

NATHÁLIA RAMOS DE MELO

MIGRAÇÃO DE PLASTIFICANTES E AVALIAÇÃO DE  
PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES DE  
POLI(CLORETO DE VINILA) PARA ALIMENTOS

Tese apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-graduação em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos,  
para obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL

2007

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M528m  
2007

Melo, Nathália Ramos de, 1975-

Migração de plastificantes e avaliação de propriedades mecânicas de filmes de poli(cloreto de vinila) para alimentos / Nathália Ramos de Melo. – Viçosa, MG, 2007.

xxv, 138f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Nilda de Fátima Ferreira Soares.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 116-126.

1. Alimentos - Embalagens. 2. Alimentos - Contaminação. 3. Filmes plásticos. 4. Plásticos nas embalagens. 5. PVC (Cloreto de polivinilo). I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

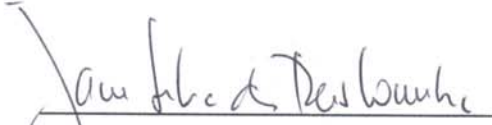
CDD 22.ed. 664.09

NATHÁLIA RAMOS DE MELO

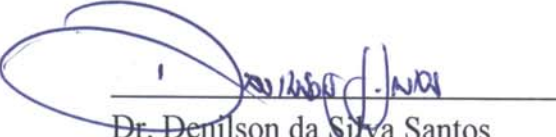
MIGRAÇÃO DE PLASTIFICANTES E AVALIAÇÃO DE  
PROPRIEDADES MECÂNICAS DE FILMES DE  
POLI(CLORETO DE VINILA) PARA ALIMENTOS


Tese apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-graduação em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos,  
para obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.


APROVADA: 28 de fevereiro de 2007

  
Prof.<sup>a</sup> Jane Sélia dos Reis Coimbra  
(Co-Orientadora)

  
Pesq. Shirley de Mello Pereira Abrantes

  
Dr. Denilson da Silva Santos

  
Prof.<sup>a</sup> Edimar Aparecida Filomeno Fontes

  
Prof.<sup>a</sup> Nilda de Fátima Ferreira Soares  
(Orientadora)

## AGRADECIMENTOS

A muitos tenho que agradecer pela conclusão de mais uma etapa acadêmica, este tal de doutorado;

A Deus em primeiro lugar;

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade,

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão de bolsa regular assim como a bolsa de estágio em doutorado realizado na Espanha;

Ao Centro Politécnico Superior de Engenheiros da Universidade de Zaragoza, Zaragoza, Aragón - Espanha pela receptividade;

Aos meus pais, Leonel del Rey de Melo e Maria Terezinha de Ramos pela educação dada e pela credibilidade em mim depositada até os dias de hoje;

Aos meus irmãos, Leonel, Thiago, Ronnan e Luan, cada um tem seu papel fundamental nas partes dessa história;

Aos meus padrinhos Luiz Carlos Bhering Nasser e Maria da Graças Gomide Nasser, por todo apoio e atenção, sempre prontos a ajudar;

A toda equipe do laboratório de embalagens que durante estes nove anos, entre iniciação científica e doutorado, passaram, sempre deixando uma grande marca: Fernando, Maria do Socorro, Nédio, Renatinho, Robson, Mírian, Alba, Joesse, Danielle, Talita Moreira, Talita Patelli, Paula, Vinícius, Fabiano, Aline, Márcia, Geany, Washington, Juninho, Edimar, Paulo Rogério, Ana Clarissa, Luciana, Maria Paula, Filipe, Diego, Franceline, Michele, Kátia, Rodrigo, Alexandre, Flavinha, Germanna, Manoela, Érica, Victor, Cristiane,

Hiasmyne, Lina, Luis Eduardo, Allan, Luana, que entre choros, risos e gritos (rsrsrsrs....), sempre estivemos juntos. A Jurema, essa até para Espanha foi!;

À grande turminha da microbiologia, verdadeira amizade construída. Durante as noites intermináveis nos laboratórios e nas festas também. “Ei, SÓ falta isso!” Aline, Janaína, Bruno, Marcelo, Uelinton, Joesse, Renata e Irene; e lógico, aos professores, que nos uniam, 24h por dia e os sete dias da semana: Flávia, Hilário, Cristina e Mírian.

A toda turma da pós-graduação, pelas horas de estudo, ajuda nos trabalhos e pelos momentos de descontração;

Aos amigos, Eduardo, Alcinéia, Ronielle, Aureliano, Simone, Vanessa Riani, Vanessa Costa, Maurício, Daniela, Daniele, Elenice, Elaine, Vantuir, Valdinei e Valdimir;

Aos professores e colegas que passaram durante a fase de disciplina cursada em Ouro Preto.

Aos mestres e amigos encontrados em Zaragoza-Es, Cristina Nerín, Jesús, Davison, Joaquín, Laura, Sara, Karim, Jorge, Ángel, Patrícia, Cristina Sánchez, Ramón, Maria, Ester, Elena, Joel, Aidé, Américo, Emanuele e Rodrigo. Já ia me esquecendo do grande amigo Cromatógrafo, que eu quase trouxe comigo, não é Joaquín? “¡Seguro que no los olvidaré!”

À equipe dos socorros cromatográficos: Eduardo, José Luiz e Juliano.

Aos funcionários da pró-reitoria de pós-graduação, Gilsemir e da pró-reitoria de administração, Fátima;

Aos funcionários do DTA, estes eu não vou citar nomes, mas cada um sabe da importância que teve e do meu eterno agradecimento;

Aos mestres do Departamento de Tecnologia de Alimentos, sempre prontos a ajudar. Com vocês eu muito aprendi;

À professora Nilda de Fátima Ferreira Soares, uma orientadora incondicional, além de amiga, a ela é difícil palavras, então, mais uma vez, o meu, muito obrigada! “É . . . Um dia essa menina cresce!”

Espero não ter me esquecido de ninguém, mas se isso ocorreu, peço desculpas e agradeço desde já.

## **BIOGRAFIA**

NATHÁLIA RAMOS DE MELO, filha de Leonel del Rey de Melo e Maria Terezinha de Ramos, nasceu na cidade de Viçosa, Estado Minas Gerais, no dia 10 de dezembro 1975.

Em março de 1995, iniciou o Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em outubro de 2000.

Em abril de 2001, iniciou o Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, submetendo-se aos exames finais de defesa em março de 2003.

Em Março de 2003, iniciou o programa de Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos na mesma Instituição. cursou disciplina na Escola de Engenharia de Materiais na Universidade Federal de Ouro Preto no período de março a julho de 2004 e participou do programa de estágio de doutorado no exterior, executando parte dos estudos, no Centro Politécnico Superior de Engenharia na Universidade de Zaragoza em Zaragoza, Espanha, no período de março a agosto de 2006. Em fevereiro de 2007 submeteu-se à defesa de tese.

## SUMÁRIO

NOMENCLATURA.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xvii
LISTA DE QUADROS .....	xxii
RESUMO.....	xxiii
ABSTRACT.....	xxv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1. Conservação de Alimento – embalagem.....	6
2.2. Embalagens Plásticas de Alimentos.....	7
2.3. Poli(cloreto de vinila) - PVC.....	11
2.4. Interação Alimento-Embalagem: Migração .....	14
2.5. Toxicidade dos plastificantes .....	22
2.6. Ensaio de migração de materiais plásticos para alimentos.....	26
2.7. Técnicas Analíticas.....	28

2.7.1. Cromatografia.....	28
2.7.2. Espectrometria de massa .....	30
2.7.3. Microextração de fase sólida .....	34
2.7.4. Espectroscopia de Infravermelho .....	35
2.7.5. Ensaio de Beilstein .....	36
2.7.6. Microscopia eletrônica de varredura .....	37
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>
3.1. Seleção dos filmes de poli(cloreto de vinila) - PVC .....	39
3.1.1. Avaliação dos filmes pelo Teste de Beilstein.....	39
3.1.2. Avaliação dos filmes por Espectroscopia de Infravermelho .....	40
3.1.3. Identificação dos plastificantes no filme de PVC por cromatografia gasosa com detector de massa (GC-MS).....	40
3.2. Análise de migração de plastificantes do filme de PVC para simulantes de alimentos .....	41
3.2.1. Preparo dos materiais utilizadas nos ensaios de migração.....	41
3.2.2. Determinação da migração dos plastificantes do PVC em meios simulantes .....	42
3.2.2.1. Preparo da amostra do simulante etanol 95% após imersão do filme de PVC .....	43
3.2.2.2. Preparo da amostra do simulante isooctano após imersão do filme de PVC.....	43
3.2.2.3. Preparo da amostra do simulante água após imersão do filme de PVC.....	44
3.2.2.4 Condições do cromatógrafo gasoso com detector de massa (GC-MS) para determinação dos plastificantes migrados para os simulantes.....	45
3.3. Análise de migração de plastificantes do filme de PVC para os alimentos .....	46
3.3.1. Preparo dos materiais utilizadas nos ensaios de migração.....	46



3.3.2. Caracterização dos alimentos queijo mussarela e presunto .....	46
3.3.2.1. Determinação do teor de gordura .....	46
3.3.2.1.1. Queijo mussarela .....	46
3.3.2.1.2. Presunto .....	47
3.3.2.2. Determinação da espessura dos alimentos .....	48
3.3.2.3. Determinação de pH .....	48
3.3.3. Montagem do ensaio de migração .....	48
3.3.4. Extração dos plastificantes migrados para os alimentos .....	49
3.3.5. Condições do cromatógrafo gasoso com detector de massa (GC-MS) para determinação dos plastificantes migrados para os alimentos .....	50
3.3.6. Avaliação da eficiência do processo de extração dos plastificantes dos alimentos.....	50
3.4. Quantificação dos plastificantes.....	52
3.5. Avaliação das propriedades mecânicas dos filmes de PVC.....	53
3.5.1. Em simulantes .....	54
3.6. Análise Microscópica dos filmes de PVC.....	54
3.7. Análise estatística.....	55
3.7.1. Experimentos de migração de plastificantes para simulantes.....	55
3.7.2. Experimentos de migração de plastificantes para alimentos .....	55
3.7.3. Avaliação da utilização de simulantes em substituição aos alimentos .....	56
3.7.4. Experimento de avaliação das propriedades mecânicas dos filmes de PVC.....	56
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
4.1. Filmes de poli(cloreto de vinila) utilizados nos experimentos.....	59

4.2. Característica dos alimentos queijo mussarela e presunto .....	60
4.3. Curvas analíticas para quantificação dos plastificantes em estudo .....	60
4.4. Avaliação da eficiência do processo de extração dos plastificantes dos alimentos .....	62
4.5. Análise de migração de plastificantes do filme de PVC para simulantes de alimentos .....	63
4.6 Análise de migração de plastificantes do filme de PVC para os alimentos .....	76
4.6.1. Limite de Migração Específica (LME).....	76
4.6.2. Migração de plastificantes para alimentos .....	78
4.7. Comparação do teor de plastificante migrado para o simulante e para o alimento. ....	90
4.7.1. Considerações gerais .....	90
4.7.2. Migração dos plastificantes .....	91
4.8. Avaliação das propriedades mecânica dos filmes de PVC .....	99
4.9. Análise Microscópica dos filmes de PVC.....	108
5. CONCLUSÃO.....	113
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	116
APÊNDICES .....	127
APÊNDICE A.....	128
APÊNDICE B.....	132
APÊNDICE C.....	134
APÊNDICE D.....	136
APÊNDICE E .....	137

## NOMENCLATURA

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASTM	American society for testing and materials
ATBC	Citrato de acetil-tribulila
CE	Comunidade Européia
CEE	Comunidade Econômica Européia
DEHA	Adipato de di-(2-etil-hexila)
DEHP	Ftalato de di-(2-etil-hexila)
DINA	Adipato de di-isononila
DINP	Ftalato de di-isononila
DRF	Fator de redução
GC	Cromatografia gasosa
GC-MS	Cromatografia gasosa com espectrometria de massa
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
IDA	Ingestão diária aceitável
IR	Espectroscopia de Infravermelho
LME	Limite de migração específica

MCV	Mono cloreto de vinila
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NBR	Norma brasileira
PVC	Poli(cloreto de vinila)
PVdC	Poli(cloreto de vinilideno)
SCAN	Modo de Varredura
SIM	Monitoramento de íons selecionados
SPME	Microextração de fase sólida
Tg	Temperatura de transição vítrea
THF	Tetrahidrofurano
UE	União Européia
UR	Umidade relativa

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Estrutura química do DEHP.....	10
2	Estrutura química do DEHA.....	10
3	Estrutura química do ATBC.....	11
4	Estrutura química do Monômero Cloreto de Vinila.....	12
5	Interação Alimento – embalagem. P:permeação; S:sorção; M:migração .....	15
6	Exemplificação de cromatograma.....	29
7	Espectro de massa por impacto de elétrons, gerado por computador, da benzamida na forma de gráfico de barras. A abundância relativa dos picos, apresentada como percentagem do pico base (100%), está lançada contra a razão massa/carga ( $m/z$ ).....	32
8	Montagem dos experimentos de migração dos plastificantes contidos nos filmes de PVC para os simulantes.....	42
9	Preparo da amostra do simulante etanol 95% após imersão do filme de PVC para análise em GC-MS.....	43

10	Preparo da amostra do simulante isooctano após imersão do filme de PVC para análise em GC-MS.....	43
11	Preparo da amostra do simulante água após imersão do filme de PVC para análise em GC-MS.....	44
12	Montagem dos experimentos de migração dos plastificantes contidos nos filmes de PVC para os alimentos.....	48
13	Preparo da amostra dos alimentos após contato com o filme de PVC para análise em GC-MS.....	50
14	Preparo da amostra dos alimentos para avaliação do processo de extração dos plastificantes por GC-MS.....	51
15	Cromatograma proveniente de análise em GC-MS, utilizado para obtenção da curva analítica em etanol, identificando os plastificantes ATBC, DEHA e DEHP.....	60
16	Curvas analíticas para diferentes plastificantes, (●) DEHP, (○) DEHA e (□) ATBC nos solventes etanol (A), isooctano (B e C) e água (D).....	61
17	Migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC adquirido no mercado brasileiro em simulantes etanol 95% (A), isooctano (B) e água (C) em temperaturas de refrigeração (●5°C) e ambiente (○20°C).....	65
18	Migração do plastificante DEHP presente no filme de PVC adquirido no mercado brasileiro em simulantes etanol 95% (A), isooctano (B) e água (C) em temperaturas de refrigeração (●5°C) e ambiente (○20°C).....	67
19	Migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC adquirido no mercado europeu em simulantes etanol 95% (A), isooctano (B) e água (C) em temperaturas de refrigeração (●5°C) e ambiente (○20°C).....	71

20	Migração do plastificante ATBC presente no filme de PVC adquirido no mercado europeu em simulantes etanol 95% (A), isoctano (B) e água (C) em temperaturas de refrigeração (●5°C) e ambiente (○20°C).....	73
21	Migração do plastificante DEHA, presente no filme de PVC brasileiro, expressa em mg.kg <sup>-1</sup> (A) e mg.dm <sup>-2</sup> (B), para queijo mussarela (●) e presunto (○), mantidos sob temperatura de refrigeração (5°C). (-----) Limite de migração específica.....	79
22	Migração do plastificante DEHP, presente no filme de PVC brasileiro, expressa em mg.kg <sup>-1</sup> (A) e mg.dm <sup>-2</sup> (B), para queijo mussarela (●) e presunto (○), mantidos sob temperatura de refrigeração (5°C). (-----) Limite de migração específica.....	82
23	Migração do plastificante DEHA, presente no filme de PVC europeu, expressa em mg.kg <sup>-1</sup> (A) e mg.dm <sup>-2</sup> (B), para queijo mussarela (●) e presunto (○), mantidos sob temperatura de refrigeração (5°C). (-----) Limite de migração específica.....	85
24	Migração do plastificante ATBC, presente no filme de PVC europeu, expressa em mg.kg <sup>-1</sup> (A) e mg.dm <sup>-2</sup> (B), para queijo mussarela (●) e presunto (○), mantidos sob temperatura de refrigeração (5°C). (-----) Limite de migração específica.....	87
25	Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC brasileiro após contato com queijo mussarela (▣) e presunto (≡) e com os simulantes alimentares (etanol 95% (▤), isoctano (▥) e água (▦)) mantidos sob temperatura de 5°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (▧) e alongamento (▨).....	101

26	Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC europeu após contato com queijo mussarela (☐) e presunto (☐) e com os simulantes alimentares (etanol 95% (☐), isoctano (☐) e água (☐)) mantidos sob temperatura de 5°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (☐) e alongamento (☐)....	101
27	Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC brasileiro após contato com os simulantes etanol 95% (☐), isoctano (☐) e água (☐) mantidos sob temperatura de 5°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (☐) e alongamento (☐).....	105
28	Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC brasileiro após contato com os simulantes etanol 95% (☐), isoctano (☐) e água (☐) mantidos sob temperatura de 20°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d) Filme controle: Carga máxima na ruptura (☐) e alongamento (☐).....	105
29	Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC europeu após contato com os simulantes etanol 95% (☐), isoctano (☐) e água (☐) mantidos sob temperatura de 5°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (☐) e alongamento (☐).....	106
30	Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC europeu após contato com os simulantes etanol 95% (☐), isoctano (☐) e água (☐) mantidos sob temperatura de 20°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (☐) e alongamento (☐).....	106



- 31 Fotos em Microscopia eletrônica de varredura da superfície (1) e seção transversal (2) do filme de PVC brasileiro após 15 dias de contato com os simulantes etanol 95% (B), isooctano (C) e água (D), mantidos a 20°C. Filme controle (A), mantido a temperatura ambiente (25°C) e que não esteve em contato com simulantes. Aumento 8000x. Setas: indicam alguns pontos de alterações da estrutura..... 109
- 32 Fotos em Microscopia eletrônica de varredura da superfície (1) e seção transversal (2) do filme de PVC europeu após 15 dias de contato com os simulantes etanol 95% (B), isooctano (C) e água (D), mantidos a 20°C. Filme controle (A), mantido a temperatura ambiente (25°C) e que não esteve em contato com simulantes. Aumento 8000x. Setas: indicam alguns pontos de alterações da estrutura..... 110

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Concentrações dos plastificantes utilizadas na construção das curvas analíticas.....	53
2	Filmes selecionados para os experimentos.....	59
3	Características do queijo mussarela e presunto, utilizados nos experimentos.....	60
4	Valores de porcentagem de recuperação e fatores de correção do método de extração dos plastificantes dos alimentos.....	62
5	Resumo da análise de variância de teor de plastificante DEHA migrado do filme de PVC brasileiro para os diferentes simulantes, etanol 95 %, isooctano e água, sob temperatura de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C).....	64
6	Média das concentrações (mg.dm <sup>-2</sup> ) migradas do plastificante DEHA, presente no filme de PVC brasileiro, para diferentes simulantes nas temperaturas de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C) .....	66

7	Resumo da análise de variância de teor de plastificante DEHP migrado do filme de PVC brasileiro para os diferentes simulantes, etanol 95%, isoctano e água, sob temperatura de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C).....	66
8	Média das concentrações (mg.dm <sup>-2</sup> ) migradas do plastificante DEHP, presente no filme de PVC brasileiro, para diferentes simulantes nas temperaturas de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C) .....	68
9	Resumo da análise de variância de teor de plastificante DEHA migrado do filme de PVC europeu para os diferentes simulantes, etanol 95%, isoctano e água, sob temperatura de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C).....	69
10	Média das concentrações (mg.dm <sup>-2</sup> ) migradas do plastificante DEHA, presente no filme de PVC europeu, para diferentes simulantes nas temperaturas de refrigeração e ambiente.....	72
11	Resumo da análise de variância de teor de plastificante ATBC migrado do filme de PVC europeu para os diferentes simulantes, etanol 95%, isoctano e água, sob temperatura de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C).....	72
12	Média das concentrações (mg.dm <sup>-2</sup> ) migrada do plastificante ATBC, presente no filme de PVC europeu, para diferentes simulantes nas temperaturas de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C) .....	74
13	Limite de Migração Especifica (LME) para plastificantes presentes em embalagens em contato com alimentos.....	77
14	Resumo da análise de variância do teor de plastificante DEHA (mg.kg <sup>-1</sup> e mg.dm <sup>-2</sup> ) migrado do filme de PVC brasileiro em contato com queijo mussarela e presunto sob temperatura de refrigeração (5°C).....	78

15	Resumo da análise de variância do teor de plastificante DEHP ( $\text{mg.kg}^{-1}$ e $\text{mg.dm}^{-2}$ ) migrado do filme de PVC brasileiro em contato com queijo mussarela e presunto sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ).....	81
16	Resumo da análise de variância do teor de plastificante DEHA ( $\text{mg.kg}^{-1}$ e $\text{mg.dm}^{-2}$ ) migrado do filme de PVC europeu em contato com queijo mussarela e presunto sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ).....	84
17	Resumo da análise de variância do teor de plastificante ATBC ( $\text{mg.kg}^{-1}$ e $\text{mg.dm}^{-2}$ ) migrado do filme de PVC europeu em contato com queijo mussarela e presunto sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ).....	87
18	Média das concentrações migradas dos plastificantes contidos no filme de PVC brasileiro quando em contato com queijo mussarela, presunto e em suas simulações em etanol 95% e isoctano.....	92
19	Média das concentrações migradas dos plastificantes contidos no filme de PVC europeu quando em contato com queijo mussarela, presunto e em suas simulações em etanol 95% e isoctano.....	94
20	Resumo da análise de variância das alterações nas propriedades mecânicas apresentadas por filmes de PVC, provenientes do mercado brasileiro e europeu, após contato com queijo mussarela e presunto e com os simulantes alimentares (etanol 95%, isoctano e água) mantidos sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ), para um e 15 dias.....	100
21	Resumo da análise de variância das alterações nas propriedades mecânicas apresentadas por filmes de PVC, provenientes do mercado brasileiro e europeu, após contato com os simulantes alimentares, etanol 95%, isoctano e água, mantidos sob temperatura ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ) e de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ) para um e 15 dias.....	104

1B	Resumo da análise de regressão para os diferentes simulantes de alimentos, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC brasileiro.....	132
2B	Resumo da análise de regressão para os diferentes simulantes de alimentos, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHP presente no filme de PVC brasileiro.....	132
3B	Resumo da análise de regressão para os diferentes simulantes de alimentos, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC europeu.....	133
4B	Resumo da análise de regressão para os diferentes simulantes de alimentos, durante o tempo dos testes de migração do plastificante ATBC presente no filme de PVC europeu.....	133
1C	Resumo da análise de regressão para os alimentos queijo mussarela e presunto, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC brasileiro, expresso em $\text{mg.kg}^{-1}$ e $\text{mg.dm}^{-2}$ .....	134
2C	Resumo da análise de regressão para os alimentos queijo mussarela e presunto, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHP presente no filme de PVC brasileiro, expresso em $\text{mg.kg}^{-1}$ e $\text{mg.dm}^{-2}$ .....	134
3C	Resumo da análise de regressão para os alimentos queijo mussarela e presunto, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC europeu, expresso em $\text{mg.kg}^{-1}$ e $\text{mg.dm}^2$ .....	135
4C	Resumo da análise de regressão para os alimentos queijo mussarela e presunto, durante o tempo dos testes de migração do plastificante ATBC presente no filme de PVC europeu, expresso em $\text{mg.kg}^{-1}$ e $\text{mg.dm}^2$ .....	135

1D	Resumo da análise de variância para a migração de diferentes plastificantes contidos nos filmes de PVC brasileiro e europeu em contato com queijo mussarela, presunto e suas simulações em etanol 95% e isoctano, expressos em $\text{mg.kg}^{-1}$ e $\text{mg.dm}^{-2}$ .....	136
1E	Média dos valores de propriedades mecânicas dos filmes de PVC após contato com queijo mussarela e presunto e com os simulantes alimentares (etanol 95%, isoctano e água) mantidos à temperatura de 5°C.....	137
2E	Média dos valores de propriedades mecânicas dos filmes de PVC após 24 horas e 15 dias de contato com os simulantes, etanol 95%, isoctano e água sob temperatura de 5 e 20°C.....	138

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro</b>		<b>Página</b>
1A	Classificação dos alimentos sob o ponto de vista da interação com as embalagens e equipamentos plásticos.....	128
2A	Classificação e definição dos simulantes de alimentos para realização de ensaios de migração em embalagens.....	128
3A	Simulantes indicados para cada tipo de alimento.....	129
4A	Classificação dos alimentos em função dos simulantes (parte do Quadro)	130
5A	Condições convencionais para os testes de migração com simulantes de alimentos.....	131
6A	Convenções para os testes de migração com substituintes do simulante D.....	131

## RESUMO

MELO, Nathália Ramos de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2007. **Migração de plastificantes e avaliação de propriedades mecânicas de filmes de poli(cloreto de vinila) para alimentos.** Orientadora: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Co-Orientadores: Luis Henrique Mendes da Silva e Jane Sélia dos Reis Coimbra.

A migração de compostos da embalagem pode comprometer as propriedades química e mecânica do material, além da possibilidade de acarretar conseqüências toxicológicas ao consumidor. O presente trabalho teve por finalidade avaliar a migração dos plastificantes ftalato de di-(2-etil-hexila) (DEHP), adipato de di-(2-etil-hexila) (DEHA) e citrato de acetil-tribulila (ATBC) utilizados na produção de filmes de poli(cloreto de vinila) (PVC) para estarem em contato com alimentos. Foram selecionados dois filmes (10  $\mu\text{m}$ ), um adquirido no mercado brasileiro contendo DEHA e DEHP e outro no mercado europeu contendo DEHA e ATBC. Os testes de migração foram conduzidos utilizando os simulantes de alimentos etanol 95%, isoctano e água e os alimentos queijo mussarela e presunto. A migração dos plastificantes para os diferentes simulantes, foi realizada imergindo 12  $\text{cm}^2$  dos filmes em 20 mL dos simulantes, mantidos vedados e armazenados a  $5\pm 1^\circ\text{C}$  e  $20\pm 2^\circ\text{C}$ . A migração para os alimentos foi avaliada após colocar a superfície de uma fatia do alimento (10 g e 45,5  $\text{cm}^2$ ), em contato com o filme e armazená-la a  $5\pm 1^\circ\text{C}$ . Análises foram realizadas nos tempos 1, 5, 10 e 15 dias. O teor de plastificante



migrado foi quantificado por cromatografia gasosa com detecção de massa e os ensaios mecânicos realizados utilizando o Aparelho Universal de Teste - Instron. Os plastificantes apresentaram maior tendência a migração à temperatura de 20°C. Os plastificantes DEHA e DEHP migraram em maior concentração para o queijo que para o presunto. O mesmo não ocorreu com o ATBC que apresentou o mesmo comportamento em ambos os alimentos. Os simulantes etanol 95% e isoctano apresentaram maior expressividade quanto à migração dos plastificantes em relação a água, sendo então os indicados para avaliação da migração em simulação ao queijo e presunto. As concentrações dos plastificantes migradas ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) para os simulantes, comparadas com os Limites de Migração Específica (LME) indicaram que o filme de PVC brasileiro não está adequado à utilização em contato com queijo mussarela e presunto, pois, apesar de ter apresentado concentrações migradas do DEHP dentro dos limites legislados, a migração de DEHA excedeu o LME determinado. O filme de PVC europeu apresentou todos os valores de migração dentro do regulamentado e, portanto, está adequado à utilização em contato com queijo mussarela e presunto. Quando os filmes estiveram em contato com os alimentos os teores de plastificantes migrados ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) apresentaram concentrações acima do LME, com exceção do DEHP presente no filme brasileiro, quando em contato com queijo e presunto, e do DEHA do filme europeu em contato com o presunto. Foram observadas alterações nas propriedades mecânicas dos filmes de PVC após contato com os simulantes e os alimentos, tendo-se um aumento da carga máxima na ruptura e diminuição no alongamento na maioria dos casos avaliados. As alterações mecânicas foram mais acentuadas quando os filmes estiveram em contato com os simulantes etanol 95% e isoctano, devido à maior perda de plastificantes nestes simulantes. Assim, pode-se concluir que a migração dos plastificantes para os alimentos ocorreu, na maioria dos casos, acima do LME, contribuindo para a ingestão desses aditivos pelos consumidores. Adicionalmente, ocorreram alterações nas propriedades mecânicas dos filmes durante o período de estocagem dos produtos.

## ABSTRACT

MELO, Nathália Ramos de, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2007. **Migration of plasticizers and evaluation on mechanical properties in poly(vinyl chloride) film into foods.** Adviser: Nilda de Fátima Ferreira Soares, Co-Advisers: Luis Henrique Mendes da Silva and Jane Sélia dos Reis Coimbra.

The migration of packaging compounds can compromise the chemical and mechanical proprieties of the material, as well as causing toxicological problems with the consumer. The purpose of this work was to evaluate migration of plasticizers di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), di-(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) and acetyl tributyl citrate (ATBC) used to produce poly(vinyl chloride) (PVC) film to be in contact with food. Two films were selected (10  $\mu\text{m}$ ), one from brazilian that has DEHA and DEHP added and another from european manufacturer containing DEHA and ATBC. The migration tests were conducted using 95% ethanol (w/w), isooctane and water as food simulants and actual food as mozzarella cheese and ham. The migration of plasticizer for different simulants, was accomplished immersing 12  $\text{cm}^2$  of films into 20 mL of simulants, maintained closed and stored at  $5\pm 1^\circ\text{C}$  and  $20\pm 2^\circ\text{C}$ . Plasticizer migration to the foods was evaluated after contact of one sliced piece of cheese and ham (10 g and 45.5  $\text{cm}^2$ ) with the film and stored into  $5\pm 1^\circ\text{C}$ . The analysis were realized on the first, fifth, tenth and fifteenth day. The plasticizer concentration was quantified by gas

chromatography with mass spectrometry (GC-MS) and mechanical tests realized using the Universal Materials Testing Machines (Instron). The plasticizers showed a larger migration tendency at temperature of 20°C. The plasticizer DEHA and DEHP had a larger migration for cheese than ham. The same did not occur with ATBC, which showed equivalent behavior among tested foods. The 95% ethanol and isooctane simulants showed higher plasticizer extraction when compared with water, therefore being indicated as food simulants for migration studies in cheese and ham. The migrated plasticizer concentrations ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) for the simulants, compared with the Specific Migration Limits (SML) showed that brazilian PVC film is not appropriate to use in contact with mozzarella cheese and ham, because, in spite of having presented migrated concentration of DEHP below regulated limits the migration of DEHA was higher than SML specified. The european PVC film showed all migration values according to the regulations and, therefore, is appropriate to use in contact with mozzarella cheese and ham. When the films were in contact with the foods the migrated plasticizer concentrations ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) were above SML, exceptions to DEHP in the brazilian film, when in contact with cheese and ham, and to DEHA in european film in contact with ham. It was observed changes in mechanical proprieties of the PVC films after contact with the simulants and the foods. PVC films showed increasing in tensile strength at break values and decreasing in elongation at break values in most of the appraised cases. The mechanical changes were more accentuated when the films were in contact with 95% ethanol and isooctane, due to large losses of plasticizer to these simulants. Therefore, it can be concluded that the migration of plasticizers for the food occurred in most cases, above to SML, contributing to the ingestions of these additives by consumers. Furthermore, occurred alterations in the mechanical propriety of the films throughout the storage period when in contact with foods.

# **1. INTRODUÇÃO**

As embalagens de alimentos, dentre suas funções, visam proteger o produto da contaminação externa, porém, a possibilidade de que ocorra contaminação do produto por constituintes da própria embalagem não pode ser negligenciada, principalmente por estar diretamente relacionada com a saúde humana considerando a segurança alimentar e a qualidade dos alimentos.

Existem legislações que regulamentam os materiais que podem ser utilizados na produção de embalagens e equipamentos que estarão em contato direto com produtos alimentícios e também os aditivos que podem ser adicionados a estes materiais, assim como, suas concentrações e seus limites de migração permitidos de forma a não afetar a saúde do consumidor.

