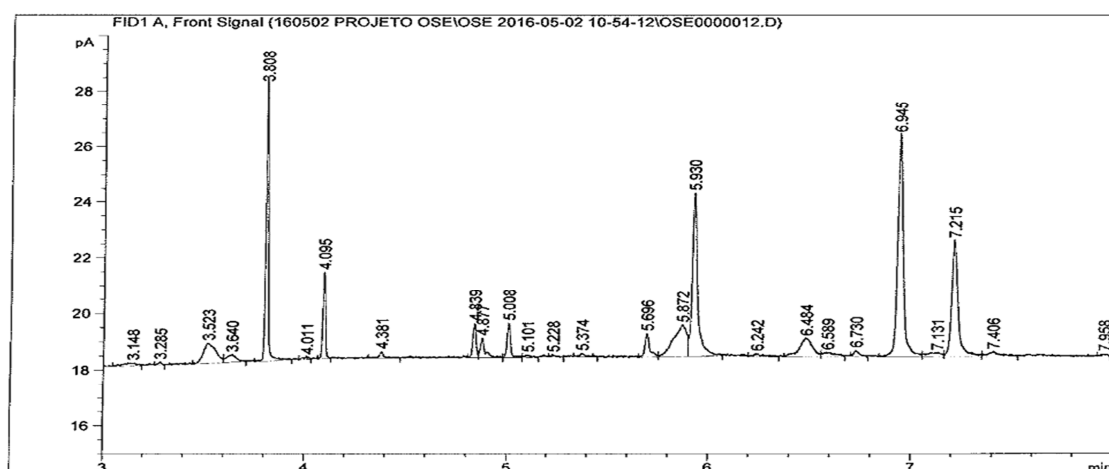
A robustez mede a sensibilidade que o método apresenta quando este sofre pequenas variações. Um método é robusto se for insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando o ensaio está sendo executado (BOTTOLI). Foram realizados oito ensaios, distintos, para determinar o efeito da variação de 7 parâmetros diferentes no procedimento analítico. Os resultados obtidos indicaram que o principal efeito que interfere na sensibilidade do método é o volume de limpeza na concentração do simulante. Portanto, este parâmetro precisa ser cuidadosamente ajustado para evitar influência nos resultados, ou seja, deve-se realizar a limpeza na concentração com certo volume ideal, que no caso é de 2,0 mL de isooctano.

### 3.2 Migração de OSE de filmes de PVC comerciais em simulante de alimentos lácteos

As amostras de filme de PVC apresentaram as seguintes concentrações de OSE no simulante lácteo: 48,18 mg L<sup>-1</sup> para amostra 1, 68,94 mg L<sup>-1</sup> para amostra 2, 31,88 mg L<sup>-1</sup> para amostra 3 e 21,06 mg L<sup>-1</sup> para amostra 4. Houve migração específica do óleo de soja epoxidado em todos os corpos de provas das amostras que foram analisadas. E isto pode ser comprovado pela presença de picos cromatográficos do OSE no tempo de retenção de 6,9 minutos, como indicado no cromatograma apresentado na Figura 3.

A diferença na migração de OSE entre as quatro amostras é provavelmente devido à diferença de concentração de OSE nas amostras. Uma melhor plastificação melhora e aumenta a mobilidade das moléculas do plastificante na estrutura do PVC, podendo resultar assim, em um aumento da migração (COLTRO, 2014).

Os valores de migração específica encontrados nas amostras 1, 3 e 4 estão abaixo do limite previsto para as embalagens plásticas, que é de 60 mg L<sup>-1</sup> de OSE para o simulante de alimento lácteo. E o valor encontrado na amostra 2, está acima do limite previsto pela legislação. Portanto, considerando o requisito de migração específica deste plastificante, apenas as amostras 1, 3 e 4 de filme de PVC analisadas, poderiam ser utilizadas em contato com alimentos lácteos, sem que ocorra risco à saúde humana e atendendo os requisitos da ANVISA. Enquanto a amostra 2, não poderia ser comercializada para essa finalidade, em virtude do valor de migração ser acima do limite previsto pela ANVISA, podendo causar risco à saúde, em decorrência do potencial de migração específica do plastificante para o alimento lácteo.



**Figura 3:** Cromatograma da migração específica de OSE de filme de PVC comercial para simulante de alimentos lácteos: Amostra 2. Nas seguintes condições cromatográficas: Coluna DB1 – 30 m x 0,250 µm; gás de arraste: He; Cromatógrafo gasoso Agilent Technologies, modelo 7890 A, com detector por ionização de chama (FID).





#### 4 CONCLUSÃO

A metodologia de determinação da migração específica do OSE para simulante de alimentos lácteos mostrou-se adequada, visto que todos os parâmetros estabelecidos pelo INMETRO para a validação do método analítico foram atendidos.

O método mostrou-se seletivo, pois nenhum interferente do simulante lácteo foi encontrado no mesmo tempo de retenção do OSE. A linearidade do método foi satisfatória, já que a curva de calibração apresentou um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) bem próximo de 1. Os limites de detecção ( $1,9 \text{ mg L}^{-1}$ ) e quantificação ( $9,3 \text{ mg L}^{-1}$ ) são aceitáveis, pois estão abaixo do limite de migração específica do OSE ( $60 \text{ mg L}^{-1}$ ). Através dos ensaios de precisão (repetitividade e precisão intermediária), o método foi considerado preciso devido à baixa variação nos valores de desvio padrão e coeficiente de variação. Os valores encontrados para a exatidão através do ensaio de recuperação ficaram dentro da faixa esperada de 90-110%. E o principal parâmetro que afeta a sensibilidade do método é o volume de limpeza na concentração, determinado pela robustez.

Três das quatro amostras de filme de PVC comerciais que foram estudadas poderiam ser utilizadas em contato com alimentos lácteos por tempo prolongado a temperatura de até  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , que são as amostras 1, 3 e 4. Já a amostra 2, não poderia ser comercializada para esta finalidade, pois a migração do OSE ultrapassou o limite estabelecido pela legislação, e então se fosse utilizada para contato com este tipo de alimento poderia causar riscos à saúde humana.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida. Ao CETEA – ITAL, pela oportunidade de estágio.

#### 6 REFERÊNCIAS

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.

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

COLTRO, L.; PITTA, J. B.; COSTA, P. A.; PEREZ, M. A. F.; ARAÚJO, V. A.; RODRIGUES, R. Migration of conventional and new plasticizers from PVC films into food simulants: a comparative study. **Food Control**, v. 44, p. 118-129, 2014.



**10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC2016**  
**02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo**  
**ISBN 978-85-7029-135-6**

FANKHAUSER-NOTI, A.; GROB, K. Migration of plasticizers from PVC gasket of lids glass jars into oily foods: amount of gasket material in food contact, proportion of plasticizer migrating into food and compliance testing by simulation. *Food Science & Technology*. 17:105 -112, 2006.

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](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf)>. Acesso em: 1 junho de 2016.

RODOLFO, A. Jr.; NUNES, L. R.; ORMANJI, W. Tecnologia do PVC. 2º edição. São Paulo, ProEditores/Braskem, 2006. 447 p.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L., Oliveira, L. D., Padula, M., Coltro, L., Alves, R. V., & Garcia, E. E. (2002). Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades. *Campinas: CETEA/ITAL*, 1, 267.