Estas regulamentações estão descritas na Resolução 105 de 19 de maio de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O Brasil faz parte do Grupo do Mercado Comum (GMC) – MERCOSUL – e tem suas legislações internalizadas. A Resolução GMC N° 50/01, entre outros aspectos, também trata da lista positiva de aditivos para materiais plásticos que podem entrar em contato com alimentos. Nestas Resoluções consta que para possíveis complementações que sejam necessárias, se deve recorrer às legislações da Comunidade Européia, ao FDA (Food and Drug Administration) e em casos excepcionais pode-se também consultar outras legislações devidamente reconhecidas.

As últimas décadas têm sido marcadas pelo uso crescente de materiais poliméricos, principalmente plásticos, para embalar alimentos. Dentre estes pode-se destacar o poli(cloreto de vinila) (PVC) um polímero muito versátil

por ser compatível com vários plastificantes mantendo suas propriedades físicas e químicas estáveis por longo período de tempo (Midio e Martins, 2000).

O uso de embalagens de PVC tem se distribuído como sendo 28% em aplicações em alimentos, 31% na área médica e 41% em outros setores (Goulas et al., 2000). O PVC na forma de filme é amplamente utilizado para embalar frutas, legumes, carnes, queijos ...

Os plastificantes são adicionados à formulação de um polímero para reduzir a dureza no produto acabado, alterando fortemente seu comportamento mecânico. Dentre os plastificantes mais utilizados pode-se citar: ftalatos e, dentre eles, o ftalato de di-(2-etil-hexila) (DEHP) aplicado na maioria das formulações do PVC plastificado, os adipatos (diéster alifático), sendo o mais usado o adipato de di-(2-etil-hexila) (DEHA), também presentes em grande quantidade nos filmes de PVC e, os citratos, que têm seu uso restrito devido ao custo elevado; um plastificante muito conhecido desta família é o citrato de acetil-tribulila (ATBC) (Fankhauser-Not e Grob, 2006; Rodolfo et al. 2002).

A possibilidade de que haja migração decorrente do contato da embalagem com os alimentos pode afetar tanto a estabilidade do alimento quanto a estabilidade da embalagem. A migração de compostos da embalagem pode comprometer a resistência química e mecânica do material e também acarretar conseqüências toxicológicas ao consumidor.

Muitos dos aditivos utilizados em materiais de embalagem podem apresentar potencial carcinogênico, segundo indicam estudos epidemiológicos, podendo comprometer a segurança do consumidor (Nutti et al., 2005; Marcilla et al., 2004). Dentre os plastificantes comumente utilizados em embalagem o estearato de butila, citrato de acetil-tribulila, sebacato de alquila e adipatos apresentam baixa toxicidade, já os ftalatos têm seu potencial carcinogênico e histogênico mais acentuado (Lau e Wong, 2000).

Para que seja garantida a segurança no consumo do alimento, deve-se conhecer todos os compostos presentes no alimento bem como a concentração de cada um deles, que pode ser determinada por meio de análises químicas.

Assim, a identificação e quantificação destes componentes têm sido uma preocupação constante da comunidade científica.

A espectrometria de massa é uma técnica analítica eficiente para identificar e quantificar moléculas além de elucidar suas propriedades químicas e estruturais, e quando acoplada à cromatografia gasosa, resulta em um equipamento potente que permite obter resultados de identificação e quantificação dos compostos de forma segura (Romero, 2005).

Estudos de migração dos compostos presentes nas embalagens plásticas para os alimentos podem ser realizados utilizando simulantes de alimentos, devido à complexidade destes. As análises de migração de componentes de materiais poliméricos são regulamentadas pela ANVISA (Resolução 105/99) e pela Comunidade Européia (Diretivas 2005/79, 2002/72, 82/711 e 85/572).

Os ensaios de migração, regulamentados, podem não ser adequados para avaliar a forma real como as embalagens vêm sendo utilizadas no contato com os alimentos, principalmente em usos domésticos. Posto que as embalagens são desenvolvidas para uma utilização previamente determinada, uma embalagem que é ótima para um produto pode não ser adequada para outro.

Estudos mostram que a migração de aditivos de materiais plásticos merece atenção no campo da pesquisa, principalmente, pelo fato dos aditivos causarem malefícios ao organismo humano (Al-Khatim e Al-Hachim, 2001).

Devido a diferentes características do PVC, como versatilidade, participação em vários segmentos de mercado e por ser um polímero adicionado de uma grande variedade e diferentes concentrações de aditivos, é de fundamental importância dar continuidade às pesquisas para avaliar a sua utilização no ramo alimentício, a fim de garantir a segurança do consumidor.

Assim este trabalho teve por finalidade avaliar a migração dos plastificantes ftalato de di-(2-etil-hexila) (DEHP), adipato de di-(2-etil-hexila) (DEHA) e citrato de acetil-tribulila (ATBC) utilizados na produção de filmes de poli(cloreto de vinila) (PVC), para estarem em contato com alimentos. E, como objetivos específicos:

1 – Identificar a presença dos plastificantes DEHP, DEHA e ATBC em filmes comerciais de PVC presentes no mercado brasileiro e europeu.

2 – Identificar e quantificar a migração dos plastificantes dos filmes em contato com simulantes de alimentos (água e simulante gorduroso) estocados a temperatura ambiente (20°C) e sob refrigeração (5°C), por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS).

3 – Identificar e quantificar a migração dos plastificantes dos filmes em contato com queijo mussarela e presunto, estocados sob refrigeração (5°C), por GC-MS.

4 – Avaliar as características mecânicas dos filmes antes e após seu contato com os simulantes e alimentos.



## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## **2.1. Conservação de Alimento – embalagem**

A qualidade dos produtos alimentícios depende diretamente de fatores de natureza química, física e biológica que atuam sobre o alimento durante o período de tempo entre sua produção e seu consumo. Para que o alimento permaneça em condições adequadas muitas formas de conservação são utilizadas, seja isoladamente ou combinadas, como tratamento térmico, refrigeração, radiação, adição de aditivos e embalagens (Midio e Martins, 2000).

Uma das principais funções das embalagens é atuar como uma barreira de proteção com o ambiente, evitando contaminações, manuseio inadequado, falta de higiene e perda das características próprias do produto, entregando ao consumidor um alimento com qualidade (Azeredo et al., 2004; Midio e Martins, 2000).

Segundo Azeredo et al. (2004), é importante considerar as características e requerimentos do sistema produto/embalagem/ambiente como um todo, para planejar a embalagem de um produto. É necessário considerar fatores como as alterações as quais o produto está mais susceptível, devido as suas características específicas e os fatores ambientais que afetam estas alterações, além das propriedades de transferência de massa do material às quais o produto será exposto.

Os materiais a serem utilizados na fabricação de embalagens plásticas que entrarão em contato com alimentos devem fazer parte de uma lista

positiva especificada na Resolução 105/99 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e também pela GMC 50/01 - MERCOSUL, Diretivas 2005/79 e 2002/72 da Comunidade Europeia e CFR 21 - FDA, assim como, os aditivos que podem ser adicionados nestes materiais, suas concentrações e seus limites de migração.

O contato das embalagens com o produto pode representar riscos para o consumidor devido a possibilidade de permeação de componentes indesejáveis e/ou a migração de constituintes da própria embalagem em concentrações acima dos limites permitidos.

Vários compostos provenientes do ambiente interno ou externo podem ser transportados através de polímeros, resultando em alterações contínuas e gradativas da qualidade do produto. Assim como pode haver interação direta do polímero com o alimento, como no caso de compostos de baixo peso molecular presentes na estrutura polimérica que migra para o produto, afetando sua segurança e qualidade (Azeredo et al., 2004).

Não somente a embalagem deve ser considerada quando seu propósito é estar em contato direto com um produto alimentício, visto que a composição do alimento também interfere na migração dos componentes presentes na embalagem. Portanto, a composição do alimento para o qual a embalagem está sendo desenvolvida deve ser levado em consideração (Melo, 2003).

Para que seja garantida a segurança do alimento, deve-se conhecer quais substâncias e sua concentração presente no alimento, através de análises químicas. Nos recentes anos a identificação e quantificação destes componentes tem sido uma preocupação importante (Lehotay e Hajslová, 2002).

## **2.2. Embalagens Plásticas de Alimentos**

As últimas décadas têm sido marcadas pelo uso crescente de materiais poliméricos, principalmente plásticos, para embalagem de alimentos. Isso se

deve, especialmente, a fatores mercadológicos, como transparência, leveza, resistência a quebras, versatilidade de formatos e de sistemas de fechamento. Além disso, os custos altamente competitivos tornam os plásticos extremamente atraentes para os produtores e usuários de embalagens (Azeredo et al., 2004).

Os polímeros podem ser divididos em dois grandes grupos, os termofixos e os termoplásticos. A maioria das embalagens, destinadas ao acondicionamento de alimentos, são produzidas com resinas termoplásticas, resinas que possuem a capacidade de amolecer e fluir tantas quantas vezes for submetido a um aumento de temperatura e pressão (Canevarolo Jr., 2002). Estas resinas podem ser transformadas por processos termomecânicos, dos quais os mais representativos são: extrusão, injeção, sopro e termoformação. Entre os termoplásticos mais usados para embalar alimentos encontram-se o polietileno, polipropileno, poliestireno, poli(cloreto de vinila) e poli(tereftalato de etileno) (Midio e Martins, 2000).

Muitos materiais plásticos recebem a adição de aditivos para aumentar sua vida útil, eliminar ou fornecer características às suas propriedades e também de coadjuvantes de processo que contribuem de forma a melhorar o processamento do material. Em geral, estes compostos são incorporados no processo de fabricação da resina para uma homogeneização mais perfeita do material e para que suas propriedades sejam mais constantes. Por exemplo, o PVC necessita ser adicionado de aditivos devido a sua baixa estabilidade térmica e alta viscosidade à fusão. Os aditivos usados na fabricação dos plásticos e os coadjuvantes de processo constituem-se em uma enorme classe que inclui: lubrificantes, catalisadores, solventes – coadjuvantes de processo - estabilizantes, antioxidantes, corantes e pigmentos, inibidores, aceleradores, antiestáticos, agentes anti-espumantes, fungicidas e plastificantes – aditivos - (Midio e Martins, 2000).

Os plastificantes comerciais são, de maneira geral, líquidos, inodoros, incolores, insolúveis em água e de baixa volatilização (Rodolfo et al., 2002), de baixo peso molecular e baixa temperatura de transição vítrea (Tg)

(Canevarolo, 2002). São adicionados à formulação de um polímero para reduzir a dureza no produto acabado, alterando fortemente seu comportamento mecânico (Canevarolo, 2002). Segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry ou União Internacional de Química Pura e Aplicada) plastificante é definido como “substância incorporada ao plástico ou elastômeros com a finalidade de aumentar sua flexibilidade, processabilidade ou capacidade de alongamento. Um plastificante pode reduzir a viscosidade do fundido, abaixar sua temperatura de transição de segunda ordem (temperatura de transição vítrea - Tg) ou diminuir seu módulo de elasticidade”.

Os plastificantes atuam enfraquecendo as forças de atração entre as moléculas, facilitando o deslizamento entre elas, através de redução das ligações polímero-polímero e criação das interações polímero-plastificante (Midio e Martins, 2000).

São características desejáveis aos plastificantes: baixa inflamabilidade, baixa toxicidade, ausência de sabor, odor e cor, baixa migração, alta resistência térmica e aos raios UV, boas características de processamentos e baixo custo. Algumas características podem ser essenciais dependendo da aplicação do material, por exemplo, para a produção de embalagens para alimentos é essencial que o aditivo seja atóxico e não possua cor, sabor e odor (Rodolfo et al., 2002).

Dentre os plastificantes mais utilizados e suas aplicações pode-se citar (Fankhauser-Noti e Grob, 2006; Rodolfo et al. 2002):

- Ftalatos – Constituem a classe dos plastificantes mais usados para combinações com resinas vinílicas. São largamente empregados em função de seu baixo custo e das boas propriedades conferidas ao produto acabado. Desta classe, o DOP (ftalato de di-octil) também conhecido como DEHP (ftalato de di-(2-etil-hexila)) (Figura 1), é o mais usado no mundo e é aplicado na maioria das formulações do PVC. É utilizado em bolsa de sangue, materiais médicos, simuladores de tecidos humanos, embalagens, brinquedos, calçados, tubos e perfis, etc. O DEHP representa mais de 50% do total de plastificantes produzidos no mundo. Em PVC plastificado de 20 a 40% da massa pode ser

de DEHP (Shea, 2003). Seu Limite de Migração Específico (LME) segundo a União Européia, fonte indicada para consulta segundo a ANVISA, é de  $3\text{mg.kg}^{-1}$  equivalente a  $0,5\text{ mg.dm}^{-2}$ .

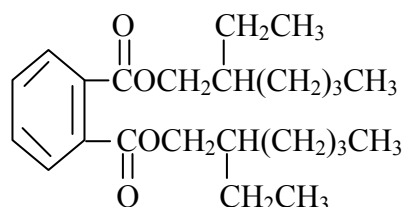


Figura 1: Estrutura química do DEHP

- Adipatos (Diéster alifático) – São especialmente indicados quando se deseja a manutenção da flexibilidade do produto em baixas temperaturas. O plastificante mais conhecido desta família é o DOA (adipato de di-octila) também conhecido como DEHA (adipato de di-(2-etil-hexila)) (Figura 2). Tem como desvantagem uma alta volatilidade e baixa resistência à extração. Entre outras aplicações é utilizado em filmes esticáveis para embalagem. Segundo Goulas et al. (2000) a concentração deste plastificante chega a exceder 20% do peso do polímero de PVC em filmes deste. Seu Limite de Migração Específico (LME) segundo a União Européia, fonte indicada para consulta segundo a ANVISA, é de  $18\text{ mg.kg}^{-1}$  equivalente a  $3\text{ mg.dm}^{-2}$ .

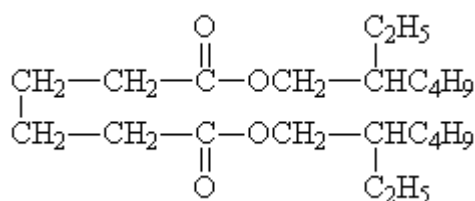


Figura 2: Estrutura química do DEHA

- Citratos – Têm seu uso restrito devido ao seu custo elevado. Esta classe de plastificante é bastante indicada para ser utilizada na área médica por serem considerados produtos naturais. O plastificante mais conhecido desta família é o ATBC (citrato de acetil-tribulila) (Figura 3), resultante da

esterificação do ácido cítrico. Até pouco tempo o ATBC, por ser considerado como um ingrediente do alimento, era classificado como aditivo pelo FDA (Robertson, 1993) e não apresentava limites de migração como ainda descrito por Zygoura et al. (2007), porém este conceito foi alterado e seu limite de migração já se encontra em literaturas como descrito por Fankhauser-Neti e Grob (2006). Segundo Robertson (1993), alguns copolímeros de PVC e PVdC são plastificados com 5% de ATBC para uso em microondas. Goulas et al. (2000) também citam a utilização deste plastificante em filmes de PVC. Seu Limite de Migração Específico (LME) segundo a Sinopse Documental de 2005 da Comissão Europeia, fonte indicada para consulta segundo a ANVISA, é de  $5\text{mg.kg}^{-1}$  equivalente a  $0,83\text{ mg.dm}^{-2}$ .

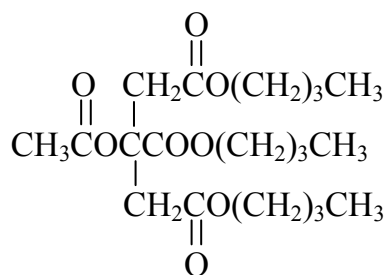


Figura 3: Estrutura química do ATBC

### 2.3. Poli(cloreto de vinila) - PVC

PVC é um polímero, ou seja, uma macromolécula formada a partir de monômeros de cloreto de vinila (MCV) (Figura 4) (Canevarolo, 2002). É uma cadeia polihalogenada com átomos de cloro ligados covalentemente a átomos de carbono. Apresentam-se com muitas ligações dipolo-dipolo ao longo da cadeia ocasionando fortes interações e conseqüente rigidez do material polimérico. Aditivos, como os plastificantes quebram estas interações dipolares permitindo uma maior mobilidade e flexibilidade do material. O PVC plastificado tem grande aplicação em produtos médicos, materiais de embalagem e produtos para crianças (Vinhas et al., 2003).

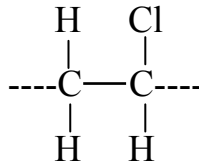


Figura 4: Estrutura química do Monômero Cloreto de Vinila

Segundo Rodolfo et al. (2002) o PVC teve sua primeira ocorrência em 1915 e sua primeira produção industrial nos anos 20, nos Estados Unidos e em 1954, no Brasil. A produção do PVC tem como matéria-prima a hulha (carvão mineral) que submetido a uma destilação seca produz gases de hulha, amônia, alcatrão da hulha e coque (resíduo), nesta ordem de saída. Do coque obtém-se o acetileno (via reação com CaO e a seguir com a água), que por reação com ácido clorídrico produz o mono cloreto de vinila (MCV) então são polimerizados formando o poli(cloreto de vinila) (PVC) (Canevarolo, 2002).

Classificação do polímero PVC segundo Canevarolo (2002):

A - Quanto à estrutura química

É um polímero apolar (Simal-Gándara, 2002) de cadeia carbônica clorado que apresenta boas propriedades mecânicas geradas pelas altas forças intermoleculares devido a polaridade do átomo de cloro. O aumento de um para dois átomos de cloro no monômero, que polimerizado formará o poli(cloreto de vinilideno – PVdC), aumenta as forças intermoleculares, tornando-o uma excelente barreira a gases e vapores.

B – Quanto ao método de preparação

Polímero de adição – Em sua formação não há perdas de compostos de baixo peso molecular.

C – Quanto ao comportamento mecânico

Plástico termoplástico. Possui cadeia linear, é solúvel e reciclável.



#### D – Quanto ao desempenho mecânico

É um termoplástico convencional – Polímero de baixo custo, baixo nível de exigência mecânica, alta produção, facilidade de processamento, etc.

Apresenta uma cristalinidade nominal de 15%, sendo considerado um polímero semicristalino. O PVC plastificado é amorfo (Canevarolo, 2002).

Este polímero apresenta valores de Tg (temperatura de transição vítrea) e Tm (temperatura de fusão cristalina) de 80 a 87 e 212°C respectivamente. A adição de plastificante reduz o valor de Tg chegando, por exemplo, a -30°C se 50% de DEHP (m/m) for adicionado (Canevarolo, 2002).

Segundo Rodolfo et al. (2002), o PVC é uma resina atóxica e inerte, a escolha de aditivos com essas mesmas características permitem a fabricação de filmes, lacres e laminados para embalagens, brinquedos e acessórios médico-hospitalares, tais como mangueiras para sorologia e cateteres.

O PVC rígido (PVC não plastificado) possui estabilidade dimensional, é transparente, brilhante, satisfatoriamente impermeável a gases e não é inflamável (Midio e Martins, 2000), têm excelente resistência a óleos, gorduras e graxas além de resistência a ácidos e álcoois (Robertson, 1993). Entretanto, é frágil e apresenta baixa resistência a variações de temperatura. Necessita de estabilizantes térmicos para evitar o envelhecimento. É muito usado para elaboração de embalagens moldadas a sopro para água mineral, óleo, vinagre e outros e em tubulações industriais (Midio e Martins, 2000).

O PVC é um polímero muito versátil sendo compatível com vários plastificantes, permitindo a obtenção de compostos com um amplo espectro de propriedades mecânicas, utilizando-se a mesma resina base e mantendo suas propriedades físicas e químicas estáveis por longo período de tempo (Canevarolo, 2002; Midio e Martins, 2000; Rodriguez, 1989).

O PVC na forma de filme é amplamente utilizado para embalagem, principalmente de frutas, carnes e legumes. Outra aplicação do PVC flexível é na fabricação de elementos vedantes para tampas metálicas e plásticas, além de seu uso em correias transportadoras de alimentos (Midio e Martins, 2000).

O plastificante a ser utilizado deve considerar fatores como custo, cor, odor, sabor, biodegradabilidade, temperatura de estabilidade, resistência à migração, potencial toxicológico para ter sua aplicação aprovada (Rodriguez, 1989).

Dentre as principais aplicações do PVC no Brasil, 5% está relacionada ao setor de embalagens. Neste seguimento a versatilidade do PVC se mostra em filmes esticáveis e encolhíveis, além de frascos soprados nos mais diversos tamanhos e formatos (Rodolfo et al., 2002).

Dos materiais plásticos utilizados na área médica 30% são PVC. Dos brinquedos produzidos 80% são plásticos e destes 30% são de PVC (Instituto do PVC, 2006).

O uso de embalagens de PVC tem se distribuído como sendo 28% em aplicações em alimentos, 31% na área médica e 41% em outros setores (Goulas et al., 2000).

Segundo o Instituto do PVC (2006) espera-se um crescimento em 6% na produção de PVC no Brasil para o ano de 2007. No setor de embalagem o consumo de PVC cresceu em 8,6% de janeiro a setembro de 2006 (Haberli et al., 2006).

#### **2.4. Interação Alimento-Embalagem: Migração**

Em um sistema alimento-embalagem-ambiente, os processos de transferência de massa são descritos como interações alimento-embalagem (Figura 5) e segundo Gnanasekharan e Floros (1997) estas interações são classificadas em três categorias:

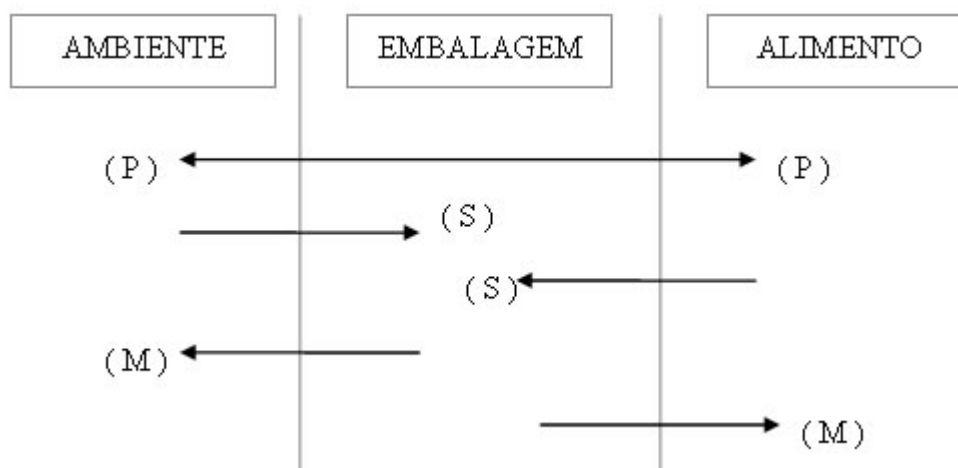


Figura 5: Interação Alimento-embalagem. P: permeação; S: sorção; M: migração.

- Migração: É a transferência de moléculas originalmente presentes no material de embalagem para o alimento ou ambiente;
- Sorção: Consiste na absorção de componentes pelo material de embalagem;
- Permeação: É a transferência de compostos do produto para o ambiente ou vice-versa, através do material de embalagem.

A migração e a sorção são processos de difusão, enquanto a permeação é função da difusividade e da solubilidade do composto na embalagem.

A migração de aditivos ou contaminantes de materiais poliméricos, de embalagens para os alimentos, pode ser separada em três diferentes estágios, porém relacionados (Lau e Wong, 2000):

- Difusão pelo polímero: Estágio em que o composto se difunde pelo material polimérico. Neste estágio o coeficiente de difusão, a concentração no polímero, tempo de exposição, coordenada espacial da interface polímero-alimento, espessura do polímero e seu Tg são variáveis que interferem no processo.
- Solvatação: Estágio em que o soluto transfere-se para o alimento, a solvatação ocorre em maior eficiência quando o composto é mais solúvel no alimento que no polímero. O processo de solvatação é mais intenso em

alimentos gordurosos que os aquosos visto que a maioria dos aditivos e contaminantes são apolares (solúveis em gorduras).

- Dispersão: Etapa em que o soluto penetra, se mistura, com o alimento. Depende do coeficiente de difusão.

Vários componentes dos polímeros podem migrar para o alimento, principalmente, monômeros residuais do processo da fabricação e aditivos incorporados ao material. As conseqüências das interações alimento-embalagem são diversas. O sabor dos alimentos pode sofrer alterações em decorrência da permeação de compostos do ambiente através da embalagem, reações químicas da embalagem com o alimento e por migração de compostos da embalagem para o alimento. A migração de compostos da embalagem pode comprometer a resistência química e mecânica do material de embalagem além de poder acarretar conseqüências toxicológicas (Azeredo et al., 2004). No caso da migração a embalagem afeta a estabilidade do alimento assim como o alimento pode afetar a estabilidade da embalagem. As alterações resultantes de interações dentro do sistema levam à redução gradativa da qualidade do produto.

A migração de monômeros e aditivos de embalagens plásticas para os alimentos em contato depende das características físico-químicas do alimento, tais como pH, presença de óleos essenciais, porcentagem de lipídeos, teor alcoólico, etc. Outros fatores também influem significativamente na migração, como a temperatura e tempo de contato da embalagem com o alimento, relação superfície de contato/volume de alimento, espessura da embalagem plástica além das várias técnicas utilizadas no acondicionamento de alimentos (vácuo parcial, esterilização na própria embalagem, etc.) (Midio e Martins, 2000; Lau e Wong, 2000).

Dessa forma nas três últimas décadas a comunidade científica internacional tem voltado sua atenção para os aspectos toxicológicos decorrentes da utilização de materiais de síntese química nas embalagens para alimentos, surgindo a necessidade de estabelecer uma legislação específica para seu controle (Svensson, 2002).

No Brasil, testes para avaliar a compatibilidade de aditivos com material de embalagem bem como uma lista positiva de substâncias que podem ser empregadas na elaboração de embalagens para alimentos e seus limites de migração estão descritos na Resolução 105/99 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde. O limite de migração global para embalagens plásticas em alimentos é de  $50 \text{ mg.kg}^{-1}$  ou  $8 \text{ mg.dm}^{-2}$ , diferindo da União Européia que tem como valores  $60 \text{ mg.kg}^{-1}$  ou  $10 \text{ mg.dm}^{-2}$  (Resolução 105/99 ANVISA; 2005/79/CE; 2002/72/CE).

Devido à complexidade dos alimentos, estudos de migração podem ser realizados utilizando simulantes de alimentos como modelo (Simal-Gándara et al., 2002). Tabelas que regem as análises de migração de componentes de materiais poliméricos estão descritas também na Resolução 105/99 da ANVISA e nas Diretivas 2005/79, 2002/72, 82/711 e 85/572 da Comunidade Européia.

Sendo os plastificantes moléculas de baixo peso molecular e que na maioria das vezes não estão quimicamente ligados à cadeia polimérica, podem migrar facilmente para o produto acondicionado. Esta migração pode ocorrer quando a embalagem sofre abrasão, quando esta é colocada em solução ou quando o plastificante sofrer lenta evaporação (Robertson, 1993). Outra forma em que pode ocorrer migração do plastificante é pelo contato de um sistema plastificado e outro não plastificado (Rodriguez, 1989).

Freire et al. (2004), identificaram e quantificaram a presença de plastificantes em filmes de PVC. Eles encontraram DEHA em 53% dos filmes e DEHP em 47% na concentração de 4,7 - 17,8% m/m e 12,6 - 24,5% m/m em relação à resina, respectivamente. A legislação brasileira vigente permite o emprego do DEHA ainda sem um limite especificado mas o DEHP não deve exceder 3% (m/m) quando o teor de gordura alimentício é superior a 5% (Resolução 105/99, ANVISA).

Em 4 de setembro de 2004 o jornal Folha de São Paulo, no caderno Cotidiano, publicou uma reportagem com resultados apresentados pela Fiocruz constatando a presença de DEHP, um composto cancerígeno, que

pode migrar para alimentos gordurosos, em concentrações acima do permitido pela legislação em filme de PVC que se encontrava no mercado nacional. O produto teve sua venda proibida (Credendio, 2004).

Em 2001 foi identificada a contaminação de alimentos por DEHP presente em luvas de PVC usadas durante o preparo do alimento. As luvas continham de 22 a 41% (m/m) de DEHP. Frangos foram preparados por manipuladores que utilizavam as luvas de PVC e a quantificação do plastificante foi determinada no produto. No frango cru foi encontrado  $0,08\text{mg.kg}^{-1}$  do plastificante, após a fritura a concentração aumentou para  $13,1\text{mg.kg}^{-1}$  e após embalado para  $16,9\text{mg.kg}^{-1}$ . As luvas normalmente são higienizadas utilizando etanol 68%, por esse motivo foi também analisado produtos que estiveram em contato com luvas higienizadas. A utilização do etanol mostrou permitir maior migração do plastificante, como no caso do croquete que apresentou  $2,45\text{mg.kg}^{-1}$  de DEHP e apenas  $0,33\text{mg.kg}^{-1}$  quando manipulados com luvas não higienizadas (Tsumura et al. 2001).

O contato de brinquedos plásticos de PVC com a saliva permite migração de plastificante, Bouma e Schakel (2002) avaliaram 62 brinquedos em meio simulante de saliva humana e destes 47 continham plastificante. Os plastificantes mais encontrados foram DEHP e ftalato de di-isononila (DINP) em concentrações que variaram de 30 a 40% em massa. Um coçador de gengiva apresentou 45% em peso de DINP e 9,6% dos brinquedos continham excessiva concentração de DEHP. A migração em meio salivar excedeu a concentração permitida pelo Comitê Científico de toxicologia, ecotoxicidade e ambiente (SCTEE). Estes autores indicaram como substitutos para os ftalatos o ATBC, Citrato de tributila e o adipato de di-isononila.

Fouad et al. (1999) mostraram a influência do tempo e temperatura em seus experimentos de migração dos plastificantes DEHP e DINP utilizados em PVC com e sem a adição de estabilizantes térmicos tanto na resina, quanto em embalagens formadas. A análise foi realizada utilizando metodologia gravimétrica. Resinas (sem plastificantes) adicionadas de estabilizantes térmicos apresentaram 0,1% de perda de massa contra 0,257% sem

estabilizantes após 5 h de tratamento a 100°C. O PVC plastificado apresentou maior perda de massa que o não plastificado quando comparados em mesma temperatura. Com relação a variação de temperatura foi observado maior perda de massa com o aumento da temperatura, todas as amostras seguiram a mesma tendência. O PVC adicionado de DEHP apresentou maior perda de massa que o adicionado de DINP, isto pode ser explicado pelo DINP ser menos volátil e apresentar também o efeito de estabilizante. Também foi observado que quanto maior a concentração do plastificante maior a perda de massa.

Quando Fouad et al. (1999) analisaram o efeito de migração dos plastificantes imersos em meios simulantes de alimentos (água destilada, solução NaCl 1%, solução saturada de açúcar e solução n-butanol 10%) durante um mês, foi observado maior perda de massa no meio alcoólico e doce. A solução de açúcar saturada apresentou fermentação após 15 dias permitindo a formação de etanol e/ou ácido acético o que levou a um maior percentual de perda de massa; para este resultado atribuiu o fato destes plastificantes serem altamente solúveis em álcool. As amostras adicionadas de DEHP apresentaram maior perda de massa, enquanto que o DINP, por apresentar maior massa molecular, mostrou maior dificuldade para se liberar do polímero. A espessura afetou inversamente a perda de peso. Como já mencionado, os plastificantes interferem nas propriedades mecânicas, assim, foi observado um decréscimo na porcentagem de alongamento e aumento na força de tensão comparando as amostras antes e após imersão no meio simulante. Estes autores realizaram análises de infravermelho (IR) para confirmar a presença dos compostos nos meios simulantes e identificaram os plastificantes em todos os simulantes, a presença de álcool na solução de açúcar e de traço de PVC ou MCV na solução de etanol. Segundo estes pesquisadores, apesar do DINP ter um custo mais elevado, ele apresenta maior estabilidade à migração sendo, portanto, mais indicado seu uso ao DEHP.

Goulas et al. (2000) avaliaram a migração de DEHA de filme de PVC contendo 28,3% (m/m) deste plastificante em três tipos de queijos (Kefalotyri,

Edam e Feta). As amostras foram envolvidas com o filme e armazenadas a 5°C por 10 dias. Foi reportada uma migração de 345,4 mg.kg<sup>-1</sup> (18,9 mg.dm<sup>-2</sup>) para Kefalotyri, 222,5 mg.kg<sup>-1</sup> (12,2 mg.dm<sup>-2</sup>) para Edam e 133,9 mg.kg<sup>-1</sup> (7,3 mg.dm<sup>-2</sup>) para Feta, sendo uma perda de 37,8; 24,3 e 14,6% de DEHA para cada queijo, respectivamente. O solvente utilizado para extração do plastificante foi basicamente hexano e metanol. Esta diferença de migração está relacionada com as características do produto. Os queijos Kefalotyri, Edam e Feta apresentaram concentrações de gordura de 30, 23 e 19% e umidade de 38, 43 e 56%, respectivamente. Estes resultados estão coerentes com as propriedades lipofílicas entre o DEHA e os queijos. Os valores alcançados excederam o valor limite de migração de DEHA em alimentos e simulantes segundo a União Européia (UE) que é de 18 mg.kg<sup>-1</sup>, e também excedem o limite de migração global de materiais de embalagem plástica para alimentos e simulantes que é de 60 mg.kg<sup>-1</sup> ou 10 mg.dm<sup>-2</sup>. A única exceção foi para o queijo Feta (7,3 mg.dm<sup>-2</sup>). Quanto à profundidade de migração foi detectado a presença de DEHA em 3,6 mm de Edam, 2,4 mm de Feta e Kefatotyri. Eles mostraram também que um banho de parafina no queijo impede a migração do plastificante.

A presença de gordura em queijo acelera o processo de migração do DEHA adiconado PVC, quanto maior a concentração de gordura maior a migração (Lau e Wong, 2000).

Petersen e Naamansen (1998), avaliaram a migração de DEHA de filme de PVC embalando carne de porco com concentrações diferenciadas de gordura, variando temperatura e processo de reembalagem. Estes autores utilizaram acetona e pentano como solventes de extração. Foi verificado um aumento de migração com o aumento da concentração de gordura e maiores temperaturas de estocagem. O processo de reembalagem permitiu que fosse encontrado o dobro do valor de DEHA no produto. A carne contendo maior teor de gordura (18 – 20%) apresentou 20 mg.kg<sup>-1</sup> de DEHA, após reembalado 40 mg.kg<sup>-1</sup> e sendo estocado a 65°C por 24h a migração alcançou 100mg.kg<sup>-1</sup>, valores maiores que o permitido pela UE (18 mg.kg<sup>-1</sup> DEHA).



Ao avaliar pizza e salsicha submetidas ao aquecimento convencional e em microondas quanto à migração de DEHA e ATBC presentes em filmes PVC e poli(cloreto de vinilideno/cloreto de vinila) (P[VDC/VC] ou PVdC), respectivamente, utilizados para embalar tais produtos, Badeka et al. (1999) observaram uma migração de DEHA de 105,12 mg.kg<sup>-1</sup> e 85,01 mg.kg<sup>-1</sup>, para aquecimento convencional; 75,5 mg.kg<sup>-1</sup> e 47,69 mg.kg<sup>-1</sup> para aquecimento em microondas com concentradores de calor e 51,42 mg.kg<sup>-1</sup> e 37,98 mg.kg<sup>-1</sup> para aquecimento em microondas sem concentradores de calor para pizza e salsicha, respectivamente. A maior migração do DEHA para pizza pode ser explicada pelo contato direto do filme com o queijo contido na superfície da pizza, uma vez que o DEHA é lipossolúvel e esta região de contato apresentar um maior teor de gordura. A diferença de concentração na migração do DEHA entre os tratamentos forno convencional e microondas foi relacionada com a temperatura alcançada ao final de cada tratamento sendo 85, 90 e 99°C para os tratamentos em microondas sem concentradores de calor, com concentradores de calor e convencional, respectivamente. É interessante ressaltar que a amostra controle (alimento embalado e armazenado, sem sofrer aquecimento) houve uma detecção de migração de 9,1mg.kg<sup>-1</sup> e 3,1 mg.kg<sup>-1</sup> para a pizza e a salsicha, respectivamente. A migração de ATBC mostrou o mesmo comportamento que o DEHA, sendo 31,18 mg.kg<sup>-1</sup> e 25,37 mg.kg<sup>-1</sup> para aquecimento convencional; 7,73 mg.kg<sup>-1</sup> e 7,02 mg.kg<sup>-1</sup> para aquecimento em microondas com concentradores de calor e 6,25 mg.kg<sup>-1</sup> e 5,17 mg.kg<sup>-1</sup> para aquecimento em microondas sem concentradores de calor, para pizza e salsicha, respectivamente. Porém, neste caso não foi identificada migração nas amostras controle negativo.

Tsumura et al. (2003) avaliaram a presença de vários plastificantes (a ex: DEHP, DEHA, DINP, DINA e ATBC) em 63 amostras de dietas hospitalares, devido ao uso de luvas de PVC pelos manipuladores. Mediante resultados alcançados o ATBC se mostrou um plastificante seguro merecendo maiores estudos.

Muitos dos aditivos utilizados em materiais de embalagem podem apresentar potencial carcinogênico, segundo indicam estudos epidemiológicos, podendo comprometer a segurança do consumidor (Nutti et al., 2005; Marcilla et al., 2004). Dentre os plastificantes comumente utilizados em embalagem o estearato de butila, citrato de acetil-tribulila, sebacato de alquila e adipatos apresentam baixa toxicidade, já os ftalatos têm seu potencial carcinogênico e histogênico mais acentuado (Lau e Wong, 2000).

## **2.5. Toxicidade dos plastificantes**

Plastificantes como os ftalatos, adipatos e citratos são comumente utilizados na manufatura de PVC seja para uso em embalagens de alimentos, em produtos médicos, artigos infantis entre outras utilidades. Em consequência dos casos de migração destes componentes, estudos de toxicidade destes têm sido realizados (Azeredo et al., 2004; Cano et al., 2002; Lau e Wong, 2000).

Dentre os plastificantes, o ftalato de di-(2-etil-hexila) (DEHP) é o composto mais conhecido e estudado do ponto de vista toxicológico (Midio e Martins, 2000). Tem sido encontrado por toda parte no ambiente sendo considerado um contaminante ubiqüitário (Latini et al, 2004). Sua toxicidade aguda é muito baixa tendo sido considerado seguro por longo tempo. No entanto, na década de 80, com a realização de testes crônicos de toxicidade foi notado que sua administração oral pode causar tumores no fígado, além de toxicidade no sistema reprodutivo com atrofia testicular, afetar órgãos como cérebro, rins e pulmão de ratos e camundongos (Voss et al., 2005; Dhanya et al., 2003).

Ratos alimentados com 300 mg.kg<sup>-1</sup> corpóreo/dia de DEHP, durante um período médio de três anos apresentaram um aumento na incidência de tumores no fígado e testículos e quando era administrado doses mais elevadas

durante um período maior de tempo, foi observado um aumento na atrofia testicular dos ratos machos (Voss et al., 2005).

Magliozzi et al. (2003) relataram o efeito toxicológico do DEHP em camundongos com dois dias de vida, idade que se aproxima de 24 a 36 semanas de fetos humanos onde as gestantes receberam tratamento oral com DEHP durante a última semana de gestação. O pulmão foi analisado e apresentou relevante diminuição no número e na taxa superfície-volume do espaço aéreo paraquermal, juntamente com a diminuição do tamanho da sua estrutura; conseqüente redução de 50% da superfície de trocas gasosas e aumento numérico e dimensional de pneumócitos do tipo II. Estes resultados se assemelharam com o diagnóstico dado a doenças pulmonares crônicas detectadas em crianças. Contudo as vias metabólicas diferem de espécie para espécie o que pode alterar os efeitos descritos em camundongos quando se trata da espécie humana, mas é concebível que o pulmão humano seja sensível ao plastificante necessitando de maiores estudos para determinar o perigo da utilização deste.

O metabolismo das crianças difere do metabolismo dos adultos, sendo as crianças mais sensíveis aos efeitos causados pelo DEHP. Sua contaminação oral pode ocorrer pela ingestão de leite materno, alimentos infantis armazenados em embalagens que migrem o plastificante, migração do composto existente em brinquedos, utilização de tubulações médicas (Latini et al. 2004). Foi observado também a presença de DEHP e ftalato de mono-(2-etil -hexila) (MEHP), metabólito resultante da degradação do DEHP, em plasma materno, no cordão umbilical (Latini et al. 2003), além da capacidade do DEHP de atravessar a parede placentária (Magliozzi et al., 2003).

Koch et al.(2004) observaram em uma creche que a presença de metabólitos do DEHP na urina de adultos foi menor que na urina de crianças, com valores de 59,1 e 90,9  $\mu\text{g.L}^{-1}$  respectivamente, onde todos tinham sido submetidos as mesmas condições de análise. O resultado foi atribuído não somente à diferença de peso corporal, mas também aos mecanismos diferenciados de detoxificação do organismo.

Outro grande grupo de risco quanto a intoxicação com DEHP são pacientes de hemodálises, pois estes pacientes são expostos por longo tempo aos tubos de PVC que apresentam em torno de 40% deste plastificante. Tem sido detectado a presença de DEHP no plasma destes pacientes (Wahl et al., 1999). Wahl et al. (2004) avaliaram a presença do metabólito 4-heptanone proveniente do DEHP e detectou sua presença no plasma de pacientes de hemodálises, sendo  $95,9 \mu\text{g.L}^{-1}$  contra  $10,4 \mu\text{g.L}^{-1}$  nos pacientes controles, nos pacientes diabéticos não foi encontrado diferença quando comparado com os controles.

Dhanya et al. (2003), ministraram  $750 \mu\text{g}/100\text{g}$  de peso corpóreo de DEHP para ratos. Testes histopatológicos do cérebro revelaram áreas degeneradas, houve inibição significativa da atividade da membrana  $\text{Na}^{(+)}\text{-K}^{+}$  ATPase do fígado e do cérebro. Foi observado também que o efeito era reversível quando a dose administrada era suspensa.

Considerando a reversibilidade, o problema de intoxicação por transfusão é minimizado, porém em pacientes expostos por longo tempo, como os de talcemia e hemodálise, o risco é preocupante.

Devido aos efeitos toxicológicos do DEHP estudos de plastificantes alternativos têm sido realizados.

Devido a semelhança da estrutura química do DEHP e DEHA e de seus metabólitos, tem-se a suspeita de toxicidade do DEHA (Borch et al., 2005; Dalgaard et al., 2003). Estes plastificantes apresentam um metabólito comum, o 2-etil-hexanol (2-EH) e os pesquisadores Hellwig et al. (1997), citado por Borch et al. (2005), têm a hipótese de que este metabólito pode estar relacionado a alguns aspectos quanto a toxicidade reprodutiva. Eles obtiveram um resultado de potencialização do efeito tóxico alcançado em seus estudos quando combinaram DEHP e DEHA, porém nenhum efeito tóxico foi detectado quando o DEHA foi ministrado separadamente. Já nos experimentos conduzidos por Borch et al. (2004 e 2005) não houve diferença nos resultados alcançados nos tratamentos com DEHP ( $750 \text{mg.kg}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ ) e combinados com DEHA ( $750$  e  $400 \text{mg.kg}^{-1}.\text{dia}^{-1}$  de DEHP e DEHA, respectivamente). Nos

experimentos de 2004 o plastificante DINP também foi avaliado tendo resultado semelhante os de DEHP e DEHA.

O plastificante DEHA causou alguns efeitos em ratos Wistar como prolongamento do período de gestação, diminuição do peso corporal dos filhotes, quando as ratas prenhas foram alimentadas com 800mg/kg/dia de DEHA, mas nenhum efeito no sistema reprodutivo foi detectado como o que ocorre, com doses similares, com o DEHP (Dalgaard et al. 2003).

Mediante resultados alcançados não se deve negligenciar a possibilidade tóxica do DEHA.

Poucos dados têm sido mostrados quanto à possibilidade de toxicidade do ATBC. O plastificante ATBC tem sido indicado como alternativa para substituir o DEHP já sendo usado em poli(cloreto de vinilideno) (PVdC), acetato de celulose (Okita e Okita, 1992). Estes autores avaliaram a presença de DEHA, DEHP e ATBC em ratos quanto a alterações genéticas do fígado e foi observado alteração quanto ao tamanho de algumas proteínas sendo encontrado um aumento de 6 – 12 kDa nos ratos tratados com DEHA e DEHP e apenas 2 kDa nos ratos tratados com ATBC.

David et al. (2001) observaram diferença na resposta a ingestão de DEHP em ratos e camundongos. A reversibilidade de efeitos crônicos como contagem de eritrócitos e hemoglobina ocorreu apenas em ratos fêmeas. Enquanto a variação de peso do fígado e rins foram reversíveis em ratos e camundongos. Estes resultados sugeriram que o efeito de reversibilidade está relacionado com o metabolismo diferenciado dos organismos.

Pugh et al. (2000), trataram macacos por 14 dias com altas doses de ftalatos. Um grupo recebeu 500 mg/kg/dia de DINP e outro grupo DEHP. Em nenhum dos tratamentos foi observado efeito sobre aumento de peso do fígado destes animais. Os resultados dos exames histopatológicos dos tecidos do fígado, rins e testículos não diferiram do grupo controle assim como nenhuma alteração foi detectada na replicagem de DNA. Nenhuma alteração toxicológica importante foi observada em análises urinária e hematológica. Com a ausência observada de efeito hepático em macacos em doses que

causam efeito em roedores sugere que o DINP e o DEHP também não causem câncer de fígado em primatas.

Diantes destes dados sugere-se que os roedores não são os animais mais adequados para predizer o efeito hepático de ftalatos em primatas, incluindo humanos (Shea, 2003)

Os estudos de revisão apresentados mostraram, que o problema de migração de aditivos de materiais plásticos merecem atenção no campo da pesquisa, principalmente por poderem causar efeitos maléficos ao organismo que a ingere (Al-Khatim e Al-Hachim, 2001).

Devido as suas características, tanto por sua versatilidade quanto pelos segmentos de mercado nos quais participa, é de fundamental importância dar continuidade às pesquisas para avaliar o uso e a composição das embalagens de PVC, a fim de garantir a segurança do consumidor com relação aos níveis toxicológicos dos plastificantes ingeridos devido à migração ocorrida destes para o alimento.

## **2.6. Ensaio de migração de materiais plásticos para alimentos**

As embalagens de alimentos têm como uma de suas funções proteger o produto da contaminação externa, mas como já descrito não se pode esquecer que a própria embalagem pode transferir substâncias para o alimento acondicionado.

A saúde humana, relacionada com a segurança e qualidade dos alimentos, é de suma importância e existem legislações que regulamentam as embalagens que entrarão em contato com o produto, estabelecendo os limites de migração permitidos de forma a não afetar a saúde do consumidor.

Estas regulamentações estão descritas na Resolução 105 de 19 de maio de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) onde também descreve que se deve recorrer à outras legislações como da Comunidade Européia para possíveis complementações que se possam fazer necessárias.

Como referência na Comunidade Européia temos as Diretivas 2005/79 de 18 de agosto de 2005 e 2002 / 72 de 6 de agosto de 2002, relativa aos materiais e objetos plásticos destinados a entrar em contato com produtos alimentícios; Sinopse documental da Comissão Européia de 2005 . ([http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/foodcontact/synoptic\\_doc\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/foodcontact/synoptic_doc_en.pdf)); Diretiva 82 / 711 de 18 de outubro de 1982 que estabelece as normas necessárias para a verificação da migração dos constituintes dos materiais e objetos de matéria plástica que entram em contato com os produtos alimentícios. Diretiva 85 / 572 de 19 de dezembro de 1985 que determina a lista de simulantes que devem ser utilizados para controlar a migração dos componentes dos materiais e objetos de material plástico destinados a entrar em contato com produtos alimentícios. As correlações tempo e temperatura a serem utilizadas nos ensaios de migração também estão descritos nas legislações.

Como são legislações de países distintos podem ocorrer pequenas diferenças de valores e definições, fatos que podem ser contornados assumindo os valores mais adequados, a exemplo, se existe diferença entre limites de migração utiliza-se o menor como referência.

As legislações controlam os monômeros plásticos e outras substâncias de duas formas. Em primeiro lugar somente podem entrar em contato com o alimento os materiais incluídos na lista e em segundo, quando necessário por razões toxicológicas existem restrições específicas. Estas restrições são os limites de quantidade das substâncias que podem migrar do material plástico para o alimento e é denominado de Limite de Migração Específica (LME).

A legislação considera 1kg de alimento, sob a forma de cubo com 10 cm de aresta, exposto a 6 dm<sup>2</sup> de área de embalagem do material. Quando se trabalha com filmes onde a área de contato não é bem conhecida é comum trabalhar com os limites de migração em mg.dm<sup>-2</sup>, para isso há o fator de conversão de mg.kg<sup>-1</sup> para mg.dm<sup>-2</sup> sendo 6dm<sup>2</sup>.kg<sup>-1</sup> (Grob et al., 2007).

Outro fator a ser considerado é quantas caras (caras está relacionada com as fases da amostra a ser considerada como área de migração) considerar

da amostra polimérica a ser utilizada. Segundo Nerín (2002), a determinação é feita segundo a espessura do material posto em teste, sendo considerado apenas como uma cara quando o filme apresentar espessura inferior ou igual a 300 micrômetros e acima deste valor então trabalha-se com duas caras tendo de considerar a área em dobro.

## **2.7. Técnicas Analíticas**

### **2.7.1. Cromatografia**

A Cromatografia engloba todo um conjunto de técnicas de separações dinâmicas que tem em comum a distribuição de analitos entre duas fases (uma móvel e outra estacionária) com uma ampla superfície de contato (Ferreira, 1997).

A cromatografia consiste na separação dos componentes de uma mistura complexa devido à diferença de afinidade entre as duas “fases”:

- A fase móvel pode ser um gás, líquido ou fluido supercrítico e é nela que se encontra a mistura de compostos a analisar.

- A fase estacionária pode ser um sólido ou líquido, mas sempre imiscível com a fase móvel.

O processo consiste em fazer fluir a fase móvel em contato com a fase estacionária de maneira que os compostos presentes na mistura problema interajam de forma diferenciada com ambas as fases. Os compostos cuja interação com a fase estacionária é mais forte tendem a permanecer mais tempo em contato com a mesma e demoram mais tempo para fazer a corrida junto com a fase móvel. Da mesma forma os compostos que interagem fracamente demoram menos tempo para chegarem ao final da corrida (Romero, 2005). Escolhendo bem ambas as fases é possível promover a separação dos compostos.



Quando a fase móvel é um gás inerte diz-se ter a cromatografia gasosa, seja a fase estacionária líquida ou sólida.

Na cromatografia gasosa a técnica instrumental de separação consiste no carreamento por um gás inerte (os mais utilizados são o hidrogênio, nitrogênio e hélio (Romero, 2005)), com distintas velocidades, dos componentes de uma mistura através de uma coluna contendo a fase estacionária, esteja ela inserida em um suporte sólido e poroso ou depositada sobre a parede da coluna (Ferreira, 1997).

A escolha da polaridade da fase estacionária é o parâmetro mais importante na seleção da coluna. A definição do tipo de fase é baseada no princípio geral em que “igual dissolve igual”. Uma coluna não-polar é, portanto, utilizada em análises de compostos não-polares e vice-versa (Araújo, 1999).

Junto à saída da coluna encontra-se um detector que mede o sinal, do analito separado, ao passar por ele. Este resultado é representado no chamado cromatograma (Figura 6) (Ferreira, 1997). No cromatograma cada composto corresponde a um pico cuja área é proporcional à quantidade do mesmo (Araújo, 1999).

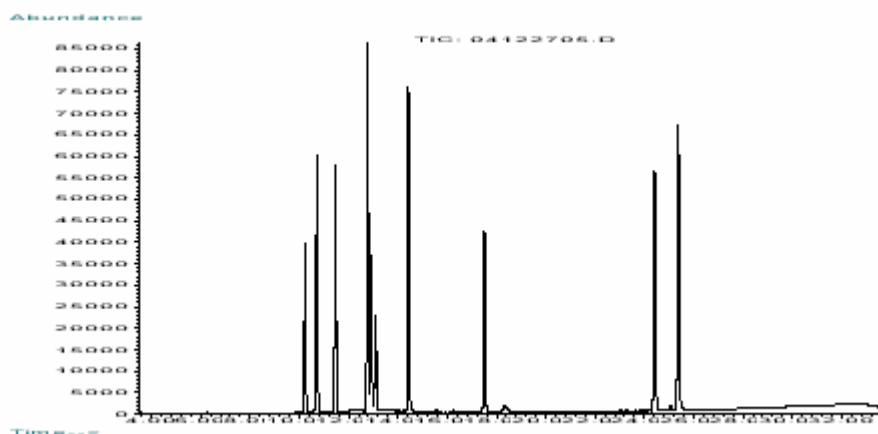


Figura 6 – Exemplificação de cromatograma

Dependendo das características químicas e físicas dos analitos se utiliza um ou outro detector, tentando sempre que a sensibilidade do mesmo seja máxima. Os detectores habituais são de condutividade térmica (TCD), de nitrogênio fósforo (NPD), por ionização em chama (FID), por captura de elétrons (ECD), fotométrico de chama (FPD), derivatizador proporcional integral (PID) e espectrômetro de massa (MS), sendo este último cada vez mais usado (Romero, 2005).

### **2.7.2. Espectrometria de massa**

A espectrometria de massa é uma técnica analítica poderosa usada para identificar compostos desconhecidos, quantificar materiais conhecidos e elucidar as propriedades químicas e estruturais das moléculas (Duarte, 2005).

Ela diz respeito à formação e manipulação (ou controle) das trajetórias de íons gasosos e detecção dos mesmos. Átomos gasosos e moléculas são de difícil controle no laboratório; somente suas pressões podem ser variadas facilmente. No entanto, uma vez que átomos e moléculas são ionizados, os íons produzidos podem ser controlados rapidamente por campos magnéticos e/ou elétricos onde ambos são mantidos constantes ou variados rapidamente. A partícula carregada responde de forma rápida e precisa aos campos. Espectrometria de massa é o nome dado à essa manipulação de trajetórias iônicas tanto para regiões com campos como para regiões livres deles (Veja-Bustillos et al., 2001). Os íons são carregados por um gás inerte, hélio (Romero, 2005).

Os princípios científicos em que a técnica se baseia são simples. A essência da técnica envolve a geração de íons que são depois detectados. A sofisticação surge nos métodos que são utilizados para a geração desses íons e no modo de sua análise (Duarte, 2005).

Na investigação de moléculas gasosas por espectrometria de massa observa-se freqüentemente que a magnitude dos fragmentos detectados é

muito maior que a do íon original. O padrão de fragmentação depende da composição do íon e o exame do padrão de fragmentação leva a uma compreensão da estrutura e composição deste (Veja-Bustillos et al., 2001).

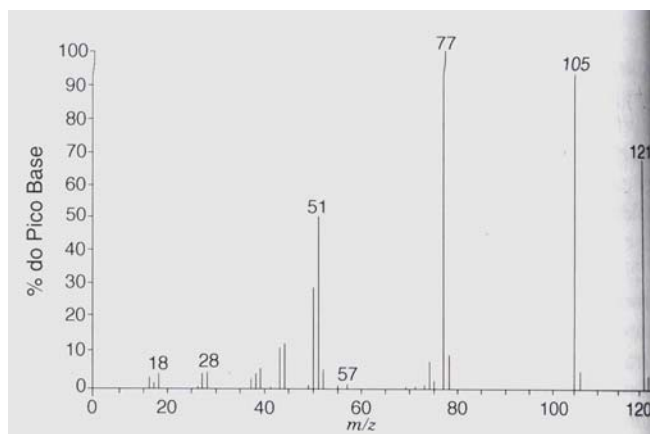
A espectrometria de massa se ocupa da manipulação e detecção de espécies carregadas individualmente, a manipulação em laboratório é possível desde que lidemos com relações massa/carga ( $m/z$ ) onde a carga eletrônica no íon é de  $1,6022 \times 10^{-19}$  C por elétron. No entanto, ao invés de números extremamente pequenos, é conveniente definir um tipo especial de unidade de massa para expressar as massas individuais dos íons. A unidade mais comumente utilizada em espectrometria de massa é a unidade de massa atômica, u.m.a. Esta unidade é definida como 1/12 da massa de um único átomo de  $^{12}\text{C}$ . O carbono tem massa de 12 u.m.a., que é a soma do número de prótons e nêutrons. Com este sistema de unidades de massa, cada isótopo de elemento de múltiplos isótopos é detectado individualmente e difere em massa de outros por um número inteiro de unidades de massas atômicas (Veja-Bustillos et al., 2001).

Os íons selecionados, que passaram pelo sistema de separação, são direcionados para o detector (Lanças, 1993). Os detectores convertem íons segundo seu valor de  $m/z$  em valores mensuráveis de sinais elétricos com intensidade proporcional a este valor (Montaudou e Lattime, 2002).

Os espectrômetros de massa fornecem os resultados como gráficos de barras e tabelas, obtidos por computador após os íons selecionados passarem pelo sistema de separação. Os detectores convertem os íons segundo seu valor de  $m/z$  em valores mensuráveis de sinais eletrônicos, com intensidade proporcional a este valor, gerando os gráficos e tabelas como relação a abundância iônica e  $m/z$  (Montaudou e Lattime, 2002; Silverstein e Webster, 2000; Lanças, 1993).

Um espectro de massas é um gráfico que contém as massas dos fragmentos positivos (incluindo o íon molecular) nas suas concentrações relativas (Figura 7). O pico mais intenso do espectro, chamado pico base, tem arbitrariamente a intensidade de 100%. As intensidades (altura do sinal X fator

de sensibilidade) dos demais picos, incluindo o pico principal, aparecem como frações do pico base. É claro que o pico do íon molecular pode ser, às vezes, o pico base. Na Figura 7, o pico do íon molecular está em  $m/z$  121 e o pico base em  $m/z$  77 (Romero, 2005; Silverstein e Webster, 2000).



Fonte: Silverstein e Webster (2000).

Figura 7 – Espectro de massa por impacto de elétrons, gerado por computador, da benzamida na forma de gráfico de barras. A abundância relativa dos picos, apresentada como porcentagem do pico base (100%), está lançada contra a razão massa/carga ( $m/z$ ).

Pequenos picos, muitos dos quais resultam de prováveis impurezas, ocorrem em cada unidade de massa. Esses picos são frequentemente eliminados dos gráficos de barras, de acordo com a metodologia determinada previamente as análises. Os picos menores que 0,5% foram omitidos na Figura 7 (Silverstein e Webster, 2000).

Tendo o espectrograma de massa dos íons produzidos do referente composto pode-se determinar sua estrutura que foi fragmentada. Os espectrômetros de massas são dotados de uma espectroteca (biblioteca) de dados que armazena dezenas de milhares de espectros de massas já determinados (Romero, 2005; Lanças, 1993). Uma busca nesta espectroteca e a comparação com os picos encontrados podem identificar o composto ou sugerir "estruturas semelhantes". As intensidades dos picos são proporcionais

ao número de íons de cada massa (Romero, 2005; Silverstein e Webster, 2000).

Pode-se trabalhar com duas formas de aquisição dos dados na espectrometria de massa, modo de varredura (SCAN) ou modo de monitoramento de íons selecionado (SIM). O modo SCAN apresenta todos os íons detectáveis na amostra e permite que seja feita a comparação com compostos registrados na espectroteca instalada no aparelho utilizado, permitindo identificar compostos presentes no material analisado. O modo SIM de aquisição não permite a comparação do composto identificado com padrões da espectroteca disponível, pois reconhece o composto identificando apenas os íons selecionados para serem averiguados (íons que fornecem o pico base e/ou picos principais). Essa é uma forma de aquisição que apresenta maior seletividade permitindo um aumento na sensibilidade da análise (Oviedo et al., 2003).

Quando não se conhece por meio de literatura os  $m/z$  que se devem ser utilizados para trabalhar na identificação de um composto em modo SIM se utiliza inicialmente o modo SCAN para identificação do composto desejado, uma vez este identificado procede-se à escolha de um ou mais  $m/z$  para trabalhar em modo SIM.

A espectrometria de massa tem a desvantagem de que para os compostos que apresentam isômeros, estes fornecem o mesmo espectro de massa dificultando sua diferenciação, porém esta limitação pode ser contornada mediante ajustes na metodologia. Isto ocorre com frequência, pois esta análise apresenta grande seletividade e sensibilidade além de conferir informações suficientes para a identificação da forma estrutural do composto. Possibilitando a identificação inequívoca da grande maioria dos compostos de interesse (Lanças, 1993).

O uso da espectrometria de massa tem tido grande aplicação principalmente devido a características como (Montaudo e Lattime, 2002):

- ✓ Sua alta sensibilidade - Concentrações de  $10^{-15}$  mol é suficiente para análise;

- ✓ Seletividade - Pequenos componentes podem ser analisados em misturas;
- ✓ Especificidade - Padrões de massa exata e fragmentos determinados são utilizados para caracterização composicional de substâncias, e;
- ✓ Velocidade de análise - Aquisição de dados em segundos.

Pela técnica de espectrometria de massa é possível determinar compostos presentes em quantidade pequena como  $10^{-15}$  g e com massa de 1000 Dalton. Isto significa que os compostos podem ser identificados em concentrações muito baixas (uma parte em  $10^{12}$ ) em misturas quimicamente complexas. A espectrometria de massa fornece informações tanto para químicos, como para físicos, engenheiros de controle de processos, bioquímicos e ainda biólogos (Duarte, 2005).

A união do cromatógrafo gasoso com o espectrômetro de massa, assim como os aparelhos em separados, são dispostos de uma sofisticada arquitetura eletrônica que através de controladores, mantém constantes as condições de processo e asseguram que a identificação e quantificação dos compostos sejam corretas (Romero, 2005).

A utilização de um espectrômetro de massa acoplado a um cromatógrafo gasoso somente é possível mediante uma conexão entre os aparatos denominada interface. Esta interface tem a função de assegurar que os compostos que saem já separados do cromatógrafo cheguem em seu estado gasoso até o espectrômetro (Romero, 2005).

### **2.7.3. Microextração de fase sólida**

A microextração de fase sólida (SPME) consiste na partição (absorção) de analitos por uma matriz quando esta é exposta. A matriz pode ser mergulhada na amostra ou permanecer no espaço cabeça (headspace) do frasco que a contenha. A matriz consiste em uma fina fibra de sílica, coberta por uma fase estacionária. Após extração/preconcentração durante um tempo

determinado a fibra é levada ao injetor aquecido do cromatógrafo gasoso onde então é exposta para análise. Uma característica importante desta técnica é que tanto a extração quanto a injeção utiliza a mesma fibra evitando problemas como a perda de analitos (Wang, 2007).

Deve-se estar atento ao inconveniente do efeito memória (resquícios do analito na fibra após injeção) que algumas fibras podem apresentar (Romero, 2005).

A utilização de menor quantidade de solvente e se tratando de uma técnica simples, a SPME é considerada uma alternativa em relação às técnicas de extração tradicionais, como por solventes. A SPME tem sido utilizada com êxito para análises de líquidos, gases e amostras sólidas contendo grande variedades de analitos voláteis ou semi-voláteis (Romero, 2005).

O uso da SPME para determinação de DEHP em simulantes aquosos (água), principalmente a baixas concentrações, reduz a possibilidade de contaminação secundária pelo ambiente (Batlle e Nerín, 2004).

#### **2.7.4. Espectroscopia de Infravermelho**

A espectroscopia de infravermelho (IR) é uma espectroscopia de absorção, a qual usa a região do infravermelho do espectro eletromagnético. Pode ser usada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra. Se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados nesse caso de *níveis vibracionais*). Tais frequências dependem da forma, da superfície, da energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e eventualmente do acoplamento vibrônico (Macho, 2002).

A fim de se fazer medidas em uma amostra, um raio monocromático de luz infravermelha é passada pela amostra, e a quantidade de energia absorvida é registrada. Repetindo-se esta operação ao longo de uma faixa de

comprimentos de onda de interesse, então um gráfico pode ser construído e através desse gráfico pode-se identificar informações sobre a amostra. Esta técnica trabalha quase que exclusivamente em ligações covalentes, e é de largo uso na química, especialmente na química orgânica (Wikipedia, 2006a)

Toda molécula orgânica absorve energia eletromagnética em comprimento de onda específico. Para cada material têm-se picos e depressões de absorção determinada, estes picos são registrados em cartas de absorbância ou transmissão versus comprimento de onda, e com a comparação de padrões anteriormente determinados, torna-se possível a sua identificação (Gil et al, 2005). Por ser uma técnica objetiva é muito utilizada para identificação de materiais plásticos (Oliveira, 1996).

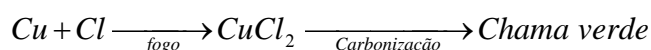
A identificação de filmes e a presença de aditivos, em interesse específico os plastificantes, tem por base a absorção de energia da região do infravermelho do espectro eletromagnético, pelas ligações internas das estruturas químicas dos compostos (Oliveira, 1996).

Através da Espectroscopia por Infravermelho são possíveis as seguintes informações: estrutura do polímero, tipos de aditivos, cristalinidade, comprimento da cadeia, orientação, degradação e muitos outros (Wikipedia, 2006b).

### 2.7.5. Ensaio de Beilstein

O ensaio de Beilstein, segundo Oliveira (1996) verifica a presença de halogênios em cadeias poliméricas. A molécula de Cloro, um halogênio, é um composto que tem sua presença como característica nas resinas plásticas de poli(cloreto de vinila) (PVC) e poli(cloreto de divinilideno) (PVdC).

Este ensaio consiste em aquecer o conjunto fio de cobre e amostra em chama azul no bico de Bunsen e como resultado positivo é visualizado coloração verde na chama devido à reação do cobre com o cloro:





### **2.7.6. Microscopia eletrônica de varredura**

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) é utilizada em várias áreas do conhecimento, para pesquisa básica e aplicada (Santos, 2003). Permite a observação e caracterização de uma série de materiais do ponto de vista de sua morfologia, organização e composição química (Duarte, 2003).

A imagem eletrônica de varredura é formada a partir da incidência de um feixe de elétrons sobre a amostra, sob condições de vácuo promovendo a emissão de elétrons secundários, retroespalhados e absorvidos (Duarte, 2003; Postek et al., 1980).

Esta técnica apresenta um grande intervalo de abrangência na sua escala de observação, variando da ordem de grandeza de nanômetro a milímetro (Santos, 2003), podendo o aumento para visualização alcançar 300.000 vezes. O seu uso vem se tornando freqüente por fornecer informações detalhadas dos materiais estudados (Duarte, 2003).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, Minas Gerais – Brasil) e no Laboratório de Química Analítica no Centro Politécnico Superior de Engenheiros na Universidade de Zaragoza (Zaragoza, Aragón – Espanha).

Foram realizadas no Brasil as análises quanto às alterações físicas e mecânicas dos filmes de poli(cloreto de vinila) no período de outubro / 2006 a janeiro / 2007 e na Espanha as análises de migração dos plastificantes contidos nos filmes no período de março a agosto de 2006.

### **3.1. Seleção dos filmes de poli(cloreto de vinila) - PVC**

Filmes de poli(cloreto de vinila) foram adquiridos nos mercados Europeu e Brasileiro, para avaliação e seleção, considerando os plastificantes adicionados e de interesse para o desenvolvimento deste trabalho.

#### **3.1.1. Avaliação dos filmes pelo Teste de Beilstein**

Para identificação dos filmes de PVC, fios de cobre foram cobertos com amostras dos filmes adquiridos. Estes conjuntos (fio de cobre-filme) foram aquecidos em um Bico de Bunsen até a carbonização. A presença de uma

chama verde indica presença de halogênio, neste caso o cloro, indicando a possibilidade de ser filme de PVC.

### **3.1.2. Avaliação dos filmes por Espectroscopia de Infravermelho**

Os filmes foram cortados em tamanhos adequados para preencher a célula do equipamento de Infravermelho (AVATAR 360 FT.ir – Nicole – Espanha). As amostras foram avaliadas quanto à sua composição seguindo a metodologia descrita pelo fabricante para identificação dos compostos presentes em filmes. Foi utilizada a biblioteca do software do equipamento (OMNIC.ESP, versão 5.1) para identificação dos compostos mediante comparação dos espectros.

### **3.1.3. Identificação dos plastificantes no filme de PVC por cromatografia gasosa com detector de massa (GC-MS)**

Amostras de 0,5 g dos filmes foram dissolvidas em 17,8 g (20 mL) tetrahydrofurano (THF – grau HPLC sem estabilizante, Scharlau) e, então, precipitadas com 23,76 g (30 mL) de metanol (grau HPLC, Merck). Filmes de PVC apresentam alta solubilidade em THF. Após 15 minutos de reação o sobrenadante foi filtrado em lã de vidro e uma alíquota de 1  $\mu\text{L}$  foi injetada no cromatógrafo a gás com detector de massa (Hewlett Packard - HP 6890 Series GC system; 5973 Mass Selective Detector). Utilizou-se coluna HP-5 (5% Fenil Metil Siloxano, HP 19091J – 436) capilar de dimensões 60 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0,25  $\mu\text{m}$ . O gás carreador foi o hélio (99,9995% de pureza) com fluxo de 1 mL.min<sup>-1</sup>. As temperaturas no cromatógrafo foram: injeção 220°C, interface 280°C, fonte 230°C e quadrupolo 150°C. O volume de 1  $\mu\text{L}$  foi injetado em “splitless”, automaticamente, em modo de aquisição SCAN com retardo de 5 minutos.

A programação para controle de temperatura da coluna iniciou-se com 60°C por 3 min e então a temperatura foi elevada a 320°C a uma taxa de 5°C.min<sup>-1</sup> permanecendo por 15 min nesta condição.

Antes de cada injeção, a seringa (10 µl) do mostrador automático foi lavada com duas rinsagens da amostra (ambientada), seguido de um bombeamento com a própria amostra para remoção de possíveis bolhas. A amostra foi então coletada e injetada. Após cada injeção a seringa foi rinsada três vezes com diclorometano (grau cromatografia gasosa, estabilizado com etanol, Scharlau) e três vezes com n-hexano (grau GC, Scharlau).

O tipo de plastificante presente na amostra do filme foi determinado por comparação dos picos obtidos com a espectroteca (Wiley 275.i) de padrões existente no software do equipamento utilizado.

## **3.2. Análise de migração de plastificantes do filme de PVC para simulantes de alimentos**

### **3.2.1. Preparo dos materiais utilizadas nos ensaios de migração**

Os experimentos foram conduzidos utilizando somente recipientes e acessórios de vidro, que foram rigorosamente limpos, para eliminar possíveis contaminações com ftalatos.

As vidrarias foram lavadas em água corrente com posterior rinsagem com água destilada seguida de secagem a 180°C. Após secagem os materiais foram lavados com solução de tetrahydrofurano:metanol (grau HPLC, Merck) (50:50), rinsados com isopropanol (Scharlau) e, em seguida, com acetona (grau HPLC, Merck) para posterior utilização (Batlle e Nerín, 2004).

### 3.2.2. Determinação da migração dos plastificantes do PVC em meios simulantes

Amostras dos filmes foram cortadas nas dimensões de 3 x 4 cm (12cm<sup>2</sup>) e imersas em 20 mL do simulante contido em frascos. Os frascos foram vedados com tampas clipadas (Gotardo e Monteiro, 2005). Para fins de cálculos quanto à quantificação dos plastificantes migrados do filme para o meio, foi considerada a área de uma face do filme (uma cara), devido à pequena espessura do mesmo (Nerín, 2002). Os simulantes utilizados foram, isoctano (grau HPLC, Scharlau), etanol 95% (etanol absoluto grau HPLC, Scharlau) e água (água ultrapura) (Milliq-Milipore), com densidades 0,69; 0,79 e 1,0 g.cm<sup>-3</sup>; respectivamente. Os simulantes foram pesados e suas massas nos frascos foram 13,8; 15,79 e 20 g, respectivamente. Os frascos foram armazenados sob as temperaturas de 5±1°C e 20±2°C. As amostras dos filmes foram retiradas dos frascos nos tempos 5, 10 e 15 dias após imersão nos simulantes. Para o simulante isoctano foi feita também a análise ao final das primeiras 24 h (Figura 8).

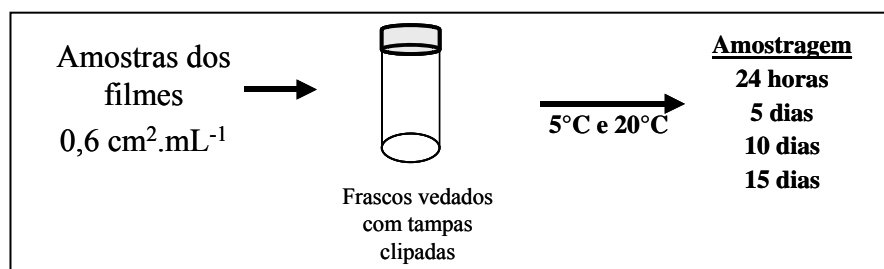


Figura 8 – Montagem dos experimentos de migração dos plastificantes contidos nos filmes de PVC para os simulantes.

O teor de plastificante migrado nos simulantes foi quantificado através da comparação dos resultados cromatográficos das amostras com as respectivas curvas analíticas geradas, segundo metodologia descrita no item 3.4.

O experimento foi realizado com três repetições e as injeções das amostras no GC-MS foram realizadas em duplicata.

### 3.2.2.1. Preparo da amostra do simulante etanol 95% após imersão do filme de PVC

Ao volume de 20 mL do simulante etanol 95% adicionou-se, aproximadamente, 1 g de sulfato de sódio anidro –  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (Merck) para remoção da água existente. Após, foram retiradas alíquotas de 1,5 mL do simulante e transferidas para frascos de 2 mL, adequados à injeção automática no CG-MS (Figura 9).

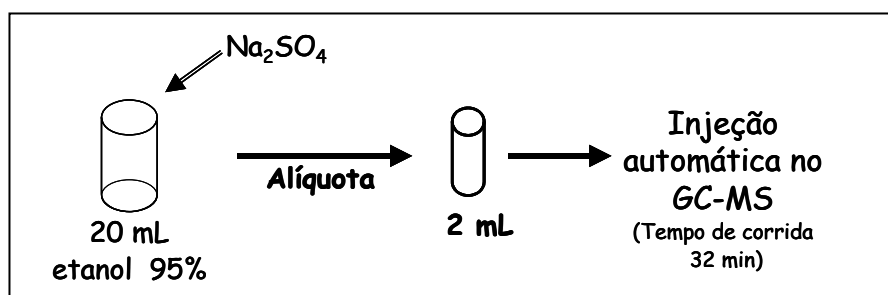


Figura 9 – Preparo da amostra do simulante etanol 95% após imersão do filme de PVC para análise em GC-MS.

### 3.2.2.2. Preparo da amostra do simulante isoctano após imersão do filme de PVC

Alíquotas de 1,5 mL do simulante isoctano foram transferidas para frascos de 2 mL, adequados à injeção automática no GC-MS (Figura 10).

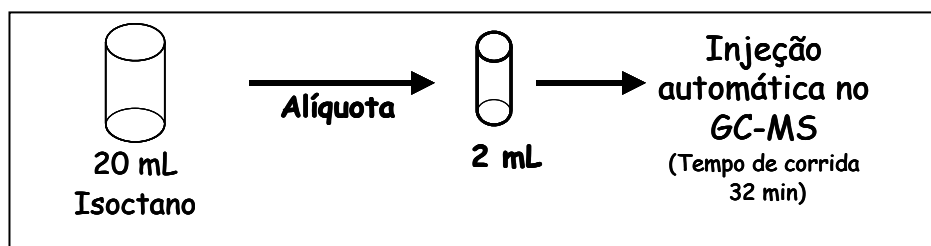


Figura 10 – Preparo da amostra do simulante isoctano após imersão do filme de PVC para análise em GC-MS.

### 3.2.2.3. Preparo da amostra do simulante água após imersão do filme de PVC

Para amostragem no simulante água foi utilizado o sistema de microextração de fase sólida (SPME), manualmente, segundo Batlle e Nerín (2004) com modificações. O simulante contido no frasco foi dividido em duas partes iguais (10 g cada) às quais foram adicionadas de  $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$  de cloreto de sódio - NaCl (Merck) (Zygoura et al. 2005; Li et al. 2004). Cada parte foi mantida sob agitação (900 rpm) a  $50^\circ\text{C}$  por 5 min (chapa aquecedora com agitação magnética – Basic Mgmix), quando então fez-se a imersão da fibra de extração (fibra branca,  $85 \mu\text{m}$  Polyacrylato, Supelco) mantida por 20 min a  $50^\circ\text{C}$  e 900 rpm. Após este período de exposição a fibra foi recolhida e levada ao injetor do GC-MS onde ficou exposta por 10 min, para desorção da amostra (Figura 11).

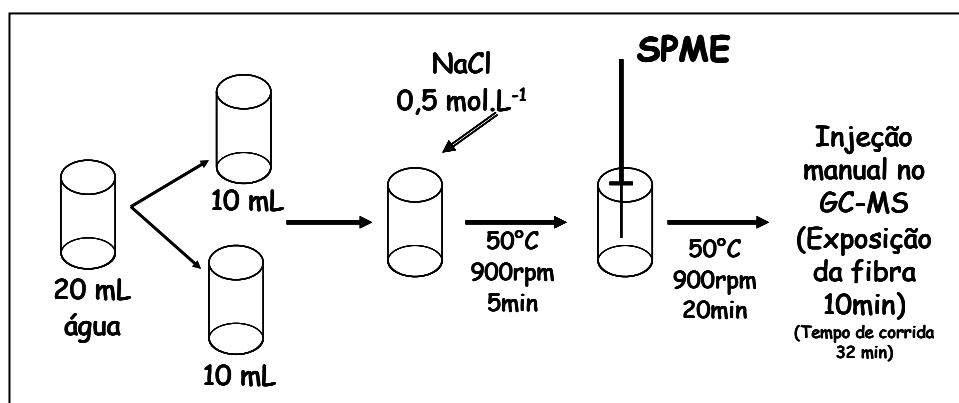


Figura 11 – Preparo da amostra do simulante água após imersão do filme de PVC para análise em GC-MS.

Antes da primeira utilização a fibra foi condicionada a  $300^\circ\text{C}$  por 2 h, conforme sugerido pelo fabricante (SUPELCO).

Para a completa liberação de compostos remanescentes na fibra, a mesma foi submetida a uma nova injeção no GC-MS entre as análises, sem entrar em contato com amostra.



### **3.2.2.4 Condições do cromatógrafo gasoso com detector de massa (GC-MS) para determinação dos plastificantes migrados para os simulantes**

Foi utilizado um cromatógrafo a gás com detector de massa (Hewlett Packard - HP 6890 Series GC system; 5973 Mass Selective Detector), com a coluna HP – 5 (5% Fenil Metil Siloxano-HP, 19091J – 436), capilar com dimensões de 60 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0,25  $\mu\text{m}$ . O gás carreador foi o hélio (99,9995% de pureza) com fluxo de 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . As temperatura foram: injeção 220°C, interface 280°C, fonte 230°C e quadrupolo 150°C. O volume injetado foi de 1  $\mu\text{L}$  em “splitless”, automaticamente, em modo de aquisição SIM com retardo de 12 min.

Para identificação dos plastificantes utilizou-se o modo de aquisição SIM e foram selecionadas as seguintes relações massa/carga (m/z): DEHP - 149, 167, 279; DEHA - 112, 129, 147; e ATBC - 129, 158, 259.

A programação para controle de temperatura da coluna teve início com 60°C por 3 min e então a temperatura foi elevada a 200°C a uma taxa de 15°C.min<sup>-1</sup>, seguido de um aumento para 280°C a uma taxa de 10°C.min<sup>-1</sup> permanecendo nesta temperatura por 8 min e, finalmente, a temperatura foi elevada a 320°C a uma taxa de 20°C.min<sup>-1</sup> onde permaneceu por um minuto.

Antes de cada injeção, a seringa (10  $\mu\text{l}$ ) do mostrador automático foi ambientada com duas rinsagens da amostra, seguido de um bombeamento com a própria amostra para remoção de possíveis bolhas. A amostra foi então coletada e injetada. Após cada injeção a seringa foi rinsada três vezes com diclorometano (grau cromatografia gasosa, estabilizado com etanol, Scharlau) e três vezes com n-hexano (grau GC, Scharlau).

### **3.3. Análise de migração de plastificantes do filme de PVC para os alimentos**

#### **3.3.1. Preparo dos materiais utilizadas nos ensaios de migração**

Os experimentos foram conduzidos utilizando somente recipiente e acessórios de vidro, que foram rigorosamente limpos, para eliminar possíveis contaminações com ftalatos.

As vidrarias foram lavadas em água corrente com posterior rinsagem com água destilada seguida de secagem a 180°C em estufa. Após secagem os materiais foram lavados com solução de tetrahidrofurano:metanol (grau HPLC, Merck) (50:50), rinsados com isopropanol (Scharlau) e, em seguida, com acetona (grau HPLC, Merck) para posterior utilização (Batlle e Nerín, 2004).

#### **3.3.2. Caracterização dos alimentos queijo mussarela e presunto**

Os alimentos, queijo mussarela e presunto, utilizados para os ensaios de migração, foram adquiridos no mercado local de Zaragoza – Espanha, para os experimentos visando determinar a concentração dos plastificantes migrados dos filmes para os alimentos; e, no mercado de Viçosa – Brasil, para os experimentos com o objetivo de realizar a avaliação mecânica dos filmes após contato com simulantes e alimentos.

##### **3.3.2.1. Determinação do teor de gordura**

###### **3.3.2.1.1. Queijo mussarela**

Em 15 g de queijo foram adicionados 37 g de uma solução Acetona:Hexano (60:40 m/m) e triturados no equipamento ultraturrax (IKA

T18 basic) a uma velocidade de 22000 rpm até homogeneidade da amostra. O sistema foi mantido em repouso por 30 min e o sobrenadante foi recolhido. A operação foi repetida por duas vezes alterando a etapa de repouso para 15 min. Os sobrenadantes recolhidos foram reunidos em um béquer e a este volume adicionou-se aproximadamente 1 g sulfato de sódio anidro (Merck), para desidratação da amostra. O material foi filtrado a vácuo (filtro de 38 – 43 µm, Albet 400) e concentrado em evaporador rotativo (Buch waterbath B-480), 80°C a 30 rpm até que todo solvente fosse evaporado. O concentrado foi pesado e correspondeu a massa de gordura.

O teor de gordura foi determinado através da equação:

$$Mg = \frac{mg}{ma} * 100 \quad (1)$$

Onde: Mg = Teor de gordura  
mg = massa de gordura  
ma = massa do alimento

#### 3.3.2.1.2. Presunto

Em 10 g de presunto foram adicionados 76 g de uma solução diclorometano:ciclohexano (50:50 m/m) e triturados em ultraturrax (IKA T18 basic) a uma velocidade de 22000 rpm até homogeneidade da amostra. À mistura foi adicionado, aproximadamente, 1g de sulfato de sódio anidro (Merck) para remoção da água presente. O sistema foi mantido em repouso por 30 min, posteriormente filtrado a vácuo (filtro de 38 - 43 µm, Albet 400) e concentrado em evaporador rotativo (Buch waterbath B-480), 80°C a 30 rpm, até que todo solvente fosse evaporado. O concentrado foi pesado e o teor de gordura determinado através da equação 1.

### 3.3.2.2. Determinação da espessura dos alimentos

Mediu-se a espessura das fatias de alimentos com micrômetro digital (Mitutoyo - MDC-25M) em cinco pontos distintos da mesma fatia. As medidas foram feitas com três repetições.

### 3.3.2.3. Determinação de pH

Os alimentos foram macerados em água (Milleq-Milipore), sendo utilizados 10 g do alimento. No queijo foi adicionado 20 mL de água e no presunto 100 mL. O medidor de pH utilizado foi um Crison (GLP 22).

### 3.3.3. Montagem do ensaio de migração

Fatias dos alimentos queijo mussarela e presunto, contendo espessura média de 1,77 mm, massa de 10 g e 45,5 cm<sup>2</sup> de área, foram cobertas superficialmente com amostras dos filmes de PVC e então mantidas em placas de petri, fechadas. Os conjuntos foram armazenados sob refrigeração (5±1°C) (Figura 12).

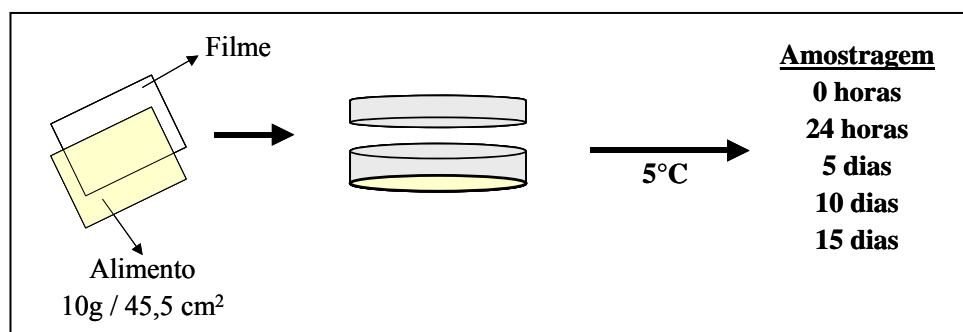


Figura 12 – Montagem dos experimentos de migração dos plastificantes contidos nos filmes de PVC para os alimentos.

Os alimentos foram avaliados nos tempos 0, 1, 5, 10 e 15 dias após o contato com o filme. O experimento foi montado em três repetições. As análises cromatográficas foram realizadas em duplicatas.

#### **3.3.4. Extração dos plastificantes migrados para os alimentos**

Os filmes que envolveram as fatias dos alimentos (10 g) de queijo mussarela e presunto foram retirados e o alimento foi triturado juntamente com 20,7 g de isoctano (ultraturrax, IKA T18 basic) a uma velocidade de 22000 rpm até homogeneização, seguido de filtração a vácuo (filtro, 38 - 43  $\mu\text{m}$ , Albet 400). Ao filtrado adicionou-se, aproximadamente, 1 g de florisil (Aldrich, Florisil 100-200 mesh, CAS 1343-88-0), previamente ativado, para absorção da gordura presente.

A ativação do florisil foi realizada, segundo Ansesio (2002) com modificações, mantendo o composto à temperatura de 550°C por 12 h, resfriando-o em dessecador e, seguido de uma desativação adicionando 5% de água. Após este processo, o material foi utilizado no máximo após sete dias.

O extrato após adicionado de florisil passou por uma segunda filtração (filtro 0,22  $\mu\text{m}$ , PTFE).

Uma alíquota de 1,5 mL do extrato proveniente do presunto foi transferida para frascos (2 mL) adequados a injeção automática no GC-MS.

O extrato proveniente do queijo mussarela foi diluído 15 vezes, com o intuito de reduzir o “efeito matrix”, gerado pela presença de gordura remanescente na amostra. Após a diluição uma alíquota de 1,5 mL foi transferida para frascos (2 mL) adequados à injeção automática no GC-MS (Figura 13).

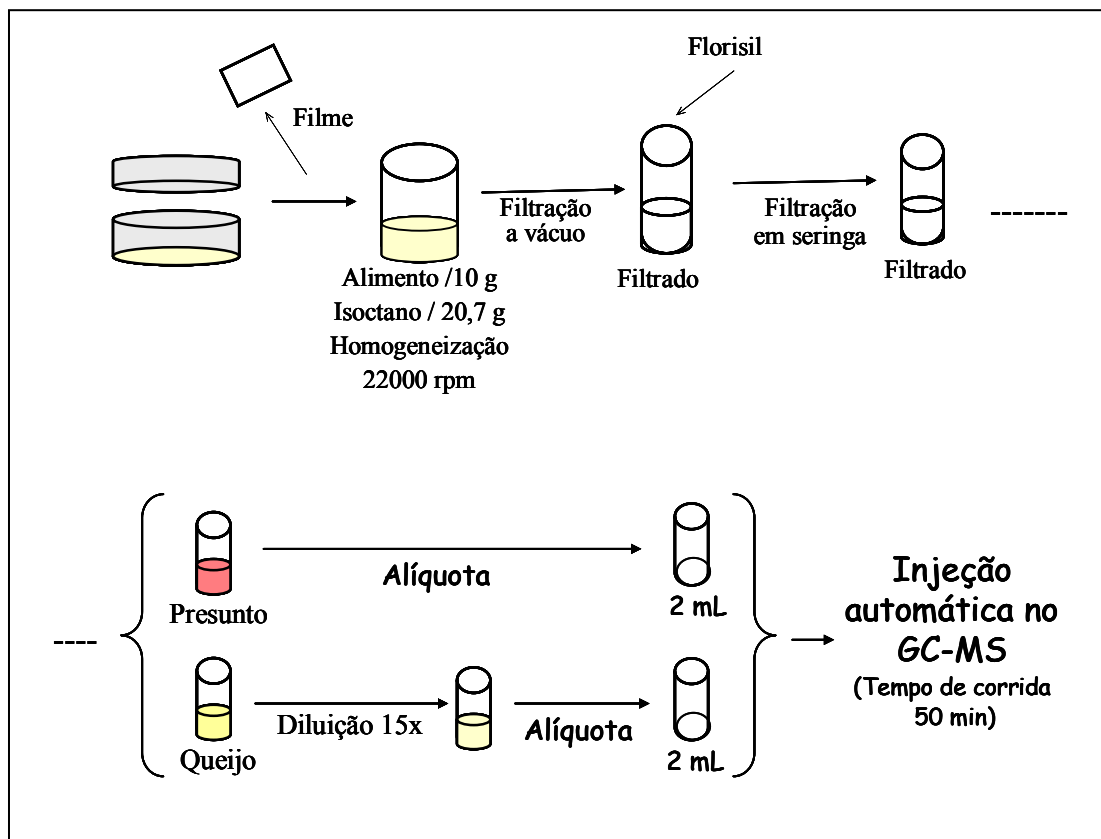


Figura 13 – Preparo da amostra dos alimentos após contato com o filme de PVC para análise em GC-MS.

### 3.3.5. Condições do cromatógrafo gasoso com detector de massa (GC-MS) para determinação dos plastificantes migrados para os alimentos

As condições adotadas para a determinação dos plastificantes migrados para os alimentos foram as mesmas descritas no item 3.2.2.4 com alteração do tempo de permanência na temperatura final da análise (320°C) que foi de 19 min.

### 3.3.6. Avaliação da eficiência do processo de extração dos plastificantes dos alimentos

Dez gramas de alimento (queijo mussarela e presunto) foram adicionados com os padrões (pureza 99%, Aldrich) dos plastificantes de interesse, DEHP, DEHA e ATBC, nas concentrações de 39,70 mg.kg<sup>-1</sup> e

4,90 mg.kg<sup>-1</sup> nas amostras de queijo e presunto, respectivamente. Os alimentos adicionados com os plastificantes foram mantidos à temperatura ambiente por 12 h e, então, todo o processo de extração descrito no item 3.3.4 e as condições de análise do item 3.3.5 foram executados para verificação da quantidade recuperada dos plastificantes previamente adicionados no alimento (Figura 14).

Foram realizadas análises para verificar se os alimentos estavam contaminados pelos plastificantes em estudo, chamada “Branco”. Para a análise do Branco, dez gramas de alimento (queijo mussarela ou presunto), puro, passaram por todo o processo de extração descrito no item 3.3.4 e pela análise descritas no item 3.3.5, para quantificação dos plastificantes, contaminantes iniciais do alimento.

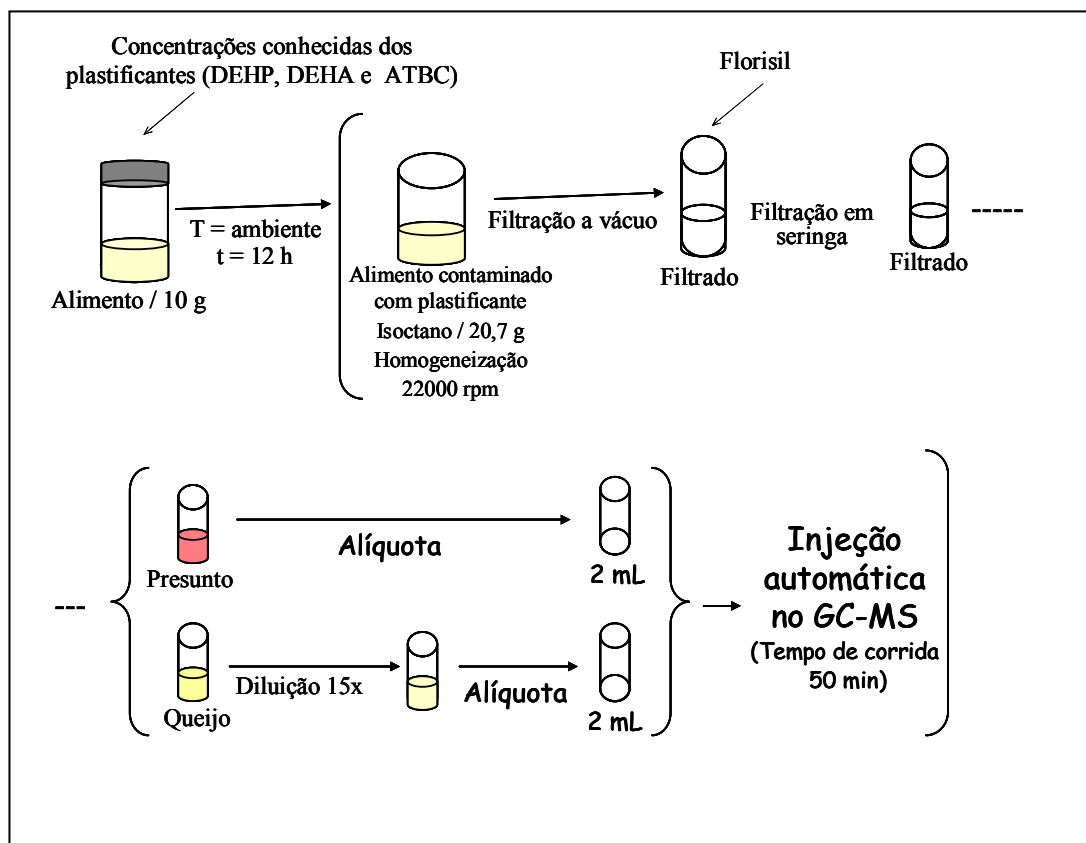


Figura 14 – Preparo da amostra dos alimentos para avaliação do processo de extração dos plastificantes por GC-MS.

### 3.4. Quantificação dos plastificantes

A quantificação dos plastificantes foi realizada pela comparação dos resultados cromatográficos das amostras com as respectivas curvas analíticas geradas.

Foram geradas curvas analíticas para cada solução simulante (isooctano, etanol 95% e água), ou com o solvente utilizado para a extração dos plastificantes dos alimentos queijo e presunto (isooctano).

Para obtenção das curvas analíticas, primeiramente foram preparadas soluções puras de cada padrão dos plastificantes (99%, Aldrich) de interesse, DEHP, DEHA e ATBC, em etanol ( $3000 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), sendo cada uma dessas soluções chamada de “Solução estoque”. A partir das soluções estoque foram preparadas duas soluções contendo os três plastificantes, uma tendo como solvente o etanol e a outra o isooctano. A partir dessas soluções foram feitas dissoluções sucessivas em diferentes solventes de interesse para a elaboração das curvas analíticas (Wang e Storm, 2005). A solução contendo os três plastificantes, preparada em etanol, foi utilizada para as dissoluções em etanol e água. As soluções resultantes foram empregadas para construção das curvas analíticas para os simulantes etanol 95% e água. A solução contendo os três plastificantes, preparada em isooctano, foi utilizada para as dissoluções em isooctano. As soluções resultantes foram empregadas para obtenção da curva analítica utilizada para a quantificação dos plastificantes contidos no simulante isooctano e para as análises das extrações realizadas nos alimentos queijo mussarela e presunto que utilizaram o solvente isooctano como extrator (item 3.3.4).

As dissoluções empregadas para gerar as curvas analíticas foram analisadas por GC-MS seguindo toda a metodologia como se estas soluções padrões fossem as amostras a serem analisadas, ou seja, as análises seguiram as metodologias descritas nos itens 3.2.2.1, 3.2.2.2 e 3.2.2.3, para os simulantes etanol 95%, isooctano e água, respectivamente, e as análises cromatográficas as condições descritas no item 3.2.2.4.



As curvas analíticas se adequaram à quantificação dos plastificantes nas faixas de concentrações apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Concentrações dos plastificantes utilizadas na construção das curvas analíticas

Padrões de Plastificantes	Simulantes			
	Isoctano		Etanol 95% (mg.kg <sup>-1</sup> )	Água (mg.kg <sup>-1</sup> )
	Curva mais diluída (mg.kg <sup>-1</sup> )	Curva menos diluída (mg.kg <sup>-1</sup> )		
DEHP	0,005 a 0,400	0,50 a 70,00	1,00 a 100,00	0,30 a 2,50
DEHA	0,100 a 0,900	0,50 a 70,00	1,00 a 100,00	0,30 a 2,50
ATBC	0,050 a 0,900	0,50 a 70,00	1,00 a 100,00	0,30 a 2,50

### 3.5. Avaliação das propriedades mecânicas dos filmes de PVC

Para os testes de avaliação mecânica, amostras dos filmes de PVC foram cortadas nas dimensões de 5 cm x 10 cm e, então, submetidas aos processos de migração em simulantes e em contato com alimentos (queijo mussarela e presunto).

As amostras dos filmes foram removidas dos simulantes e dos alimentos nos tempos de 1, 5, 10 e 15 dias após o contato. Estes filmes foram acondicionados a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $50 \pm 5\%$  umidade relativa (UR), por tempo mínimo de 48 h para posterior teste mecânico, seguindo as normas NBR 7452 (1982), ASTM E171-94 (1996) e ASTM D681-95 (1996).

Os filmes foram analisados quanto à resistência (carga máxima na ruptura, N) e à elasticidade (alongamento na carga máxima, %) utilizando o Aparelho Universal de Teste Instron (modelo 3367), com célula de carga de 1 kN (100 kg), velocidade de tração de  $50 \text{ mm.min}^{-1}$  e distância entre as garras de 50 mm.

Os experimentos foram conduzidos com três repetições.

### **3.5.1. Em simulantes**

Os filmes foram imersos nos diferentes simulantes (etanol 95%, isoctano e água) mantendo a mesma relação área do filme / volume do simulante usada nos testes de migração ( $0,6 \text{ cm}^2 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) para quantificação dos plastificantes. O sistema foi montado utilizando frascos de vidro com fechamento metálico e armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ .

### **3.5.2. Nos Alimentos**

Os filmes foram colocados em contato com as superfícies de fatias de queijo mussarela e presunto, cortadas nas mesmas dimensões dos filmes (5 cm x 10 cm). Foi mantida a mesma espessura média das fatias dos alimentos utilizados nos ensaios de migração para quantificação dos plastificantes, 1,77 mm, para queijo mussarela e presunto.

Os alimentos foram acondicionados em placas de petri e armazenados a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ .

## **3.6. Análise Microscópica dos filmes de PVC**

Foram utilizados filmes de PVC brasileiro e europeu que estiveram em contato com os simulantes de alimentos etanol 95%, isoctano e água, mantendo a mesma relação área de filme e volume usado no item 3.5.1 durante 10 dias a  $20^\circ\text{C}$ . Também foram analisados filmes controles que não estiveram em contato com os simulantes e armazenados à temperatura ambiente,  $25^\circ\text{C}$ .

As amostras foram preparadas segundo metodologia descrita por Silveira (1989). Os filmes foram fixados em suporte específico (“stub”), com o auxílio de fita adesiva de duas faces, dispostos de forma a permitir a

visualização de sua superfície e seção transversal. Após fixação, as amostras foram metalizadas (metalizador Balzers-Union Mundial FDU 010) com uma camada 20 nm de ouro, tendo por objetivo melhorar a condutância de elétrons. Os filmes foram observados em microscópio eletrônico de varredura (LEO - 1430 VP, Inglaterra), tensão de 12,16 kV e sinal A de SE1, com um aumento de 8.000x.

As análises foram realizadas utilizando os equipamentos disponibilizados no Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

### **3.7. Análise estatística**

#### **3.7.1. Experimentos de migração de plastificantes para simulantes**

Para as análises de migração dos plastificantes contidos nos diferentes filmes colocados em contatos com os simulantes etanol 95%, isoctano e água, os tratamentos foram dispostos em parcelas sub-sub-dividida com três repetições, sendo simulantes, temperatura e tempo a parcela, a sub-parcela e a sub-sub-parcela, respectivamente. Os dados foram interpretados por meio de análise de variância e regressão utilizando o teste F ao nível de 5% de probabilidade. Para análises com fatores qualitativos, o tempo foi fixado e os dados foram interpretados através das comparações das médias utilizando o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### **3.7.2. Experimentos de migração de plastificantes para alimentos**

Para a análise do experimento de migração dos plastificantes para os alimentos os tratamentos foram dispostos em parcela sub-dividida com três repetições, sendo alimentos e tempo a parcela e sub-parcela, respectivamente.

Os dados foram interpretados por meio de análise de variância e regressão utilizando o teste F ao nível de 5% de probabilidade.

### **3.7.3. Avaliação da utilização de simulantes em substituição aos alimentos**

Para avaliação da utilização de simulantes em substituição aos alimentos os tratamentos foram dispostos segundo um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três repetições. Os dados foram interpretados por meio de análise de variância, utilizando o teste F e as médias comparadas utilizando o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### **3.7.4. Experimento de avaliação das propriedades mecânicas dos filmes de PVC**

Foram realizados dois conjuntos de testes estatísticos para as propriedades mecânicas. O primeiro avaliou os três simulantes, etanol 95%, isoctano e água juntamente com os alimentos queijo mussarela e presunto à temperatura de  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$  e nos tempos 1 e 15 dias. O segundo avaliou os três simulantes em duas temperaturas,  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$  e  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$  também nos tempos 1 e 15 dias.

Para o primeiro conjunto, os tratamentos foram dispostos em parcelas sub-sub-dividida, com três repetições, tendo filmes na parcela, simulantes (etanol 95%, isoctano, água, queijo e presunto) na sub-parcela e tempo na sub-sub-parcela. Os dados foram interpretados por meio de análise de variância e regressão utilizando o teste F ao nível de 5% de probabilidade. Para análises com fatores qualitativos, o tempo foi fixado e os dados foram interpretados através das comparações das médias utilizando teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para o segundo conjunto, os tratamentos foram dispostos em parcelas sub-sub-sub-dividida, com três repetições, tendo filmes na parcela, simulantes na sub-parcela, temperatura na sub-sub-parcela e tempo na sub-sub-sub-parcela. Os dados foram interpretados por meio de análise de variância e regressão utilizando o teste F ao nível de 5% de probabilidade. Para análises com fatores qualitativos, o tempo foi fixado e os dados foram interpretados através das comparações das médias utilizando o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), versão 9.1.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### 4.1. Filmes de poli(cloreto de vinila) utilizados nos experimentos

Foram selecionados dois filmes de poli(cloreto de vinila) (PVC) de espessura 10  $\mu\text{m}$ , sendo um adquirido no mercado brasileiro e outro no mercado europeu, os quais continham em sua composição os plastificantes de interesse (Tabela 2).

Tabela 2: Filmes selecionados para os experimentos.

Filme	Espessura ( $\mu\text{m}$ )	Plastificantes investigados*		
		DEHP	DEHA	ATBC
Brasileiro	10	X	X	
Europeu	10		X	X

\* (X) Presença do plastificante descrito. DEHP – (ftalato de di-(2-etil-hexila)); DEHA – (adipato de di-(2-etil-hexila)); ATBC – (citrato de acetil-tribulila).

## 4.2. Característica dos alimentos queijo mussarela e presunto

As características avaliadas dos alimentos estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Características do queijo mussarela e presunto, utilizados nos experimentos.

Alimento	Espessura (mm)	pH	Teor de gordura (%)
Queijo	1,77	6,2	26,5
Presunto	1,77	6,5	5,0

## 4.3. Curvas analíticas para quantificação dos plastificantes em estudo

A Figura 15 apresenta um dos cromatogramas gerados para construção das curvas analíticas.

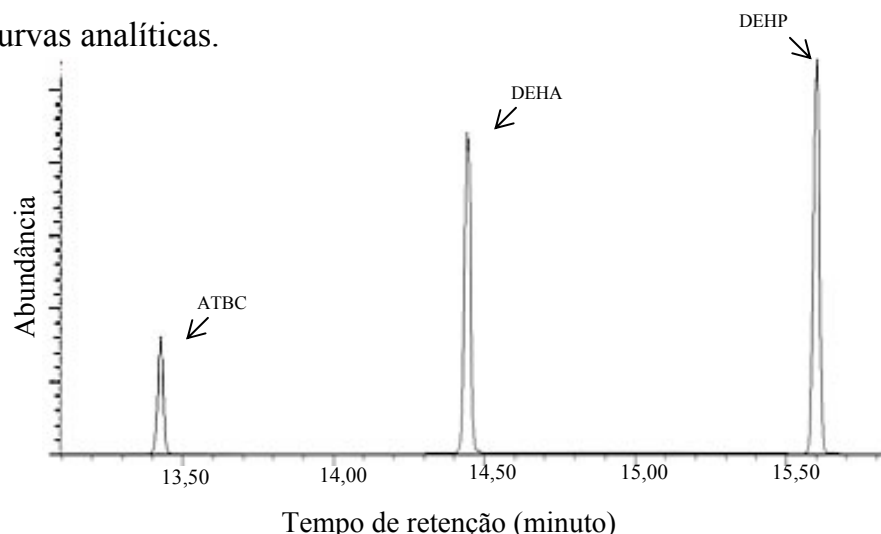


Figura 15 – Cromatograma proveniente de análise em GC-MS, utilizado para obtenção da curva analítica em etanol, identificando os plastificantes ATBC, DEHA e DEHP.

As curvas analíticas obtidas para os plastificantes DEHP, DEHA e ATBC dissolvidos nos diferentes solventes utilizados apresentaram  $R^2 > 0,96$ . Para cada solvente e cada plastificante foi construída a curva analítica correspondente, como mostrado na Figura 16.



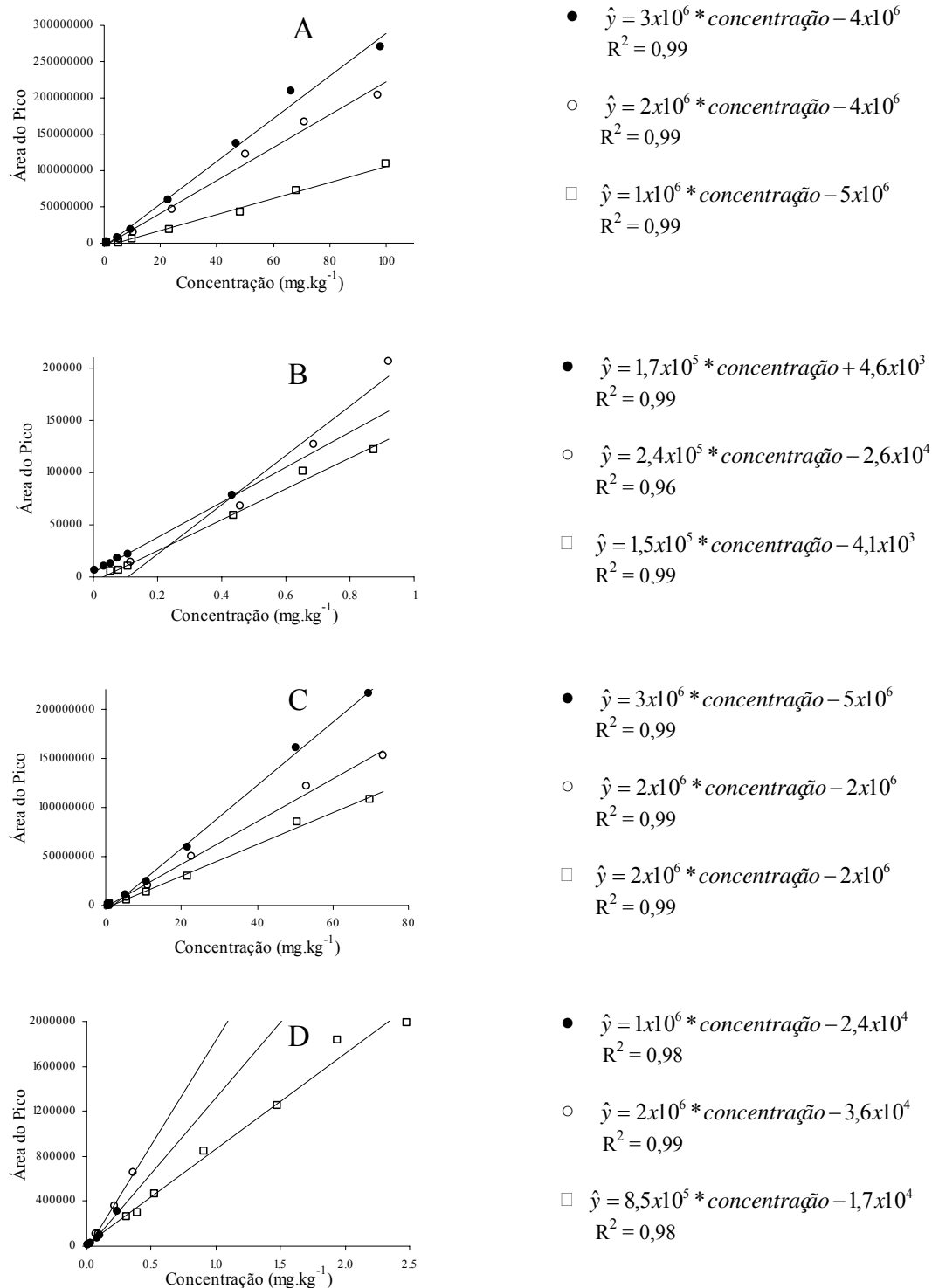


Figura 16 – Curvas analíticas para diferentes plastificantes, (●) DEHP, (○) DEHA e (□) ATBC nos solventes etanol (A), isooctano (B e C) e água (D).

#### 4.4. Avaliação da eficiência do processo de extração dos plastificantes dos alimentos

A análise dos Brancos dos alimentos queijo mussarela e presunto não detectou presença dos plastificantes, DEHA, DEHP ou ATBC, ou seja, não foi observado contaminação inicial do produto analisado.

Após a contaminação intencional dos alimentos com os plastificantes, procedeu-se ao processo de extração. A porcentagem de recuperação dos plastificantes presentes nos alimentos, assim como os fatores de correção utilizados nas análises cromatográficas posteriormente, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de porcentagem de recuperação e fatores de correção do método de extração dos plastificantes dos alimentos.

Alimento		DEHP	DEHA	ATBC
Queijo Mussarela	Porcentagem de recuperação (%)	100,8 ± 8,3	49,8 ± 7,4	58,9 ± 14,3
	Fator de correção	1,0	2,0	1,7
Presunto	Porcentagem de recuperação (%)	38,2 ± 4,1	23,9 ± 2,6	30,2 ± 1,4
	Fator de correção	2,6	4,2	3,3

Através da metodologia aplicada obteve-se melhores recuperações dos plastificantes presentes no queijo mussarela em comparação ao presunto.

Para o queijo, a porcentagem de recuperação dos plastificantes variou, aproximadamente, de 50 a 100%, podendo ser considerada uma boa recuperação, uma vez que envolveu a extração de três compostos diferentes presentes em um mesmo alimento e a identificação dos mesmos usando igual condição cromatográfica. Observa-se um resultado de extração com valor superior a 100%, igual a 108%, para o DEHP (Tabela 4), este fato pode estar relacionado com possíveis contaminações pelo ambiente ou mesmo pelos

materiais utilizados, uma vez que o DEHP é um composto considerado ubiquitário (Latini et al., 2004).

Porém, para o presunto foi observada uma recuperação baixa, variando, aproximadamente, de 25 a 40%, mas satisfatória para este trabalho, permitindo a identificação dos compostos desejados.

Zygoura et al. (2005) avaliaram uma metodologia de extração por solventes para os plastificantes DOA e ATBC, ambos presentes em simulantes água e etanol 10%. Os autores fizeram contaminações intencionais (“spike”) com 100 mg.L<sup>-1</sup> e observaram uma recuperação média de 80 e 79% em água e 68 e 66% em solução etanólica 10% para os plastificantes DOA e ATBC, respectivamente. Foram relatados valores de recuperação maiores que os alcançados neste trabalho, mas deve-se considerar que os trabalhos apresentaram metodologias para extração dos plastificantes presentes em matrizes diferentes. Os alimentos não são substâncias puras, como os simulantes utilizados pelos autores, e podem interagir de forma diferenciada com os plastificantes dificultando a extração.

Sugere-se, para trabalhos futuros, que sejam estudadas melhorias na metodologia de extração dos plastificantes presentes em alimentos. Por exemplo, extrações sucessivas, com junção do extrato e posterior concentração; estudo do comportamento do florissil utilizado para remoção da gordura presente no produto, uma vez que este pode ter afinidade pelos plastificantes, devido às características químicas dos mesmos; variar solventes, concentrações e temperatura. Grandes são as possibilidades de testes que podem ser realizados para adequação de uma metodologia.

#### **4.5. Análise de migração de plastificantes do filme de PVC para simulantes de alimentos**

O adipato de di-(2-etil-hexila) (DEHA) proveniente do filme de PVC brasileiro apresentou uma migração influenciada significativamente pelos

simulantes e temperaturas ( $P < 0,05$ ) e não apresentou influência quanto ao efeito do tempo ( $P > 0,05$ ). Somente na interação simulante\*tempo houve influência significativa ( $P < 0,05$ ) (Tabela 5).

Tabela 5 – Resumo da análise de variância de teor de plastificante DEHA migrado do filme de PVC brasileiro para os diferentes simulantes, etanol 95 %, isoctano e água, sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ) e ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio
Simulante	2	420,2151*
Erro(a)	6	1,1983
Temperatura	1	7,5406*
Simulante*temperatura	2	2,5829 <sup>n.s</sup>
Erro(b)	6	0,6742
Tempo	2	2,6596 <sup>n.s</sup>
Simulante*tempo	4	2,8723*
Temperatura*tempo	2	0,9345 <sup>n.s</sup>
Simulante*tempo*temperatura	4	0,3397 <sup>n.s</sup>
Erro(c)	24	0,8905

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Por meio de análise de regressão (Figura 17) observou-se a tendência de migração nos diferentes simulantes e temperaturas.

Não houve diferença nos valores migrados de DEHA proveniente do filme brasileiro para os simulantes isoctano e água nos tempos avaliados (Figura 17 B e C). Todavia, observou-se, uma migração crescente com o tempo para o simulante etanol 95% (Figura 17-A).

Também foi observada uma maior migração do plastificante, nos meios simulantes, à temperatura de  $20^{\circ}\text{C}$  (Figura 17). Este comportamento está de acordo com os resultados de Badeka et al. (1999) que relataram tendência crescente da migração de DEHA, presente em filme de PVC, para os alimentos salsicha e pizza, com a elevação da temperatura de 85 a  $99^{\circ}\text{C}$ .

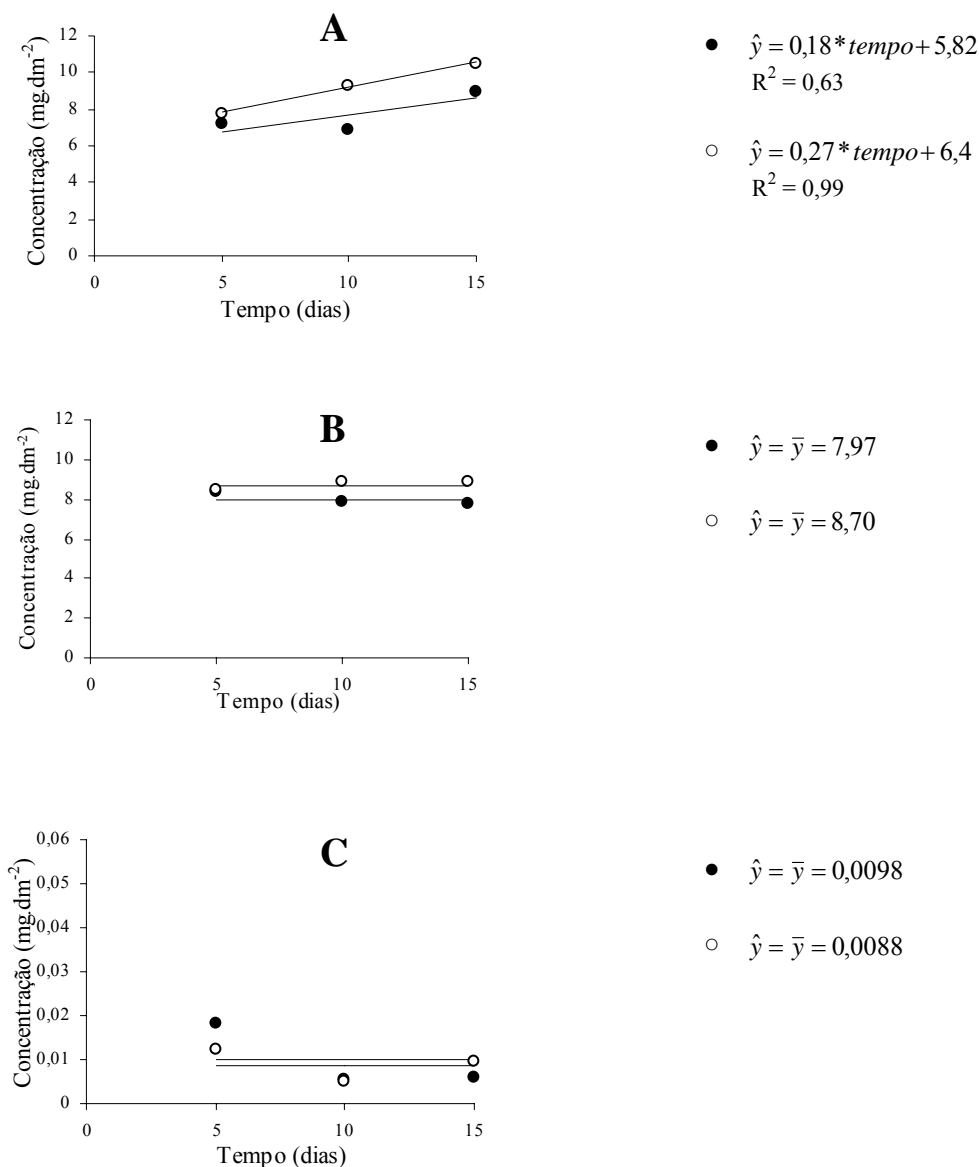


Figura 17 - Migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC adquirido no mercado brasileiro em simulantes etanol 95% (A), isooctano (B) e água (C) em temperaturas de refrigeração (●5°C) e ambiente (○20°C).

Na Tabela 6 observa-se que para uma mesma temperatura e tempo, a migração em simulante água diferiu dos outros simulantes ( $P > 0,05$ ) podendo ser menor, em média, 1000 vezes. A maior concentração migrada para os simulantes etanol 95% e isooctano com relação a água pode ser explicada devido a apolaridade do DEHA, que apresenta maior solubilidade em compostos apolares.

Tabela 6 – Média das concentrações ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) migradas do plastificante DEHA, presente no filme de PVC brasileiro, para diferentes simulantes nas temperaturas de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ) e ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ).

Simulante	5 °C		
	5 dias	10 dias	15 dias
Etanol 95%	$7,146 \pm 0,425^a$	$6,849 \pm 0,343^a$	$8,990 \pm 1,782^a$
Isoctano	$8,320 \pm 0,504^a$	$7,825 \pm 0,211^a$	$7,771 \pm 1,050^a$
Água	$0,018 \pm 0,001^b$	$0,005 \pm 0,001^b$	$0,006 \pm 0,001^b$
dms*	2,231	2,231	2,231
	20 °C		
	5 dias	10 dias	15 dias
Etanol 95%	$7,780 \pm 1,826^a$	$9,254 \pm 2,580^a$	$10,493 \pm 0,676^a$
Isoctano	$8,429 \pm 0,789^a$	$8,824 \pm 0,194^a$	$8,852 \pm 0,569^a$
Água	$0,012 \pm 0,000^b$	$0,005 \pm 0,001^b$	$0,009 \pm 0,001^b$
dms*	2,231	2,231	2,231

Médias com letras diferentes dentro da mesma coluna, para uma temperatura específica, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

\*dms: diferença mínima significativa.

No filme de PVC brasileiro também foi estudada a migração do plastificante ftalato de di-(2-etil-hexila) (DEHP).

Observou-se que a migração do plastificante DEHP foi influenciada significativamente ( $P < 0,05$ ) pelos simulantes, temperaturas, interação simulante\*tempo e simulante \*temperatura em pelo menos um dos casos estudados (Tabela 7).

Tabela 7 – Resumo da análise de variância de teor de plastificante DEHP migrado do filme de PVC brasileiro para os diferentes simulantes, etanol 95%, isoctano e água, sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ) e ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio
Simulante	2	$2,0976^*$
Erro(a)	6	$0,0034$
Temperatura	1	$0,1060^*$
Simulante*temperatura	2	$0,0291^*$
Erro(b)	6	$0,0012$
Tempo	2	$0,0029^{n.s}$
Simulante*tempo	4	$0,0311^*$
Temperatura*tempo	2	$0,0037^{n.s}$
Simulante*tempo*temperatura	4	$0,0036^{n.s}$
Erro(c)	24	$0,0029$

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

O fator tempo, assim como para a migração do plastificante DEHA não apresentou significância ( $P > 0,05$ ) (Tabela 7), porém, também foi observado como resultado da análise de regressão uma migração crescente nas duas temperaturas testadas ( $P < 0,05$ ) em simulante etanol 95% (Figura 18-A). Para o simulante isoctano a migração foi decrescente a 5°C ( $P < 0,05$ ) e constante a 20°C (Figura 18 – B). E quando o filme brasileiro esteve em contato com o simulante água a migração observada do DEHP foi constante ( $P > 0,05$ ), para ambas as temperaturas (Figura 18 - B e C).

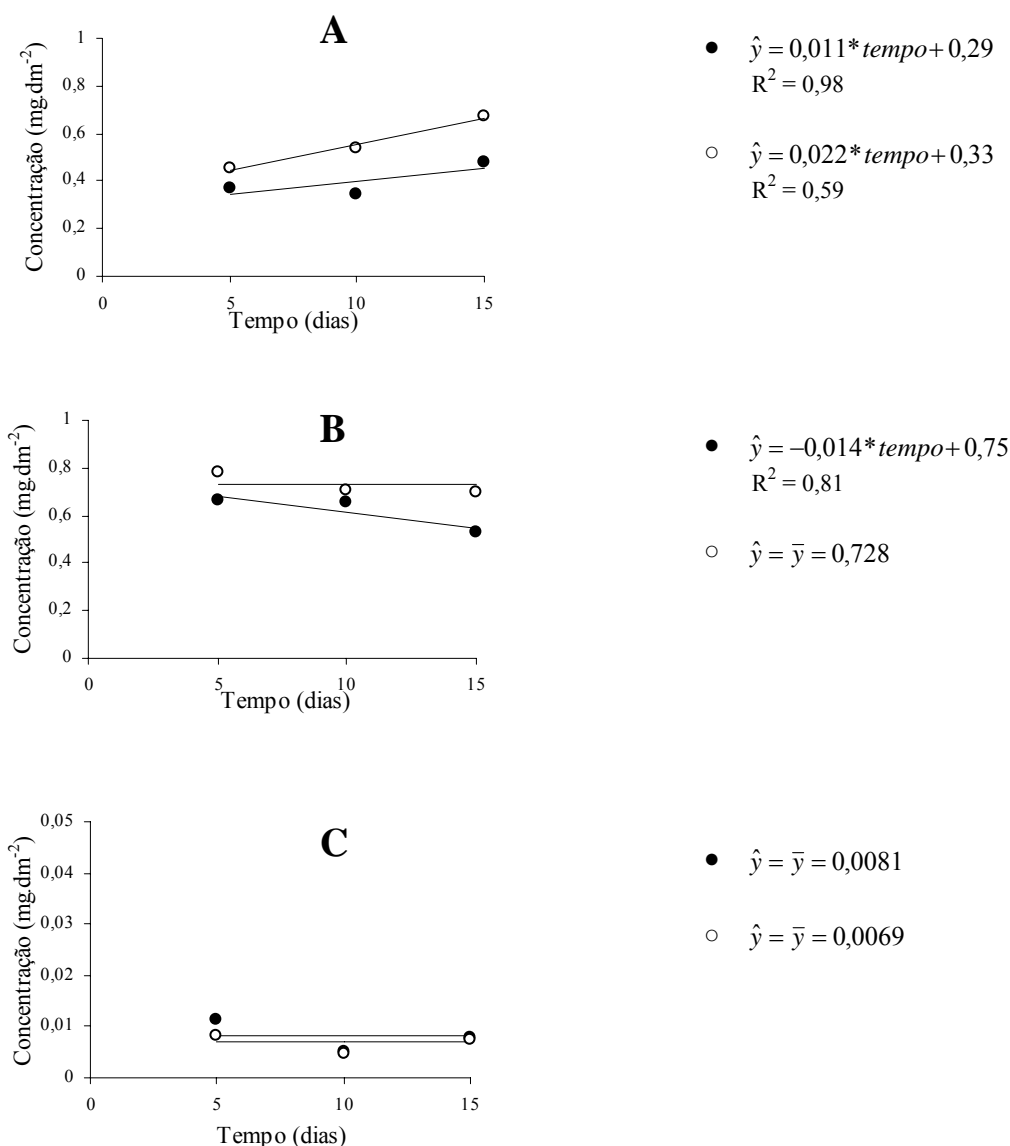


Figura 18 - Migração do plastificante DEHP presente no filme de PVC adquirido no mercado brasileiro em simulantes etanol 95% (A), isoctano (B) e água (C) em temperaturas de refrigeração (●5°C) e ambiente (○20°C).

Foi apresentada, assim como para o DEHA, uma maior migração do DEHP para os simulantes à temperatura de 20°C (Figura 18). Porém, para o simulante água, devido à reduzida concentração encontrada, não foi visível a diferença quanto as temperaturas (Figura 18-C e Tabela 8).

Tabela 8 – Média das concentrações (mg.dm<sup>-2</sup>) migradas do plastificante DEHP, presente no filme de PVC brasileiro, para diferentes simulantes nas temperaturas de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C).

Simulante	5 °C		
	5 dias	10 dias	15 dias
Etanol 95%	0,372 ± 0,024 <sup>b</sup>	0,347 ± 0,019 <sup>b</sup>	0,482 ± 0,077 <sup>a</sup>
Isoctano	0,663 ± 0,017 <sup>a</sup>	0,653 ± 0,019 <sup>a</sup>	0,528 ± 0,051 <sup>a</sup>
Água	0,011 ± 0,003 <sup>c</sup>	0,005 ± 0,000 <sup>c</sup>	0,008 ± 0,003 <sup>b</sup>
dms*	0,118	0,118	0,118
	20 °C		
	5 dias	10 dias	15 dias
Etanol 95%	0,453 ± 0,068 <sup>b</sup>	0,535 ± 0,136 <sup>b</sup>	0,674 ± 0,022 <sup>a</sup>
Isoctano	0,779 ± 0,114 <sup>a</sup>	0,707 ± 0,012 <sup>a</sup>	0,698 ± 0,040 <sup>a</sup>
Água	0,008 ± 0,002 <sup>c</sup>	0,005 ± 0,000 <sup>c</sup>	0,007 ± 0,001 <sup>b</sup>
dms*	0,118	0,118	0,118

Médias com letras diferentes dentro da mesma coluna, para uma temperatura específica, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

\*dms: diferença mínima significativa.

Comparando a migração entre os simulantes (Tabela 8) verificou-se uma migração mais acentuada para o simulante isoctano seguida do etanol 95% e água (P<0,05), nas duas temperaturas estudadas. No tempo de 15 dias foi observada uma igualdade estatística quanto a migração do DEHP do filme brasileiro para os simulantes isoctano e etanol 95% seguida de uma menor migração em água. Observou-se que no simulante água a migração foi menor a uma ordem de grandeza de 60 vezes em todos os tempos e temperaturas com relação aos demais simulantes. A maior concentração migrada para os simulantes etanol 95% e isoctano com relação a água pode ser explicada devido a polaridade da molécula estudada, assim como ocorrido com o plastificante DEHA. A molécula de DEHP tem também característica apolar apresentando maior solubilidade em compostos apolares estando em acordo



com os estudos de Zygoura et al. (2005) que atribuíram a maior migração do DEHP em etanol quando comparado com a migração em água devido a hidrofobicidade do plastificante em questão.

Fouad et al. (1999) mostraram em seus experimentos de migração, utilizando PVC, que a perda do plastificante DEHP é aumentada com o aumento da temperatura e, também, que a migração em simulante água é menor em 135 vezes quando comparada com simulante alcoólico (butanol 10%). O comportamento de migração deste plastificante foi o mesmo em comparação aos resultados apresentados.

O filme de PVC europeu teve como plastificantes estudos o DEHA e o citrato de acetil-butila (ATBC).

A migração do plastificante DEHA do filme para os simulantes etanol 95%, isoctano e água foi influenciada significativamente ( $P < 0,05$ ) apenas pelos simulantes, em pelo menos um dos casos estudados (Tabela 9), diferindo do resultando apresentado para o mesmo plastificante presente no filme brasileiro que apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) também para os fatores temperatura e interação simulante\*tempo (Tabela 5).

Tabela 9 – Resumo da análise de variância de teor de plastificante DEHA migrado do filme de PVC europeu para os diferentes simulantes, etanol 95%, isoctano e água, sob temperatura de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio
Simulante	2	15,2067*
Erro(a)	6	0,0284
Temperatura	1	0,0223 <sup>n.s</sup>
Simulante*temperatura	2	0,0464 <sup>n.s</sup>
Erro(b)	6	0,0784
Tempo	2	0,0479 <sup>n.s</sup>
Simulante*tempo	4	0,0335 <sup>n.s</sup>
Temperatura*tempo	2	0,0505 <sup>n.s</sup>
Simulante*tempo*temperatura	4	0,0569 <sup>n.s</sup>
Erro(c)	24	0,0296

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

A Figura 19 apresenta a tendência de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC europeu para os diferentes simulantes, etanol 95%, isoctano e água. A regressão mostrou uma tendência decrescente ( $P < 0,05$ ) da migração do DEHA em meio etanol 95 % à temperatura de 5°C (Figura 19-A), diferindo do comportamento deste mesmo plastificante presente no filme de PVC brasileiro que apresentou uma tendência crescente ( $P < 0,05$ ) (Figura 17-A). Porém, a inclinação da equação ajustada para a migração do DEHA do filme europeu à 5°C apresentou um valor pequeno permitindo inferir que o seu comportamento, pouco diferiu do encontrado a 20°C e estando coerente com o resultado da ANOVA apresentado na Tabela 9.

Para uma mesma temperatura e tempo específico, a migração em simulante água diferiu dos outros simulantes ( $P < 0,05$ ), sendo menor a uma ordem de 283 vezes (Tabela 10). A maior concentração migrada para os simulantes etanol 95% e isoctano com relação a água deve-se a polaridade da molécula do plastificante estudado e dos simulantes avaliados. O DEHA tem característica apolar apresentando maior solubilidade em compostos apolares.

Na migração do plastificante DEHA presente nos filmes de PVC brasileiro e europeu foi observado similaridade de comportamento (Figuras 17 e 19). Porém as concentrações migradas para o etanol 95% e isoctano foram maiores para o filme brasileiro (Tabelas 6 e 10). Esta diferença pode estar relacionada com o processo de plastificação (Zygoura et al., 2007). Quando em contato com o simulante água as concentrações migradas foram muito similares (Tabelas 6 e 10), podendo ser este fato atribuído à concentração de saturação deste plastificante (de caráter apolar) em água (solvente polar).

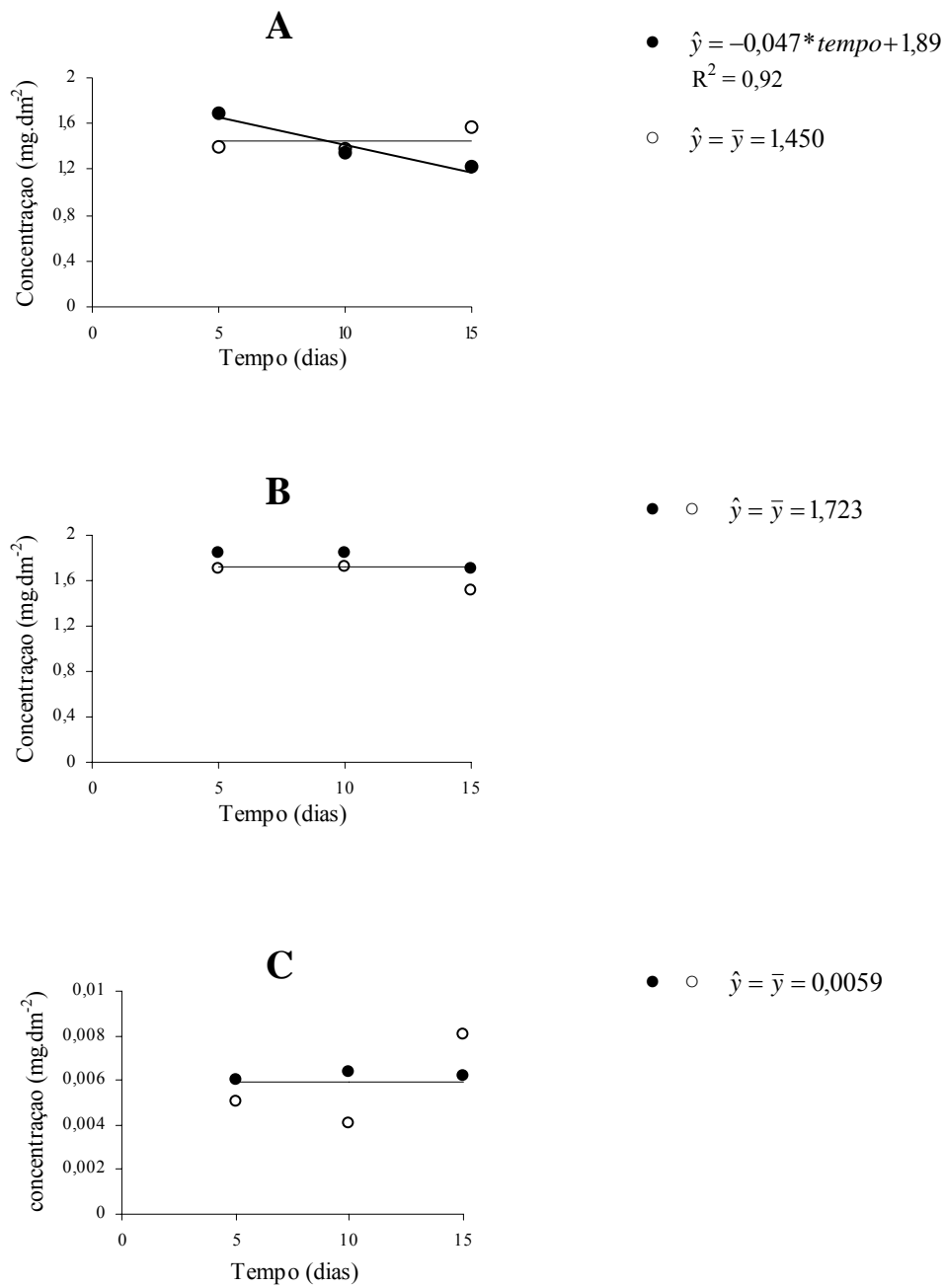


Figura 19 - Migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC adquirido no mercado europeu em simulantes etanol 95% (A), isooctano (B) e água (C) em temperaturas de refrigeração (●5°C) e ambiente (○20°C).

Tabela 10 – Média das concentrações ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) migradas do plastificante DEHA, presente no filme de PVC europeu, para diferentes simulantes nas temperaturas de refrigeração e ambiente.

Simulante	5 °C		
	5 dias	10 dias	15 dias
Etanol 95%	1,693 ± 0,141 <sup>a</sup>	1,336 ± 0,139 <sup>b</sup>	1,218 ± 0,016 <sup>b</sup>
Isoctano	1,850 ± 0,250 <sup>a</sup>	1,852 ± 0,566 <sup>a</sup>	1,700 ± 0,243 <sup>a</sup>
Água	0,006 ± 0,001 <sup>b</sup>	0,006 ± 0,002 <sup>c</sup>	0,006 ± 0,000 <sup>c</sup>
dms*	0,344	0,344	0,344

Simulante	20 °C		
	5 dias	10 dias	15 dias
Etanol 95%	1,391 ± 0,233 <sup>a</sup>	1,385 ± 0,128 <sup>a</sup>	1,575 ± 0,257 <sup>a</sup>
Isoctano	1,696 ± 0,219 <sup>a</sup>	1,723 ± 0,091 <sup>a</sup>	1,516 ± 0,039 <sup>a</sup>
Água	0,005 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,004 ± 0,000 <sup>b</sup>	0,008 ± 0,001 <sup>b</sup>
dms*	0,344	0,344	0,344

Médias com letras diferentes dentro da mesma coluna, para uma temperatura específica, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

\*dms: diferença mínima significativa.

O plastificante citrato de acetil-tribulila (ATBC), presente no filme de PVC europeu, exibiu uma migração influenciada significativamente ( $P < 0,05$ ) pelos simulantes, tempo e pelas interações em pelo menos um dos casos estudados. Quanto às temperaturas não foi observada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) (Tabela 11).

Tabela 11 – Resumo da análise de variância de teor de plastificante ATBC migrado do filme de PVC europeu para os diferentes simulantes, etanol 95%, isoctano e água, sob temperatura de refrigeração (5°C) e ambiente (20°C).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio
Simulante	2	9,5264*
Erro(a)	6	0,0019
Temperatura	1	0,0071 <sup>n.s</sup>
Simulante*temperatura	2	0,0375*
Erro(b)	6	0,0069
Tempo	2	0,0766*
Simulante*tempo	4	0,0614*
Temperatura*tempo	2	0,0244*
Simulante*tempo*temperatura	4	0,0298*
Erro(c)	24	0,0056

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

As tendências de migração do plastificante ATBC nos diferentes simulantes está representada na Figura 20.

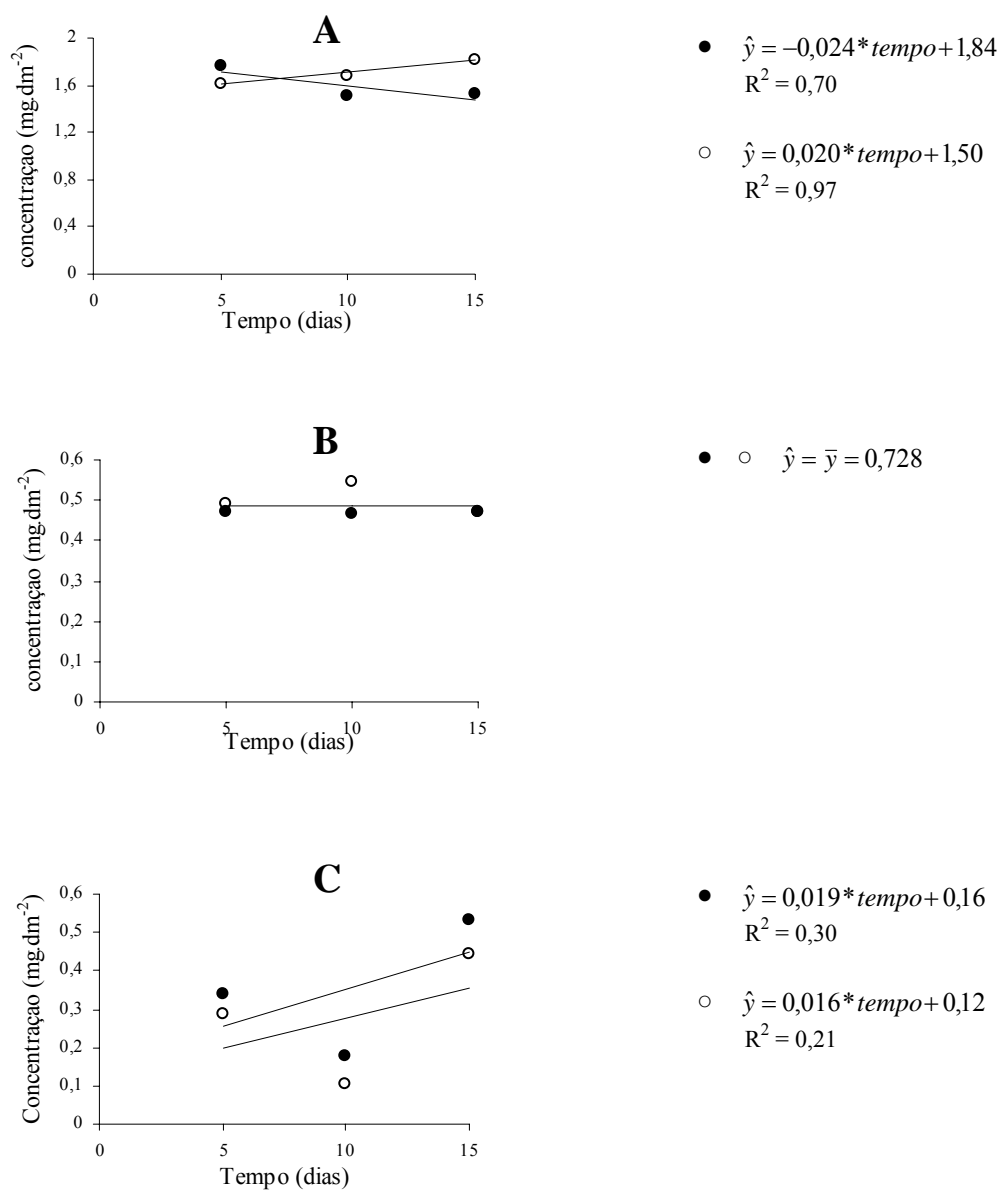


Figura 20 - Migração do plastificante ATBC presente no filme de PVC adquirido no mercado europeu em simulantes etanol 95% (A), isooctano (B) e água (C) em temperaturas de refrigeração (●5°C) e ambiente (○20°C).

Para o simulante etanol 95% observou-se uma migração crescente a 20°C e decrescente a 5°C, porém, diante dos valores de inclinação das equações ajustadas (Figura 20 - A) e dos valores de concentrações encontradas

para os dias analisados (Tabela 12) pode-se dizer que o comportamento, mesmo que de forma inversa, é pouco diferenciado.

Tabela 12 – Média das concentrações ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$ ) migrada do plastificante ATBC, presente no filme de PVC europeu, para diferentes simulantes nas temperaturas de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ) e ambiente ( $20^{\circ}\text{C}$ ).

Simulante	5 °C		
	5 dias	10 dias	15 dias
Etanol 95%	$1,766 \pm 0,121^a$	$1,504 \pm 0,063^a$	$1,522 \pm 0,030^a$
Isoctano	$0,471 \pm 0,039^b$	$0,468 \pm 0,088^b$	$0,469 \pm 0,046^b$
Água	$0,341 \pm 0,045^c$	$0,176 \pm 0,023^c$	$0,534 \pm 0,105^b$
dms*	0,089	0,089	0,089

Simulante	20 °C		
	5 dias	10 dias	15 dias
Etanol 95%	$1,613 \pm 0,135^a$	$1,685 \pm 0,090^a$	$1,816 \pm 0,142^a$
Isoctano	$0,493 \pm 0,025^b$	$0,547 \pm 0,025^b$	$0,473 \pm 0,009^b$
Água	$0,286 \pm 0,012^c$	$0,102 \pm 0,020^c$	$0,441 \pm 0,034^b$
dms*	0,089	0,089	0,089

Médias com letras diferentes dentro da mesma coluna, para uma temperatura específica, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

\*dms: diferença mínima significativa.

Diferindo de todos os casos estudados para a migração dos diferentes plastificantes em simulante água, o ATBC presente no filme de PVC europeu não migrou de forma constante após o quinto dia de contato e sim de forma crescente (Figuras 17-C, 18-C, 19-C e 20-C).

Observou-se que as migrações ocorridas nos simulantes isoctano e água ao final de 15 dias não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ) (Tabela 12), alcançando valores estatisticamente iguais, fato diferenciado das migrações estudadas para os outros plastificantes.

Entre os simulantes água e etanol 95% foi apresentado diferença ( $P < 0,05$ ) quanto às concentrações migradas, mas esta foi menor em média de 3,5 vezes para a migração em simulante água (Tabela 12), fator muito reduzido quando comparado com os plastificantes, DEHA e DEHP em filme brasileiro e DEHA em filme europeu que foram de 1000, 60 e 238 vezes respectivamente (Tabelas 6, 8 e 10).

Estas diferenças apresentadas para a migração do ATBC, como mencionado, podem ser atribuídas ao fato de que o ATBC é um plastificante que apresenta caráter polar mais acentuado comparado com os plastificantes DEHA e DEHP, tendo uma melhor migração quando em contato com solventes polares.

O resultado apresentado está em conformidade com o trabalho de Zygoura et al. (2005) que avaliaram a migração dos plastificantes ATBC e DEHA presentes em filmes de PVC em simulantes água e etanol 10% a 40°C. Estes autores verificaram, após sete dias, uma maior migração do ATBC em ambas simulações. A concentração de ATBC foi maior em 1,55 vezes em simulante água e 1,20 em etanol 10% comparada com o DEHA. Os autores ao variarem a concentração de etanol, observaram uma relação decrescente da migração de ATBC e crescente de DEHA com a elevação de conteúdo alcoólico. Assim, a variação de polaridade da solução simulante favorece a migração dos compostos mais apolares, resultando coerente com os apresentados neste trabalho.

Outro fator que afeta a migração de componentes é o Coeficiente de Difusão (Law e Wong, 2000), mas a literatura dispõe de escassa informação relativa a dados deste coeficiente para os plastificantes estudados nos simulantes em questão. Zygoura et al. (2007) estudando a migração de ATBC e DEHA presente em filme de PVC para o simulante isoctano observaram maior migração do DEHA e atribuíram a diferença de migração à diferença de polaridade entre os plastificantes e o simulante, em conformidade com os resultados do presente trabalho. Estes autores calcularam o Coeficiente de Difusão para os plastificantes ATBC e DEHA contidos no filme de PVC de 10  $\mu\text{m}$  à temperatura de 40°C, relatando os valores de  $4,5 \times 10^{-11}$  e  $2,0 \times 10^{-14}$   $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  para os plastificantes DEHA e ATBC, respectivamente. Estes valores apresentaram coerência com os resultados mostrados nas Tabelas 10 e 12 para o simulante isoctano, onde se verificou maior migração do DEHA comparado com o ATBC em isoctano.

## **4.6 Análise de migração de plastificantes do filme de PVC para os alimentos**

### **4.6.1. Limite de Migração Específica (LME)**

Os Limites de Migração Específica (LME) para os plastificantes DEHA, DEHP e ATBC, segundo ANVISA e a Comunidade Européia (Resolução 105/99 ANVISA; Diretivas 2005/79/CE; 2002/72/CE; Sinopse Documental de 2005/CE), estão apresentados no Tabela 13. Estes valores foram determinados considerando que um quilo de alimento, na forma de um cubo de 10 cm de aresta, tem sua superfície de 6 dm<sup>2</sup> em contato com o material de embalagem. Assim o Limite de Migração Total (LMT), que é de 60 mg.kg<sup>-1</sup> torna-se equivalente a 10 mg.dm<sup>-2</sup>, utilizando um fator de correção de 6 dm<sup>2</sup>.kg<sup>-1</sup>. Essa unidade (mg.dm<sup>-2</sup>) é a recomendada pela Comunidade Européia quando se trabalha com filmes (Diretiva 2002/72/CE).

Grob et al. (2007), após discutiram amplamente as normas da Comunidade Européia para determinação dos limites de migração de compostos presentes em embalagens em contato com alimentos, calcularam o LME para o plastificante DEHA presente em filme de PVC, quando o filme é colocado em contato com pedaços de queijo e salame com áreas de contato e pesos diferentes do especificado nas normas. Estes valores estão apresentados no Tabela 13, juntamente com os LME calculados a partir dos resultados deste trabalho para os plastificantes DEHA, DEHP e ATBC, contidos nos filmes de PVC colocados em contato com queijo mussarela e presunto.

A Tabela 13 será usada nas discussões posteriores de migração dos plastificantes para os alimentos.



Tabela 13 . Limite de Migração Específica (LME) para plastificantes presentes em embalagens em contato com alimentos.

Parâmetros	CE*	Grob et al. (2007)**			Presente trabalho
	Um cubo de alimento	Pedaço de queijo	Salame	Fatia de queijo mussarela ou presunto	
Massa	1000 g	100 g	50 g	10 g	
Dimensão	10 x 10 x 10 cm	10 x 10 x 1 cm	10 x 25 x 0,2 cm	7,0 x 6,5 x 0,17 cm	
Área de contato	6,0 dm <sup>2</sup>	2,4 dm <sup>2</sup>	5,1 dm <sup>2</sup>	0,455 dm <sup>2</sup>	
LME (DEHA)	3 mg.dm <sup>-2</sup> (2002/72 CE)				
LM absoluto	6dm <sup>2</sup> x 3 mg.dm <sup>-2</sup> = 18mg	2,4dm <sup>2</sup> x 3 mg.dm <sup>-2</sup> =7,2mg	5,1dm <sup>2</sup> x3mg.dm <sup>-2</sup> =15,4mg	0,455 dm <sup>2</sup> x 3 mg.dm <sup>-2</sup> = 1,365mg	
LM concentração	18 mg/1000g = 18 mg.kg <sup>-1</sup>	7,2 mg/100g = 72mg.kg <sup>-1</sup>	15,4mg/50g=308mg.kg <sup>-1</sup>	1,365 mg/10g = 136,5 mg.kg <sup>-1</sup>	
LME (DEHP)	0,5 mg.dm <sup>-2</sup> (2002/72 CE)				
LM absoluto	6dm <sup>2</sup> x 0,5 mg.dm <sup>-2</sup> = 3mg	-	-	0,455 dm <sup>2</sup> x 0,5 mg.dm <sup>-2</sup> = 0,228mg	
LM concentração	3mg/1000g =3 mg.kg <sup>-1</sup>	-	-	0,228 mg/10g = 22,8mg.kg <sup>-1</sup>	
LME (ATBC)	0,83 mg.dm <sup>-2</sup> (Sinopse CE de 2005)				
LM absoluto	6dm <sup>2</sup> x0,83 mg.dm <sup>-2</sup> =5mg	-	-	0,455 dm <sup>2</sup> x 0,83 mg.dm <sup>-2</sup> = 0,378mg	
LM concentração	5mg/1000g =5 mg.kg <sup>-1</sup>	-	-	0,378 mg/10g = 37,8 mg.kg <sup>-1</sup>	

\* Comunidade Européia

\*\* Grob, K.; Pfenninger, S.; Pohl, W.; Laso, M.; Imhof, D.; Rieger, K. European legal limits for migration from food packaging materials: 11. Food should prevail over simulants; 2. More realistic conversion from concentrations to limits per surface area. PVC cling films in contact with cheese as an example. *Food Control*. V.18. p.201-10, 2007.

#### 4.6.2. Migração de plastificantes para alimentos

Analisando a migração do plastificante adipato de di-(2-etil-hexila) (DEHA) contido no filme de PVC brasileiro em contato direto com queijo mussarela e presunto, observou-se que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) da concentração migrada entre estes alimentos e em decorrência do tempo de contato (Tabela 14).

Tabela 14 – Resumo da análise de variância do teor de plastificante DEHA ( $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ ) migrado do filme de PVC brasileiro em contato com queijo mussarela e presunto sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Quadrado médio ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )
Alimento	1	4340,1698*	2,1126*
Erro(a)	4	6,4062	0,0031
Tempo	3	434,7522*	0,2088*
Alimento*tempo	3	33,5544 <sup>n.s</sup>	0,0165 <sup>n.s</sup>
Erro(b)	12	17,8742	0,0085

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Observou-se uma maior migração do plastificante DEHA quando este foi colocado em contato com queijo mussarela em comparação ao presunto (Figura 21). Segundo Lau e Wong (2000) o DEHA é uma molécula de caráter apolar e, portanto apresenta maior solubilidade em alimentos com maior teor de gordura. No presente trabalho os teores de gordura do queijo e do presunto foram de 26,5% e 5,0%, respectivamente, fato que, favoreceu a migração do DEHA para o queijo.

Em ambos os alimentos o comportamento da migração foi decrescente com o tempo de armazenamento (Figura 21). Goulas et al. (2006) avaliando a migração do DEHA presente em filme de PVC em pasta de Halva (alimento com teor de gordura de 31,2%) observaram uma migração maior nas primeiras 24 h e um equilíbrio na migração após quatro dias de contato. A partir deste período as concentrações encontradas começaram a decrescer, similar aos resultados do presente trabalho. Os autores sugeriram que pode ter havido

alterações na estrutura e composição do filme com a perda de plastificante de forma a alterar a migração com o passar do tempo.

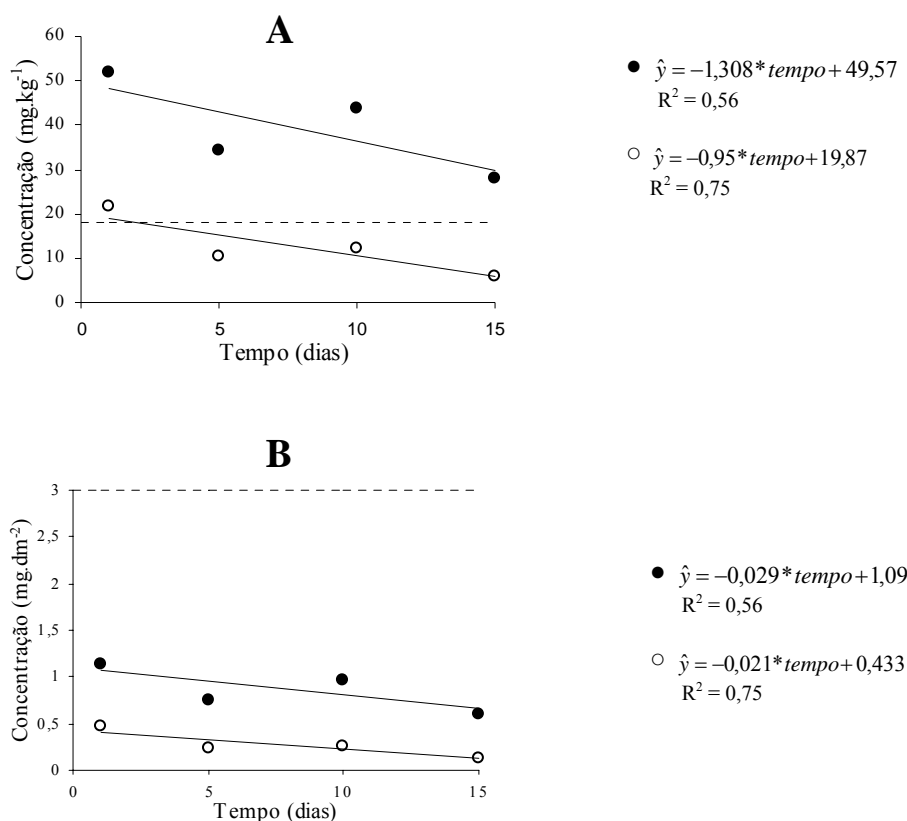


Figura 21 - Migração do plastificante DEHA, presente no filme de PVC brasileiro, expressa em mg.kg<sup>-1</sup> (A) e mg.dm<sup>-2</sup> (B), para queijo mussarela (●) e presunto (○), mantidos sob temperatura de refrigeração (5°C). (-----) Limite de migração específica.

A diminuição da concentração migrada com o tempo, também pode estar relacionada com uma possível reabsorção do plastificante pelo filme (Melo, 2003) ou uma degradação deste plastificante. Essa degradação pode ser de origem enzimática (Chen et al., 2004), seja por enzimas existentes nos alimentos ou produzidas por microrganismos contaminantes dos produtos estudados. No presente trabalho os alimentos apresentaram odor e aparência desagradáveis ao final dos 15 dias de estocagem a 5°C.

Comparando as concentrações migradas do plastificante DEHA com os LME apresentados na Tabela 13 as conclusões foram diferenciadas.

Analisando os resultados fundamentando no LME de  $18 \text{ mg.kg}^{-1}$  para o DEHA, observou-se uma migração excedente para o queijo, variando de 2,7 a 1,6 vezes, no período de um a 15 dias de estocagem. Para o presunto os valores alcançados foram próximos ao LME, excedendo em apenas 15% no tempo de um dia (Figura 21 - A).

Quando o valor do LME é recalculado, tendo por base as 10 g de queijo ou presunto e as dimensões das fatias em contato com o filme, encontrou-se o valor para o LME de  $136,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Tabela 13). Considerando este limite, os valores encontrados de migração do DEHA estão de acordo com a legislação.

Sendo o filme de PVC de baixa espessura ( $10 \mu\text{m}$ ) é recomendado trabalhar com o LME para o DEHA de  $3 \text{ mg.dm}^{-2}$ . Fazendo a conversão das concentrações encontradas no alimento para a quantidade migrada por área do filme, verificou-se que todos os valores estão abaixo do LME estabelecido (Figura 21 - B).

Goulas et al. (2006) avaliaram a migração do plastificante DEHA presente em filme de PVC em contato com pasta de Halva, um alimento gorduroso (teor de gordura de 31,2%), estocada a temperatura de  $25^\circ\text{C}$ , no período de 0,5 a 240 horas. Estes autores comparam a pasta de Halva com queijo devido à similaridade quanto ao teor de gordura (26,5 % para o queijo mussarela). Após quatro dias de contato do filme de PVC com a pasta, foi atingido o equilíbrio de migração onde a concentração de DEHA foi de  $3,31 \text{ mg.dm}^{-2}$  ( $81,8 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Os valores apresentados, em ambos os casos, excedem os LME especificados, mesmo que a adequação do cálculo, sugerida por Grob et al. (2007) e não realizada por Goulas et al. (2006), seja feita, levando a um LME de  $70 \text{ mg.kg}^{-1}$ , o que difere do trabalho apresentado onde o LME somente excedeu o valor na unidade em  $\text{mg.kg}^{-1}$  (Figura 21-A).

Os alimentos queijo mussarela e presunto encontram-se disponíveis no mercado na forma como foram testados neste trabalho, fatias finas e sua superfície em contato direto com filme de PVC. Relacionando a concentração máxima do plastificante DEHA migrada para os alimentos em contato com o filme de PVC brasileiro com o índice de ingestão diária aceitável por peso

corpóreo (IDA) que é de  $0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$  p.c. (CSTEE/98/17), verificou-se ser necessário que uma pessoa de 70 kg ingira diariamente 370 g de queijo e 730 g de presunto, embalados com o filme de PVC brasileiro, para que seja excedido o limite aceitável de DEHA.

Segundo Grob et al. (2007) as autoridades australianas proibiram o uso de PVC plastificado em contato com queijo e carne após dados de elevada migração do plastificante DEHA presentes em filmes de PVC para os alimentos, entorno de  $281 \text{ mg.kg}^{-1}$ , onde apenas 16 amostras de queijo das 86 analisadas apresentaram concentrações de DEHA dentro do limite permitido. Os valores encontrados, neste trabalho, para a concentração migrada de DEHA do filme de PVC brasileiro para queijo mussarela, também excedeu o LME específica, em  $\text{mg.kg}^{-1}$ .

Para o plastificante DEHP, contido também no filme de PVC brasileiro, observou-se, assim como o ocorrido com o DEHA, que houve diferença significância ( $P < 0,05$ ) quanto à migração do plastificante em relação aos alimentos queijo e presunto e com o tempo de contato (Tabela 15).

Tabela 15 – Resumo da análise de variância do teor de plastificante DEHP ( $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ ) migrado do filme de PVC brasileiro em contato com queijo mussarela e presunto sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Quadrado médio ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )
Alimento	1	8,7713*	0,0042*
Erro(a)	4	0,1080	0,00005
Tempo	3	0,8972*	0,0004*
Alimento*tempo	3	1,8033*	0,0009*
Erro(b)	12	0,0463	0,00002

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Observou-se uma maior migração do plastificante DEHP, quando este foi colocado em contato com queijo em comparação ao presunto (Figura 22). Assim como o DEHA, o DEHP é uma molécula de caráter apolar, portanto apresenta maior solubilidade em alimentos com maior teor de gordura (Goulas et al., 2006; Gómez-Hens e Aguilar-Caballo, 2003).

O comportamento da migração apresentou uma tendência decrescente com o incremento do tempo para o queijo e para o presunto. Porém, para o presunto, devido a uma baixa migração apresentada no tempo inicial de um dia, ocasionou um ajuste de equação quadrática para este alimento (Figura 22).

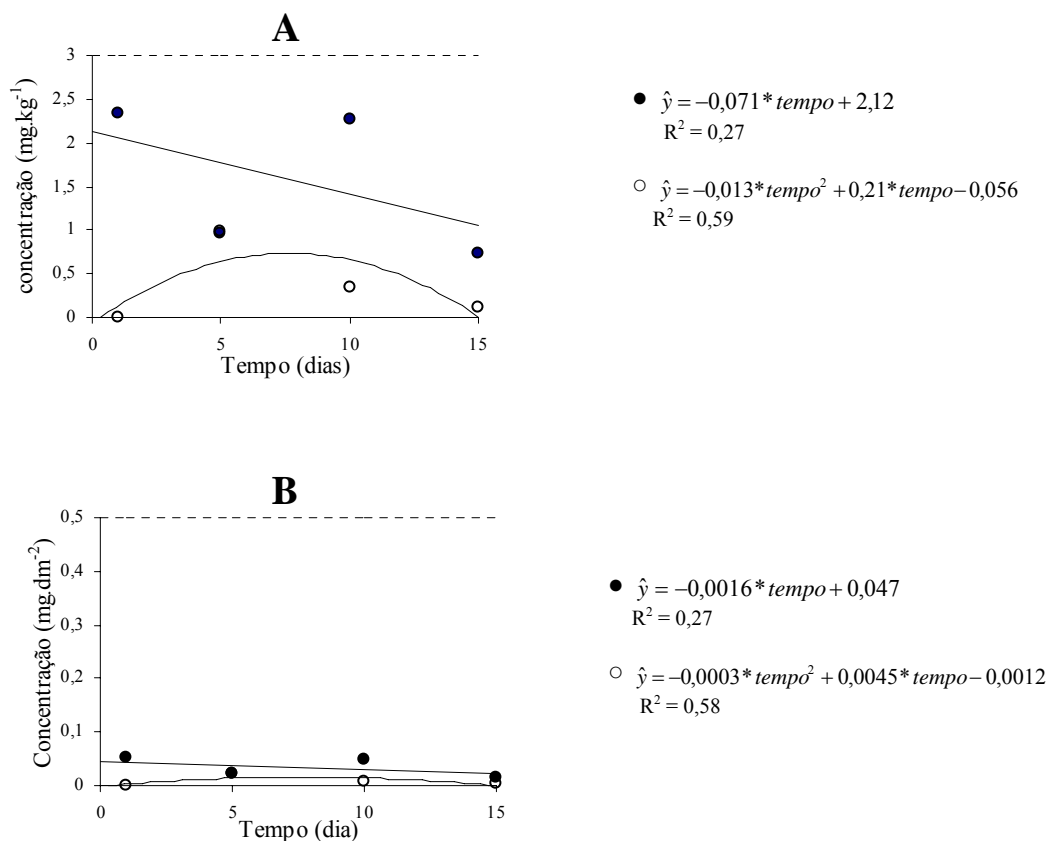


Figura 22 - Migração do plastificante DEHP, presente no filme de PVC brasileiro, expressa em mg.kg<sup>-1</sup> (A) e mg.dm<sup>-2</sup> (B), para queijo mussarela (●) e presunto (○), mantidos sob temperatura de refrigeração (5°C). (-----) Limite de migração específica.

Chen et al. (2004) avaliaram a migração de DEHP presente em bolsas de sangue estocadas à temperatura ambiente e reportaram as concentrações de 22,6 a 7,57 mg.kg<sup>-1</sup> nos tempos de cinco e 15 dias, respectivamente, sendo observada uma diminuição da concentração de DEHP com o tempo, similar aos resultados encontrados neste trabalho. Estes autores atribuíram este fato a

possibilidade de degradação enzimática proveniente das enzimas do sangue. No presente trabalho pode ter ocorrido também uma degradação enzimática, seja por enzimas existentes nos alimentos ou produzidas por microrganismos contaminantes dos produtos estudados. Os alimentos apresentaram odor e aparência desagradáveis ao final dos 15 dias de estocagem a 5°C.

A variação da migração, observada com o tempo, pode também estar relacionada com o processo de plastificação e homogeneização do composto no polímero (Zygoura et al., 2007; Marcilla et al., 2004), assim como modificações na estrutura e composição do filme com a perda de plastificante de forma a alterar a migração com o passar do tempo (Zygoura et al., 2007; Goulas et al., 2006).

Badeka et al. (1999) obtiveram resultados com elevada variação quando avaliaram a migração de DEHA presente em filme de PVC e de ATBC em filme de PVdC, ambos em contato com pizza. Os autores atribuíram o comportamento a não uniformidade do alimento, fato que pode também ter ocorrido nos estudos apresentados neste trabalho.

Fazendo a comparação das concentrações migradas do plastificante DEHP com os LME de 3 mg.kg<sup>-1</sup>, o recalculado de 22,8 mg.kg<sup>-1</sup> e o de 0,5 mg.dm<sup>-2</sup> (Tabela 1), em todos os casos estudados os valores encontrados não excederam o permitido (Figura 22).

Os alimentos queijo mussarela e presunto encontram-se disponíveis no mercado na forma como foram testados neste trabalho, fatias finas e sua superfície em contato direto com filme de PVC. Relacionando a concentração máxima do plastificante DEHP migrada para os alimentos com o IDA, que é de 0,05 mg.kg<sup>-1</sup> p.c. (Fankhauser-Noti e Grob, 2006; ACF, 2003), verificou-se ser necessário que uma pessoa de 70 kg ingira, diariamente, 1,3 kg de queijo e 2,8 kg de presunto, embalados com o filme de PVC brasileiro, para que seja excedido o limite aceitável.

Apesar do trabalho apresentado ter mostrado valores de DEHP abaixo do LME nos alimentos que estiveram em contato com embalagem de PVC plastificanda, este plastificante tem chamando a atenção por ter sido alvo de

vários estudos onde os resultados indicaram sua presença em concentrações excessivas em materiais de PVC, em alimentos após contato com embalagens contendo o plastificante, identificaram sua presença no organismo humano, além de estudos toxicológicos com resultados de intoxicação pelo DEHP em de animais (Tsumura et al., 2001; Freire et al., 2004; Credendio, 2004; Bouma e Schakel, 2002; Voss et al., 2005; Dhanya et al., 2003; Latini et al., 2003; Magliozzi et al., 2003; Whal et al., 1999; Wahl et al., 2004). Autores como Zygoura et al. (2007) e Goulas et al. (2006) fizeram referência aos plastificantes DEHA e ATBC como os mais utilizados na produção de PVC plastificado, o que demonstra a restrição, atual, quanto ao uso do plastificante DEHP nos países europeus, fato que ainda não ocorre no Brasil.

Outro filme analisado foi o PVC europeu, este filme continha em sua estrutura os plastificantes, DEHA e citrato de acetil-tribulila (ATBC).

O comportamento da migração do plastificante DEHA contido no filme de PVC europeu foi o mesmo do contido no filme brasileiro, tendo como variação os teores de plastificante migrados.

Houve também diferença significativa ( $P < 0,05$ ) da concentração migrada entre os alimentos queijo e presunto e no decorrer do tempo de contato dos filmes com os alimentos (Tabela 16).

Tabela 16 – Resumo da análise de variância do teor de plastificante DEHA ( $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ ) migrado do filme de PVC europeu em contato com queijo mussarela e presunto sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Quadrado médio ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )
Alimento	1	343,3285*	0,1840*
Erro(a)	4	1,1401	0,0012
Tempo	3	40,7875*	0,0180*
Alimento*tempo	3	2,2220 <sup>n.s</sup>	0,0013 <sup>n.s</sup>
Erro(b)	12	0,81590	0,0009

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Observou-se uma maior migração do plastificante DEHA do filme de PVC europeu para o queijo em comparação ao presunto (Figura 23), devido



provavelmente ao caráter apolar desta molécula, que a permite ter maior solubilidade em alimentos com maior teor de gordura, no presente trabalho o queijo mussarela apresentou teor de gordura de 26,5 % e o presunto 5,0%.

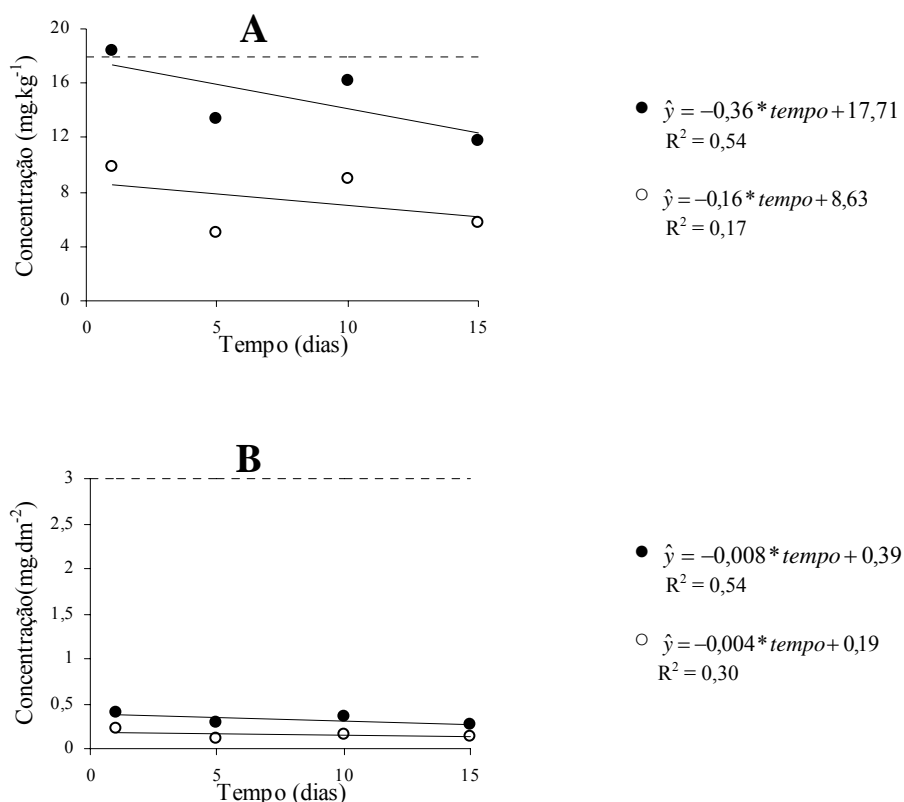


Figura 23 - Migração do plastificante DEHA, presente no filme de PVC europeu, expressa em mg.kg<sup>-1</sup> (A) e mg.dm<sup>-2</sup> (B), para queijo mussarela (●) e presunto (○), mantidos sob temperatura de refrigeração (5°C). (-----) Limite de migração específica.

As concentrações de DEHA migradas foram menores para o filme europeu comparado com o brasileiro. Os valores são coerentes com os resultados de migração em simulantes apresentados no item 4.5, onde o filme europeu também apresentou menor migração.

Assim como o ocorrido com a migração do DEHA presente no filme brasileiro, para ambos os alimentos, o comportamento da migração deste

plastificante do filme europeu também foi decrescente com o tempo de armazenamento (Figura 23), podendo ser feito os mesmos comentários apresentados anteriormente para o filme brasileiro.

Nos casos estudados, os dados de concentrações migradas do plastificante DEHA não excederam o LME, de  $18 \text{ mg.kg}^{-1}$ , o recalculado de  $136,5 \text{ mg.kg}^{-1}$  e  $3 \text{ mg.dm}^{-2}$  (Tabela 13, Figura 23). Porém, tomando por base o LME de  $18 \text{ mg.kg}^{-1}$ , observou-se uma migração do DEHA próxima deste limite para o valor máximo apresentado pelo queijo,  $18,4 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Figura 23 - A), para o presunto nenhum valor excedeu o LME, no período de um a 15 dias de estocagem.

Os dados do trabalho de Goulas et al. (2006), descritos anteriormente, apresentaram valores migrados do DEHA para pasta de Halva excedentes a todos os LME para este plastificante, contradizendo os resultados apresentados neste estudo.

Os alimentos queijo mussarela e presunto encontram-se disponíveis no mercado da forma como foram testados neste trabalho, fatias finas e sua superfície em contato direto com o filme de PVC. Relacionando a concentração máxima do plastificante DEHA migrada para os alimentos com seu IDA que é de  $0,3 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.c.}$  (CSTEE/98/17), verificou-se ser necessário que uma pessoa de 70 kg ingira diariamente 1 kg de queijo mussarela e 2 kg de presunto, embalados com o filme de PVC europeu, para que seja excedido o limite aceitável.

Para o plastificante ATBC, também presente no filme europeu, observou-se que a migração deste plastificante, quando o filme foi colocado em contato direto com queijo mussarela e presunto, não apresentou diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre os alimentos com o tempo (Tabela 17), diferindo do comportamento apresentado pelos plastificantes DEHA e DEHP estudados anteriormente.

Tabela 17 – Resumo da análise de variância do teor de plastificante ATBC ( $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ ) migrado do filme de PVC europeu em contato com queijo mussarela e presunto sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ).

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Quadrado médio ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )
Alimento	1	2,1534 <sup>n.s</sup>	0,0010 <sup>n.s</sup>
Erro(a)	4	1,8164	0,0009
Tempo	3	1,2623 <sup>n.s</sup>	0,0006 <sup>n.s</sup>
Alimento*tempo	3	2,2674 <sup>n.s</sup>	0,0011 <sup>n.s</sup>
Erro(b)	12	1,0801	0,0005

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

As migrações do plastificante ATBC apresentaram comportamento constante com o tempo tanto para o queijo mussarela quanto para o presunto ( $P > 0,05$ ), como mostrado na Figura 24.

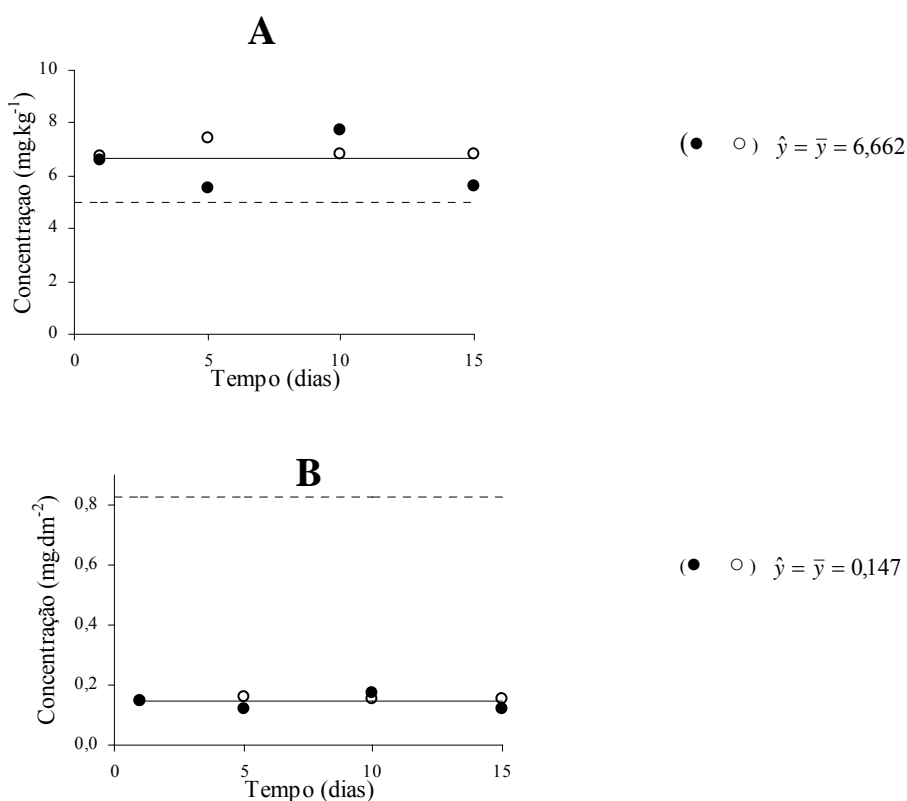


Figura 24 - Migração do plastificante ATBC, presente no filme de PVC europeu, expressa em  $\text{mg.kg}^{-1}$  (A) e  $\text{mg.dm}^{-2}$  (B), para queijo mussarela (●) e presunto (○), mantidos sob temperatura de refrigeração ( $5^{\circ}\text{C}$ ). (-----) Limite de migração específica.

Goulas et al. (2006) observaram para o ATBC presente em filme de PVC uma migração para o alimento pasta de Halva (alimento com teor de gordura de 31,2%) maior nas primeiras 24 h e um equilíbrio após quatro dias de contato que manteve-se constante no decorrer do experimento (10 dias). Fato semelhante ao apresentado neste trabalho.

Diferente das migrações dos plastificantes DEHA e DEHP, para o ATBC, na maioria dos tempos avaliados, observou-se uma tendência de maior migração quando o filme foi colocado em contato com o presunto. Sendo o plastificante ATBC uma molécula de caráter polar e verificando os teores de gordura presentes no queijo e no presunto usados neste trabalho, 26,5% e 5,0%, respectivamente, justifica-se a tendência de maior migração ocorrida do ATBC presente no filme de PVC europeu, para o presunto. Ainda assim, a diferença da concentração migrada entre os alimentos foi baixa, fato que pode ser associado a uma baixa concentração do ATBC adicionada no filme no processo de produção (Goulas et al., 2006).

Comparando as concentrações migradas do plastificante ATBC com os LME apresentados no Tabela 13 foi possível observar, para os resultados com base no LME de  $5 \text{ mg.kg}^{-1}$ , uma migração excedente para o queijo mussarela e para o presunto, em média de 1,3 vezes (33,2% maior) o valor de LME (Figura 24 – A).

Quando o valor do LME foi recalculado, para ajustes quanto à relação da massa do alimento com a superfície de contato com o filme, o valor de  $37,77 \text{ mg.kg}^{-1}$  foi atingido (Tabela 13). Considerando este limite, todos os valores encontrados de migração do ATBC estão de acordo com a legislação.

Sendo o filme de PVC europeu de baixa espessura ( $10 \mu\text{m}$ ) é recomendado trabalhar com o LME de  $0,83 \text{ mg.dm}^{-2}$ . Fazendo a conversão das concentrações encontradas no alimento para a quantidade migrada por área do filme, verificou-se que todos os valores estão abaixo do LME estabelecido (Figura 24 - B).

Os alimentos queijo mussarela e presunto encontram-se disponíveis no mercado na forma como foram testados neste trabalho, fatias finas e sua

superfície em contato direto com filme de PVC. Relacionando a concentração máxima do plastificante ATBC migrada para os alimentos em contato como o filme de PVC europeu com seu IDA, que é de  $0,05 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ p.c.}$  (Fankhauser-Noti e Grob, 2006; Sinopse Documental CE/2005), verificou-se ser necessário que uma pessoa de 70 kg ingira, diariamente, 410 g de queijo e 440 g de presunto, embalados com o filme de PVC europeu, para que seja excedido o limite para o ATBC.

Goulas et al. (2006) avaliaram a migração do plastificante ATBC presente em filme de PVC em contato com pasta de Halva, alimento gorduroso (teor de gordura de 31,2%), estocado a temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ , no período de 0,5 a 240 h. Estes autores comparam a pasta de Halva com queijo devido à similaridade quanto ao teor de gordura, no trabalho apresentado o queijo mussarela apresentou teor de gordura de 26,5%. Após quatro dias contato do filme de PVC com a pasta de Halva, foi atingido o equilíbrio de migração onde a concentração de ATBC foi de  $1,46 \text{ mg.dm}^{-2}$  ( $36,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ ). Os valores apresentados, em ambos os casos, excederam os LME especificados apresentados neste trabalho (Quadro 1), mesmo que o recálculo, sugerido por Grob et al. (2007) e não realizado por Goulas et al. (2006), seja feito, apresentando o LME de  $19,36 \text{ mg.kg}^{-1}$ , diferindo do presente trabalho onde o valor excedeu apenas com relação a concentração em  $\text{mg.kg}^{-1}$  (Figura 24 – A). Vale ressaltar que os filmes de PVC avaliados são diferentes nos distintos trabalhos, podendo sua concentração de ATBC ser diferenciada assim como espessura, processos de produção, etc ..., todos fatores que interferem no processo de migração dos componentes. Goulas et al. (2006) não consideram limites para o plastificante ATBC e o indicam como substituinte ao DEHA como plastificante para uso em PVC, mas mencionam sua possível toxicidade quando ingerido em altas concentrações.

## **4.7. Comparação do teor de plastificante migrado para o simulante e para o alimento.**

### **4.7.1. Considerações gerais**

Segundo as normas brasileiras, resolução 105/99 ANVISA, e da Comunidade Européia, Diretivas 2002/72, 82/711 e 85/572 CEE, os alimentos queijo mussarela e presunto, são classificados como alimentos do Tipo IIIa, que são aquosos não ácidos ( $\text{pH} > 5,0$ ) contendo óleo ou gordura. Neste caso eles podem ser simulados utilizando soluções como água destilada, simulante A e óleo de oliva, n-heptano, etanol 95% ou isoctano denominados simulante D. Neste trabalho a opção foi pelo uso dos simulantes etanol 95%, isoctano e água.

Os alimentos queijo mussarela e presunto são alimentos que entram em contato com a embalagem por mais de 24 h e são estocados sob refrigeração. Assim, por regulamentação os testes de migração são realizados com o tempo de 10 dias à temperatura de 20°C para os simulantes água e etanol 95%, enquanto que para o simulante isoctano o tempo deve ser reduzido para 24 h, sob a mesma temperatura.

Os simulantes D têm poder extrator maior que dos alimentos os quais simulam, por esta razão são indicados fatores de redução (DRF) de acordo com o teor de gordura do alimento, para corrigir a migração excessiva. Para a simulação do queijo mussarela a quantidade migrada deve ser dividida pelo fator três e para o presunto o fator é quatro. É indicada uma relação de 2 a 0,5  $\text{cm}^2$  de filme /mL simulante, neste trabalho foi utilizado  $0,6 \text{ cm}^2 \cdot \text{mL}^{-1}$

As migrações foram mais expressivas quando utilizado os simulantes graxos (Item 4.5), assim as análises a posteriori foram realizadas apenas com os simulantes etanol 95% e isoctano.

Para comparação do teor migrado de cada plastificante para os simulantes e para os alimentos foi considerada a maior concentração

encontrada no alimento, independente do tempo em que essa concentração tenha sido alcançada (Item 4.6).

Os resultados das migrações foram avaliados considerando as concentrações em  $\text{mg.dm}^{-2}$  e  $\text{mg.kg}^{-1}$ , assim como foram realizadas as análises no item 4.6. A concentração em  $\text{mg.dm}^{-2}$  é citada por ser a forma recomendada pela legislação para análises de filmes de baixa espessura. Enquanto que a concentração em  $\text{mg.kg}^{-1}$  está relacionada com a migração dos plastificantes para o queijo mussarela e presunto na forma fatiada envolto em filme de PVC, uma das maneiras de comercialização.

#### 4.7.2. Migração dos plastificantes

Utilizando o filme de PVC brasileiro os plastificantes avaliados foram adipato de di-(2-etil-hexila) (DEHA) e ftalato de di-(2-etil-hexila) (DEHP).

Observou-se que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) para a migração dos plastificantes para ambos simulantes, etanol 95% e isoctano para as simulações do queijo mussarela ou do presunto (Tabela 18).

Verificando as concentrações, em  $\text{mg.dm}^{-2}$ , do plastificante DEHA presente no filme brasileiro migrado para os simulantes do queijo mussarela, observou-se que a média da concentração migrada para o simulante etanol 95% excedeu o limite de migração específico (LME) e para o simulante isoctano este valor encontrou-se muito próximo deste limite e, se considerar o desvio da média o valor máximo alcançado também foi excedido. Neste caso, a concentração migrada para o queijo está abaixo do LME. Quando verificada a concentração em  $\text{mg.kg}^{-1}$  todos os valores médios encontraram-se acima do LME determinado (Tabela 18).

Nos casos testados para a migração do plastificante DEHP presente no filme de PVC brasileiro, fazendo simulação ao queijo mussarela, todos os valores médios encontrados ficaram abaixo do LME, seja em  $\text{mg.dm}^{-2}$  ou  $\text{mg.kg}^{-1}$  (Tabela 18).

Tabela 18 – Média das concentrações migradas dos plastificantes contidos no filme de PVC brasileiro quando em contato com queijo mussarela, presunto e em suas simulações em etanol 95% e isoctano.

Plastificante	Simulante ou alimento	Concentração (mg.dm <sup>-2</sup> )	LME* (mg.dm <sup>-2</sup> )	Concentração (mg.kg <sup>-1</sup> )	LME* (mg.kg <sup>-1</sup> )
DEHA	Etanol 95%	3,085 ± 0,860 <sup>a</sup>	3,00	23,290 ± 6,532 <sup>b</sup>	18,00
	Isoctano	2,751 ± 0,434 <sup>a</sup>		23,924 ± 3,777 <sup>b</sup>	
	Queijo	1,141 ± 0,100 <sup>b</sup>		51,879 ± 4,338 <sup>a</sup>	
	dms**	1,401		12,588	
DEHP	Etanol 95%	0,178 ± 0,050 <sup>a</sup>	0,50	1,354 ± 0,346 <sup>a</sup>	3,00
	Isoctano	0,276 ± 0,063 <sup>a</sup>		2,396 ± 0,548 <sup>a</sup>	
	Queijo	0,051 ± 0,007 <sup>b</sup>		2,332 ± 0,320 <sup>a</sup>	
	dms**	0,113		1,045	
DEHA	Etanol 95%	2,314 ± 0,645 <sup>a</sup>	3,00	17,572 ± 4,890 <sup>a</sup>	18,00
	Isoctano	2,063 ± 0,326 <sup>a</sup>		17,943 ± 2,833 <sup>a</sup>	
	Presunto	0,472 ± 0,157 <sup>b</sup>		21,650 ± 7,176 <sup>a</sup>	
	dms**	1,069		13,218	
DEHP	Etanol 95%	0,134 ± 0,034 <sup>a</sup>	0,50	1,016 ± 0,260 <sup>a,b</sup>	3,00
	Isoctano	0,207 ± 0,047 <sup>a</sup>		1,797 ± 0,411 <sup>a</sup>	
	Presunto	0,021 ± 0,006 <sup>b</sup>		0,982 ± 0,263 <sup>b</sup>	
	dms**	0,084		0,799	

Médias com letras diferentes dentro da mesma coluna, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

\*\*dms: diferença mínima significativa.

\*Limite de Migração Específica, segundo a União Européia, fonte indicada para consulta em conformidade com a ANVISA.

Considerando a concentração em mg.kg<sup>-1</sup>, não foi observada diferença significativa (P>0,05) entre os simulantes e o queijo, indicando, neste caso, que os simulantes representaram adequadamente o alimento (Tabela 18).

Trabalhando com a migração dos plastificantes contidos no filme de PVC brasileiro para simulação do alimento presunto, observou-se resultados diferenciados das simulações para o queijo.

O plastificante DEHA contido no filme brasileiro, avaliado quanto à migração, em mg.dm<sup>-2</sup>, para a simulação do presunto apresentou todos os valores médios abaixo do LME, inclusive a migração quando em contato direto com o alimento que exibiu valor ainda menor que os dos simulantes. Porém, verificando a migração em mg.kg<sup>-1</sup> os resultados merecem avaliação criteriosa. Para os simulantes, os valores estão abaixo do LME, mas, muito próximos destes e, ao considerar os desvios das médias, os valores máximos alcançados excederão este limite; adicionalmente, a concentração encontrada



para a migração quando em contato direto com o presunto excedeu o LME. Estatisticamente, não há diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os simulantes e o presunto quando avaliado em  $\text{mg.kg}^{-1}$ , logo pode-se considerar que os valores migrados excederam o LME e que, neste caso, os simulantes representaram adequadamente o alimento (Tabela 18).

A migração do DEHP contido no filme de PVC brasileiro para os simulantes do presunto e para o próprio alimento apresentou todos os valores médios abaixo do LME, seja em  $\text{mg.dm}^{-2}$  ou  $\text{mg.kg}^{-1}$ . Porém, somente foi verificada representação adequada do simulante para o presunto ( $P>0,05$ ) quando a migração conduzida em etanol 95% e a concentração avaliada em  $\text{mg.kg}^{-1}$  (Tabela 18).

Utilizando o filme de PVC europeu, os testes de migração, em simulantes dos alimentos queijo mussarela e presunto (etanol 95% e isoctano) e para os referidos alimentos, foram realizados avaliando os plastificantes DEHA e acetil-tributil citrato (ATBC).

Ao contrário do ocorrido com o filme brasileiro, nas migrações com o filme europeu houve diferença significativa ( $P<0,05$ ) para a migração dos plastificantes com ambos simulantes, etanol 95% e isoctano, em todos os casos testados (Tabela 19).

A migração do DEHA do filme europeu avaliada, em  $\text{mg.dm}^{-2}$ , para a simulação de queijo mussarela apresentou todos os valores médios abaixo do LME. E, quando o filme foi colocado em contato direto com o alimento a migração não diferiu significativamente ( $P>0,05$ ) do simulante etanol 95%, nesse caso foi verificada uma representação adequada desse simulante com o queijo. Quando a migração foi avaliada em  $\text{mg.kg}^{-1}$ , também foi observado valores médios abaixo do LME para ambos os simulantes, porém, a concentração migrada para o queijo quando este esteve em contato com o filme excedeu o LME de 2,2 a 2,5% (Tabela 19).

Tabela 19 – Média das concentrações migradas dos plastificantes contidos no filme de PVC europeu quando em contato com queijo mussarela, presunto e em suas simulações em etanol 95% e isoctano.

Plastificante	Simulante ou alimento	Concentração (mg.dm <sup>-2</sup> )	LME* (mg.dm <sup>-2</sup> )	Concentração (mg.kg <sup>-1</sup> )	LME* (mg.kg <sup>-1</sup> )
DEHA	Etanol 95%	0,462 ± 0,042 <sup>b</sup>	3,00	3,507 ± 0,322 <sup>c</sup>	18,00
	Isoctano	0,742 ± 0,161 <sup>a</sup>		6,449 ± 1,405 <sup>b</sup>	
	Queijo	0,406 ± 0,008 <sup>b</sup>		18,406 ± 0,398 <sup>a</sup>	
	dms**	0,242		2,162	
ATBC	Etanol 95%	0,562 ± 0,030 <sup>a</sup>	0,83	4,266 ± 0,228 <sup>b</sup>	5,00
	Isoctano	0,283 ± 0,055 <sup>b</sup>		2,458 ± 0,482 <sup>c</sup>	
	Queijo	0,170 ± 0,017 <sup>c</sup>		7,743 ± 0,785 <sup>a</sup>	
	dms**	0,094		1,372	
DEHA	Etanol 95%	0,346 ± 0,032 <sup>b</sup>	3,00	2,630 ± 0,242 <sup>c</sup>	18,00
	Isoctano	0,556 ± 0,121 <sup>a</sup>		4,836 ± 1,053 <sup>b</sup>	
	Presunto	0,216 ± 0,019 <sup>b</sup>		9,824 ± 0,870 <sup>a</sup>	
	dms**	0,183		2,006	
ATBC	Etanol 95%	0,421 ± 0,023 <sup>a</sup>	0,83	3,199 ± 0,170 <sup>b</sup>	5,00
	Isoctano	0,212 ± 0,042 <sup>b</sup>		1,844 ± 0,361 <sup>c</sup>	
	Presunto	0,163 ± 0,013 <sup>b</sup>		7,406 ± 0,574 <sup>a</sup>	
	dms**	0,071		1,372	

Médias com letras diferentes dentro de mesma coluna, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

\*\*dms: diferença mínima significativa.

\*Limite de Migração Específica, segundo a União Européia, fonte indicada para consulta em conformidade com a ANVISA.

Avaliando a migração do plastificante ATBC do filme europeu, em simulação ao queijo mussarela, considerando a concentração em mg.dm<sup>-2</sup>, todos os valores médios encontraram-se abaixo do LME. Quando foi avaliada a migração em mg.kg<sup>-1</sup>, também foi observado valores médios abaixo do LME para ambos os simulantes, porém, quando o filme foi colocado em contato com o queijo a concentração migrada excedeu de 54 a 70% o LME, como o ocorrido com a migração do DEHA (Tabela 19).

Para a migração deste plastificante, foi observado que além de apresentar diferença significativa (P<0,05) entre as migrações para os simulantes, essa diferença foi mantida quando se fez a comparação da migração ocorrida do plastificante para o queijo em contato com o filme, em ambas as concentrações, mg.dm<sup>-2</sup> e mg.kg<sup>-1</sup>, verificando uma representação não adequada entre os simulantes e o alimento (Tabela 19).

Trabalhando com a migração dos plastificantes contidos no filme de PVC europeu para simulantes do alimento presunto, observou-se resultados pouco diferenciados quanto às simulações para o queijo.

Nos casos testados para a migração do DEHA do filme europeu, em simulação ao presunto, todos os valores médios encontrados estiveram abaixo do LME, seja em  $\text{mg.dm}^{-2}$  ou  $\text{mg.kg}^{-1}$ . Considerando a concentração em  $\text{mg.dm}^{-2}$ , assim como o ocorrido quando em simulação ao queijo, quando o filme foi colocado em contato com presunto, não foi observada diferença significativa ( $P>0,05$ ) na migração entre o simulante etanol 95% e o alimento, verificando-se uma representação adequada deste simulante com o presunto (Tabela 19).

A migração do ATBC do filme europeu avaliado quanto à migração, em  $\text{mg.dm}^{-2}$ , para a simulação de presunto apresentou todos os valores médios abaixo do LME. E a migração quando o filme foi colocado em contato com o alimento não diferiu significativamente ( $P>0,05$ ) do simulante isoctano, nesse caso foi verificada uma representação adequada deste simulante como o presunto. Quando a migração foi avaliada em  $\text{mg.kg}^{-1}$ , também foi observado valores médios abaixo do LME para ambos os simulantes; porém, a concentração migrada para o presunto quando este ficou em contato com o filme excedeu o LME de 48 a 60%, como o ocorrido para a migração deste plastificante para o queijo (Tabela 19).

Em ambos os alimentos estudados, queijo mussarela e presunto, foi verificada alta concentração, em  $\text{mg.kg}^{-1}$ , dos plastificantes nos alimentos quando os filme foram mantidos em contato direto com eles.

Grob et al. (2007), chamaram atenção quanto a relação real entre a utilização da embalagem e a forma como os estudos de migração são conduzidos, fato também questionado neste trabalho. Estes autores discorreram quanto à forma de utilização dos filmes de PVC no mercado, geralmente como embalagens para pequenas porções de alimentos, como o avaliado no presente trabalho, onde foi utilizado o filme de PVC para embalar fatias dos alimentos. Desta forma o alimento se encontra com uma superfície

de contato em relação ao peso do produto, maior que o estabelecido para determinação dos LME.

Grob et al. (2007) mostraram resultados de migração do plastificante DEHA, presente em filme de PVC, em contato com queijo. Nos experimentos foram usadas peças de 100 g de queijo com área de 2,4 dm<sup>2</sup> em contato com o filme, em não conformidade com as regulamentações estabelecidas, segundo as quais um quilo de alimento deve ser envolvido em 6 dm<sup>2</sup> de área pelo filme a ser testado (Diretiva 2002/72 CE), assim como este trabalho que utilizou fatias de queijo. Estes autores também fizeram a simulação do queijo em óleo de oliva. Os resultados apresentados por Grob et al. (2007), em mg.dm<sup>-2</sup>, liberaram a utilização de 80% dos filmes testados quando foi observada a migração do DEHA em simulante; porém, considerando a migração para o alimento queijo, somente 40% destes filmes poderiam ser utilizados. No presente trabalho, o filme de PVC brasileiro apresentou migração do DEHA também excedente ao LME em simulante, porém, quando este filme esteve em contato com fatias de queijo assim como quando utilizado o filme de PVC europeu, o LME em mg.dm<sup>-2</sup> não foi excedido em nenhum dos casos.

Fankhauser-Noti e Grob (2006) avaliaram a migração dos plastificantes DEHA, DEHP, ATBC, entre outros, presentes em sistemas de fechamento de embalagem de alimentos para os produtos armazenados nestas embalagens. O PVC era parte integrante da embalagem. Foram recolhidas amostras dos produtos existentes no mercado que estavam no final do seu prazo de validade. Nos casos estudados onde foram detectados os plastificantes DEHA, DEHP e ATBC todos excederam os LME. Diferente dos resultados encontrados neste trabalho, quando filmes de PVC estiveram em contato direto com as fatias de queijo mussarela e presunto, os valores médios das concentrações migradas dos plastificantes DEHA, DEHP e ATBC nem sempre foram excedentes aos respectivos LME, em mg.kg<sup>-1</sup> (Tabelas 18 e 19). Estes autores reportaram que foi encontrado o plastificante DEHA em concentrações de 80 e 115 mg.kg<sup>-1</sup> em conservas de alho em óleo, o DEHP em concentrações de 20, 20, 430, 415 e 140 mg.kg<sup>-1</sup> em conservas de azeitona em óleo, mexilhão em óleo, molho a

base de azeite e queijo e conserva de atum em óleo, respectivamente, e o ATBC a uma concentração de  $225 \text{ mg.kg}^{-1}$  em conserva de mexilhão em óleo.

Nos testes de simulação de alimentos para avaliação da migração de aditivos contidos em materiais de embalagem deve-se assumir o pior caso, a fim de garantir que os simulantes extraíam quantidades similares, ou maiores, que os alimentos e assim, possa contribuir para a regulamentação de limites de migração e, conseqüentemente para a segurança alimentar (Grob et al., 2007; Fankhauser-Noti e Grob, 2006). Para as amostras avaliadas neste trabalho, considerando a concentração em  $\text{mg.dm}^{-2}$  (forma regulamentada para os estudos de migração de aditivos contidos em filmes de baixa espessura), observou-se que as quantidades encontradas nos alimentos para a migração dos plastificantes de ambos os filmes, brasileiro e europeu, foram menores que as concentrações encontradas nos simulantes (Tabelas 18 e 19). Fato que não ocorreu quando observado a concentração em  $\text{mg.kg}^{-1}$ , como o ocorrido nos resultados apresentados por Fankhauser-Noti e Grob (2006). Estes autores avaliaram a migração dos plastificantes DEHA, DEHP e ATBC, presentes em sistemas de fechamento de embalagem de alimentos onde o PVC era parte integrante, utilizando como simulante óleo de oliva, os valores alcançados foram menores que aqueles encontrados para a migração em contato direto com os alimentos. Os autores discutiram quanto a real relação tempo/temperatura avaliadas que foi de  $40^\circ\text{C}/10$  dias e eles indicaram ser mais adequado para o tipo de produto, com longo prazo de validade, uma relação de  $60^\circ\text{C}/20$  dias.

Diferenças nas concentrações migradas dos plastificantes para os diversos simulantes foram observadas. Considerando que há diferença no comportamento da migração de compostos distintos quando se altera os meios simulantes, as normas estabelecem que seja feita a inferência da migração de maior expressão. Tal ocorrência esta relacionada com o poder extração dos compostos químicos que variam dependendo de sua estrutura química, da natureza dos compostos que se deseja extrair e do tempo de contato (Fankhauser-Noti e Grob, 2006). Estes fatos, não são negligenciado pelas

legislações. A exemplo tem-se a abordagem feita pela Diretiva 2002/72, CE, onde define tempos diferentes para análises de migração em distintos simulantes, como o aplicado neste trabalho, onde para o isoctano o tempo de contato foi de 24 h e para o etanol 95% de 10 dias, a uma mesma temperatura, para avaliação de migração de um mesmo composto.

A concentração dos aditivos presente no material, assim como seu processo de inserção e homogeneização no polímero, podem interferir na migração destes compostos (Zygoura et al., 2007; Goulas et al., 2006, Marcilla et al., 2004). Estas são possíveis justificativas para os comportamentos da migração apresentadas neste trabalho. Como exemplo tem-se o plastificante DEHA que é comum aos dois filmes de PVC testados. Para o filme brasileiro a migração não apresentou diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os simulantes, enquanto que para o europeu essa diferença foi significativa ( $P > 0,05$ ) sendo 50% maior em simulante isoctano (Tabelas 18 e 19).

Outro ponto a ser abordado é o uso dos fatores de redução (DRF). Grob et al. (2007) discutiram a utilização dos DRF fazendo comparação de resultados de migração em simulantes que estariam acima do LME quando estes fatores não são utilizados. Mencionaram, também, que na Suíça existe uma certa resistência quanto à aceitação de resultados quando utilizados os DRF. Em alguns casos estudados neste trabalho se o DRF não fosse considerado as concentrações encontradas nos simulantes excederiam os LME.

Os filmes de PVC plastificados, têm reduzida espessura, em torno de  $10\mu\text{m}$ , e, como conseqüência apresentam uma migração facilitada de seus componentes. Por esta razão questiona-se a utilização do DRF quando é feita a simulação da migração de seus aditivos. Porém, nem sempre os filmes de PVC são utilizados em queijo, presunto ou similares. Quando em contato com outros alimentos o poder de extração pode ser bem reduzido sendo então necessário usar o fator reducional para a simulação.

Com os resultados alcançados nas análises de migração dos plastificantes DEHA e DEHP do filme de PVC brasileiro, considerando a

concentração em  $\text{mg.dm}^{-2}$ , que é a recomendada pelas normas estabelecidas para este tipo de estudo (Resolução 105/99 ANVISA; Diretivas 2002/72, 82/711 e 85/572 CEE), este filme não está adequado à utilização em contato com queijo mussarela e presunto. As concentrações migradas do plastificante DEHP encontraram-se dentro dos limites legais, porém, as concentrações de DEHA merecem avaliação criteriosa por apresentarem valores médios excedentes ao LME determinado.

Para o filme de PVC europeu os resultados das análises de migração, dos plastificantes DEHA e ATBC, considerando as concentrações em  $\text{mg.dm}^{-2}$ , mostram que este filme está adequado à utilização em contato com queijo mussarela e presunto. Todos os resultados obtidos para as migrações dos plastificantes DEHA e ATBC nos simulantes foram abaixo dos LME regulamentados. Desta forma o filme de PVC europeu está liberado para comercialização como envoltório para produtos aquosos contendo óleo e ou gorduras, com  $\text{pH} < 5,0$ , ou seja, alimentos tipo IIIA.

#### **4.8. Avaliação das propriedades mecânica dos filmes de PVC**

Após imersão dos filmes nos simulantes ou em contato com os alimentos à temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$  foi observada diferença significativa ( $P < 0,05$ ), para as propriedades mecânicas avaliadas (carga máxima na ruptura e % alongamento na carga máxima), em pelo menos um dos casos estudados, entre os filmes e os tratamentos. Para um e 15 dias de contato dos filmes com os simulantes ou com os alimentos não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) nas propriedades mecânicas avaliadas (Tabela 20).

O filme controle que não esteve em contato com os simulantes, alimentos e não foi submetido às variações de temperaturas, apresentou os seguintes valores médios para os filmes brasileiro e europeu, respectivamente: carga máxima na ruptura de 9,35 N e de 7,84 N, alongamento na carga máxima de 171,60% e de 130,12%.

Tabela 20 – Resumo da análise de variância das alterações nas propriedades mecânicas apresentadas por filmes de PVC, provenientes do mercado brasileiro e europeu, após contado com queijo mussarela e presunto e com os simulantes alimentares (etanol 95%, isoctano e água) mantidos sob temperatura de refrigeração (5°C), para um e 15 dias.

Fonte de variação	G. L. <sup>1</sup>	Quadrado médio (Carga máxima na ruptura, N)	Quadrado médio (%Alongamento na carga máxima)
Filme	1	401,953*	6650,411*
Erro(a)	4	0,496	644,423
Simulante <sup>2</sup>	4	556,110*	62968,567*
Filme*simulante	4	30,869*	1608,159*
Erro(b)	16	2,775	341,630
Tempo	1	1,266 <sup>n.s</sup>	634,452 <sup>n.s</sup>
Filme*tempo	1	6,870*	348,168 <sup>n.s</sup>
Simulante*tempo	4	3,209 <sup>n.s</sup>	374,531 <sup>n.s</sup>
Filme*Simulante*tempo	4	3,421 <sup>n.s</sup>	117,166 <sup>n.s</sup>
Erro(c)	20	1,506	363,604

<sup>1</sup> Grau de Liberdade.

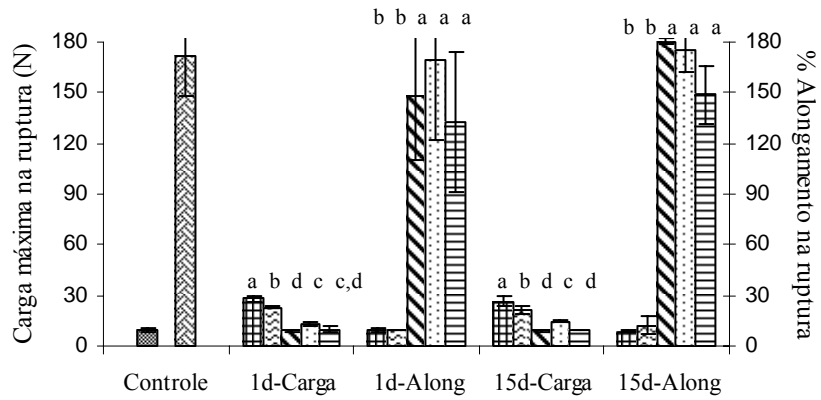
<sup>2</sup> Etanol 95%, isoctano, água, queijo e presunto.

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

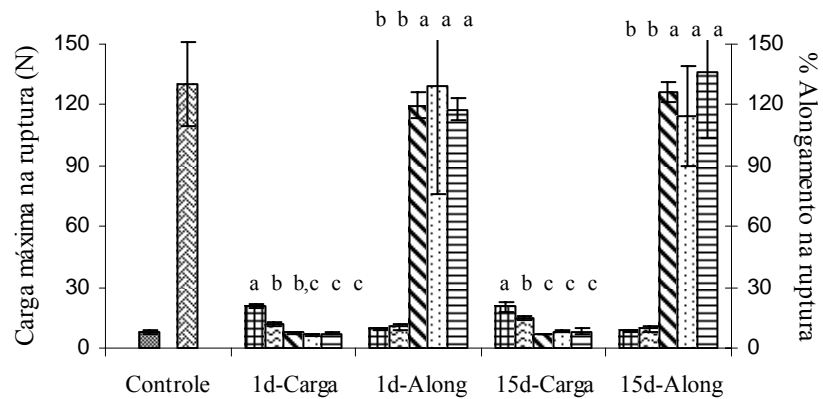
Houve diferença entre os filmes, mas o comportamento para ambos se deu de forma similar, observando-se que quando os valores de carga máxima aumentaram e a porcentagem de alongamento diminuiu. Tal fato deve-se a perda de plastificante do filme, tornando-os mais rígidos (Figuras 25 e 26). Com a redução de plastificante aumenta as interações entre as cadeias adjacentes do polímero, diminuindo assim, a mobilidade e flexibilidade do filme (Bergo e Sobral, 2006). Bergo e Sobral (2006) trabalharam com diferentes concentrações do plastificante glicerol, em filme biodegradável a base de gelatina e também observaram que com quantidades menores deste aditivo o filme apresentou maior carga e menor alongamento. Resultados similares foram relatados por Sobral et al. (2004) no estudo com filme comestível, à base de proteínas do músculo de tilápia-do-nilo, adicionados de glicerina.





Médias com letras diferentes em um mesmo conjunto de barras, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 25 – Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC brasileiro após contato com queijo mussarela (■) e presunto (▨) e com os simulantes alimentares (etanol 95% (▩), isoctano (▧) e água (▦)) mantidos sob temperatura de 5°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (■) e alongamento (▧).



Médias com letras diferentes em um mesmo conjunto de barras, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 26 – Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC europeu após contato com queijo mussarela (■) e presunto (▨) e com os simulantes alimentares (etanol 95% (▩), isoctano (▧) e água (▦)) mantidos sob temperatura de 5°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (■) e alongamento (▧).

O filme de PVC brasileiro apresentou maior variação da carga máxima na ruptura no primeiro dia de contato com os simulantes etanol 95%, isoctano, água e os alimentos queijo e presunto na ordem de 3,0; 2,4; 0,95; 1,4 e 1,0 vezes, respectivamente, quando comparado com o filme controle. Portanto a ação dos simulantes na estrutura do filme ocorre nas primeiras horas de contato. Observou-se que não houve variação na carga máxima entre o simulante água e o presunto (Figura 25).

Este comportamento pode ser explicado pela maior migração dos plastificantes deste filme, DEHA e DEHP, que têm caráter apolar e desta forma apresentam maior solubilidade em meios apolares. O alimento queijo por apresentar um teor de gordura maior que o presunto também favorece a migração dos plastificantes (Goulas et al., 2006; Gómez-Hens e Aguilar-Caballo, 2003; Lau e Wong, 2000). A diferença da concentração migrada do plastificante DEHA, presente em filme de PVC, para alimentos com diferentes teores de gordura, também foi apresentado por Lau e Wong (2000) que mostraram a ocorrência de maior migração deste plastificante quando um filme PVC foi colocado em contato com queijos de diferentes teores de gordura, sendo maior a migração quando em contato com queijos mais gordurosos, assim como o ocorrido neste trabalho entre o queijo mussarela e o presunto.

O comportamento do filme de PVC europeu para a carga máxima na ruptura, foi similar ao filme brasileiro com variação na ordem das diferenças alcançadas quando comparadas com o filme controle. Essas variações foram de 2,7; 1,5; 1,0; 0,8; e 0,9 quando em contato com os simulantes etanol 95%, isoctano, água, e os alimentos queijo e presunto, respectivamente (Figura 26).

Quanto ao alongamento, os meios simulantes apolares alteraram acentuadamente o filme de PVC brasileiro, que apresentaram uma redução média de 17 vezes, quando comparados com o filme controle. Para o simulante água e os alimentos, a redução média foi de 0,9 vezes, não sendo observada diferença significativa entre eles ( $P > 0,05$ ). O queijo, apesar do seu

elevado teor de gordura, exibiu valor intermediário entre o simulante água e o presunto, não sendo observado alteração na flexibilidade do filme (Figura 25).

Para o filme de PVC europeu o comportamento quanto às alterações no alongamento foi o mesmo apresentado pelo filme brasileiro variando quanto aos valores médios de redução que foram de 14,4 para os simulantes etanol 95% e isoctano e 1,0 para água, queijo e presunto (Figura 26).

Assim como o ocorrido neste trabalho, onde os resultados dos ensaios mecânicos diferiram em ordem de grandeza entre os filmes de PVC brasileiro e europeu, Yu e Selvadurai (2005) mostraram em sua revisão a diferença existente entre filmes de PVC plastificados com variadas concentrações de DEHP. Os filmes com menores concentrações do plastificante são mais rígidos apresentando maior tensão de ruptura e menor elasticidade em comparação aos filmes com maior concentração do plastificante. Os autores avaliaram também as alterações mecânicas causadas à membranas de PVC (0,5 mm de espessura) imersas em etanol em diferentes concentrações. Foi verificada a perda de plastificantes, com conseqüente alterações mecânicas, como redução na flexibilidade e na deformação.

Na Tabela 21 está apresentado o resumo da análise de variância somente para os três simulantes (etanol 95%, isoctano e água), nas temperaturas de 5°C e 20°C e nos tempos um e 15 dias. Verificou-se com relação à carga máxima que há diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os filmes, os simulantes e o tempo em pelo menos um dos casos estudados, e que não há diferença ( $P > 0,05$ ) quanto às temperaturas.

Observou-se para a propriedade de alongamento, avaliando apenas os três simulantes, nos tempos de um e 15 dias e nas temperaturas de 5°C e 20°C (Tabela 21), que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os filmes, simulantes e as temperaturas em pelo menos um dos casos estudados. E não foi apresentada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para um e 15 dias de contato dos filmes com os simulantes, bem como com as análises realizadas envolvendo os simulantes e os alimentos a 5°C (Tabela 20).

Tabela 21 – Resumo da análise de variância das alterações nas propriedades mecânicas apresentadas por filmes de PVC, provenientes do mercado brasileiro e europeu, após contado com os simulantes alimentares, etanol 95%, isoctano e água, mantidos sob temperatura ambiente (20°C) e de refrigeração (5°C) para um e 15 dias.

Fonte de variação	G. L. <sup>1</sup>	Quadrado médio (Carga máxima na ruptura, N)	Quadrado médio (%Alongamento na carga máxima)
Filme	1	432,54*	4357,983*
Erro(a)	4	0,97	521,001
Simulante <sup>2</sup>	2	1381,27*	173840,966*
Filme*simulante	2	45,46*	4017,000*
Erro(b)	8	1,86	455,118
Temperatura	1	3,27 <sup>n.s</sup>	1344,229*
Filme*temperatura	1	14,50 <sup>n.s</sup>	47,010 <sup>n.s</sup>
Simulante*temperatura	2	6,46 <sup>n.s</sup>	1417,329*
Filme*Simulante*temperatura	2	8,36 <sup>n.s</sup>	30,529 <sup>n.s</sup>
Erro(c)	12	3,43	194,814
Tempo	1	21,13*	12,334 <sup>n.s</sup>
Filme*tempo	1	4,15 <sup>n.s</sup>	358,424 <sup>n.s</sup>
Simulante*tempo	2	8,86*	45,029 <sup>n.s</sup>
Temperatura*tempo	1	14,70*	991,446*
Filme*Simulante*tempo	2	2,61 <sup>n.s</sup>	505,931 <sup>n.s</sup>
Filme*temperatura*tempo	1	2,50 <sup>n.s</sup>	1588,657*
Simulante*temperatura*tempo	2	1,01 <sup>n.s</sup>	1145,353*
Filme*simulante*temperatura*tempo	2	9,20 <sup>n.s</sup>	1511,252*
Erro(d)	24	1,43	162,367

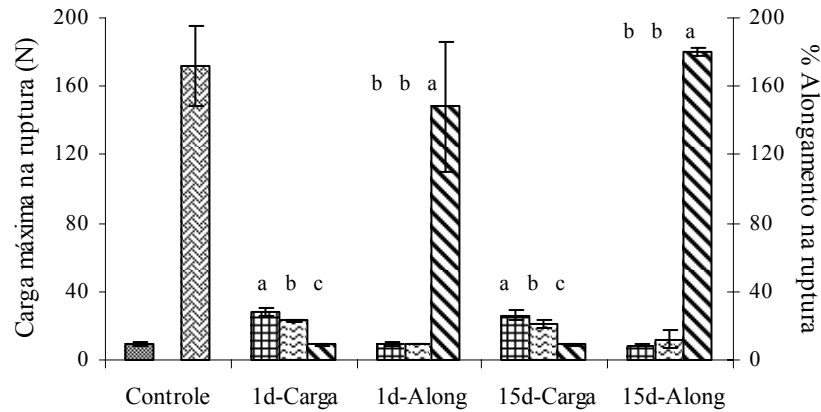
<sup>1</sup> Grau de Liberdade

<sup>2</sup> Etanol 95%, isoctano e água.

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

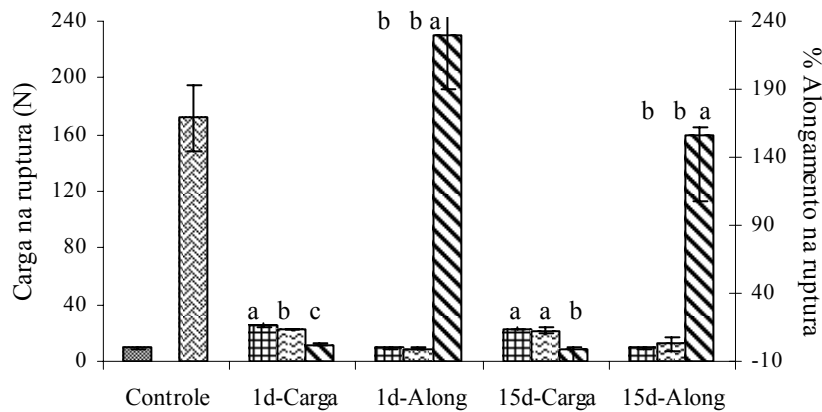
<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

A avaliação quanto à influência da temperatura nas alterações mecânicas dos filmes de PVC brasileiro e europeu foram estudadas apenas para os simulantes etanol 95%, isoctano e água não envolvendo os alimentos queijo mussarela e presunto, uma vez que estes não são armazenados à temperatura de 20°C. Ambos os filmes, brasileiro e europeu, à 20°C, apresentaram variações dos valores de carga máxima na ruptura e de alongamento, após o contato com os simulantes, muito próximos aos valores obtidos a 5°C (Figuras 27, 28, 29 e 30).



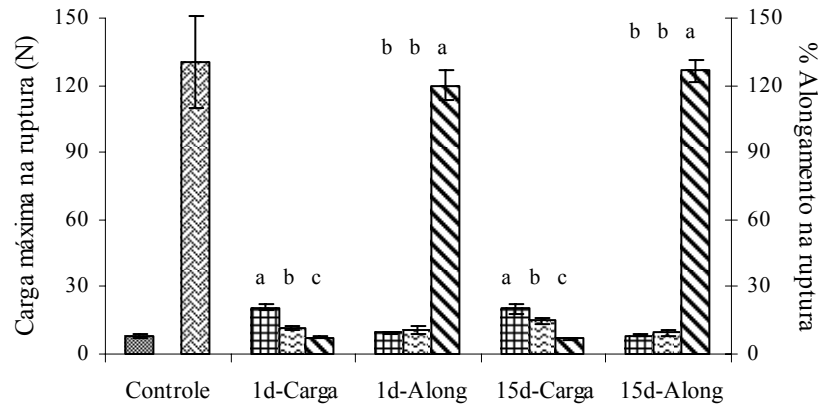
Médias com letras diferentes em um mesmo conjunto de barras, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 27 – Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC brasileiro após contato com os simulantes etanol 95% (▣), isocetano (▤) e água (▥) mantidos sob temperatura de 5°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (▧) e alongamento (▨).



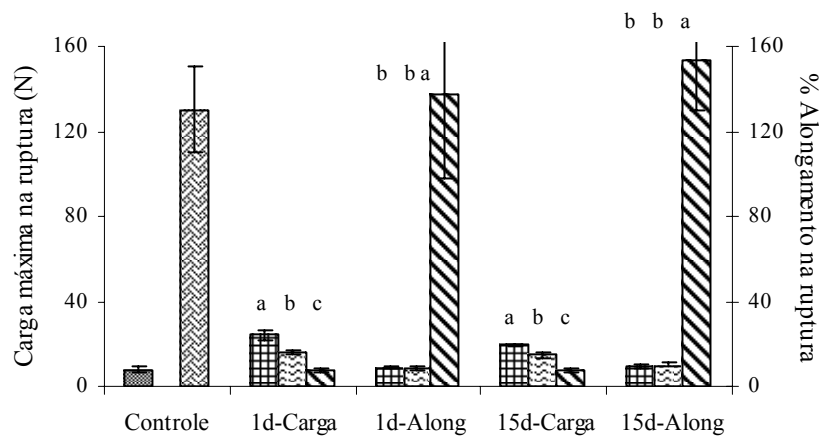
Médias com letras diferentes em um mesmo conjunto de barras, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 28 – Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC brasileiro após contato com os simulantes etanol 95% (▣), isocetano (▤) e água (▥) mantidos sob temperatura de 20°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (▧) e alongamento (▨).



Médias com letras diferentes em um mesmo conjunto de barras, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 29 – Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC europeu após contato com os simulantes etanol 95% (▨), isoctano (▩) e água (▧) mantidos sob temperatura de 5°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (▣) e alongamento (▤).



Médias com letras diferentes em um mesmo conjunto de barras, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Figura 30 – Média dos valores de propriedades mecânicas, carga máxima na ruptura (Carga) e alongamento na ruptura (Along), do filme de PVC europeu após contato com os simulantes etanol 95% (▨), isoctano (▩) e água (▧) mantidos sob temperatura de 20°C. Nos tempos um dia (1d) e 15 dias (15d). Filme controle: Carga máxima na ruptura (▣) e alongamento (▤).

Como o ocorrido à temperatura de 5°C, a 20°C os filmes que estiveram em contato com os simulantes etanol 95% e isoctano apresentaram maiores

alterações mecânicas em comparação com os que estiveram em contato com o simulante água, e estes exibiram valores próximos aos dos filmes controles.

Na temperatura de 20°C, a carga máxima na ruptura apresentou um aumento de 2,63; 2,36 e 1,10 vezes para o filme brasileiro e de 2,77; 1,98 e 1,00 vezes para o filme europeu, após o contato com os simulantes etanol 95%, isoctano e água, respectivamente (Figuras 27, 28, 29, e 30). Também foi observada uma diminuição no alongamento de 18,43; 16,45 e 0,9 vezes para o filme brasileiro e de 14,8; 14,32 e 0,9 vezes para o filme europeu, após o contato com os simulantes etanol 95%, isoctano e água, respectivamente (Figuras 27, 28, 29, e 30).

Para o simulante água a 20°C, cabe ressaltar que, da mesma forma que a 5°C, a carga máxima na ruptura e o alongamento exibiram valores próximos aos dos filmes controles. Enquanto que em etanol 95% e isoctano os valores de carga máxima na ruptura apresentaram aumento e para o alongamento diminuição (Figuras 27, 28, 29, e 30).

Os plastificantes têm características diferenciadas, bem como seu poder de plastificação (Fouad et al, 1999), justificando assim o comportamento diferenciado entre os filmes e os simulantes avaliados neste trabalho.

O efeito clássico da variação da concentração de plastificantes em filmes, como o observado neste trabalho, também foi reportado por Orliac et al. (2003). Estes autores observaram as alterações mecânicas de filme biodegradável à base de proteínas de girassol adicionados de diferentes plastificantes em diferentes concentrações e também averiguaram uma diminuição na porcentagem de alongamento e o aumento na tensão de ruptura com a redução da concentração dos plastificantes.

Observa-se nas Figuras 25, 26, 27, 28, 29 e 30 que em alguns casos, as alterações mecânicas observadas não obedeceram a uma relação linear entre os parâmetros carga máxima e alongamento com relação a perda de plastificantes, assim como o ocorrido no experimento de Martins et al (2004). Estes autores observaram que um aumento do teor de plastificante em compósitos de PVC adicionados de fibras de sisal levou inicialmente, a uma

queda e, em seguida, a um aumento da resistência à tração, sugerindo existir uma compatibilidade maior que a esperada entre o PVC e os plastificantes testados. Com o experimento destes autores observou-se a possibilidade de comportamento não linear quanto à variação da concentração de plastificantes e as alterações mecânicas por ela promovida. Com relação ao alongamento, os resultados do trabalho foram similares aos da literatura, ou seja, o aumento do teor de plastificante promoveu o aumento do alongamento.

Os filmes de PVC podem ser fabricados utilizando outros aditivos, além dos plastificantes avaliados. Estes possíveis aditivos podem também estar migrando dos filmes brasileiro e europeu, e a remoção destes componentes da estrutura do polímero pode estar contribuindo para as alterações mecânicas observadas.

Verificou-se, em alguns casos, desvios padrões elevados, assim como alta variação da migração de plastificantes no decorrer do tempo em certos casos estudados anteriormente. Estes fatos podem ser consequência das diferentes características dos simulantes, dos alimentos e dos plastificantes assim como a não uniformidade dos alimentos, do processo de plastificação e homogeneização do composto polimérico (Zygoura et al., 2007; Goulas et al., 2006; Marcilla et al., 2004; Gómez-Hens e Aguilar-Caballos, 2003; Lau e Wong, 2000; Badeka et al., 1999).

#### **4.9. Análise Microscópica dos filmes de PVC**

Observa-se nas Figuras 31 e 32 as alterações físicas promovidas nos filmes de PVC brasileiro e europeu, respectivamente, devido migração dos plastificantes de sua estrutura, quando em contato com os simulantes.



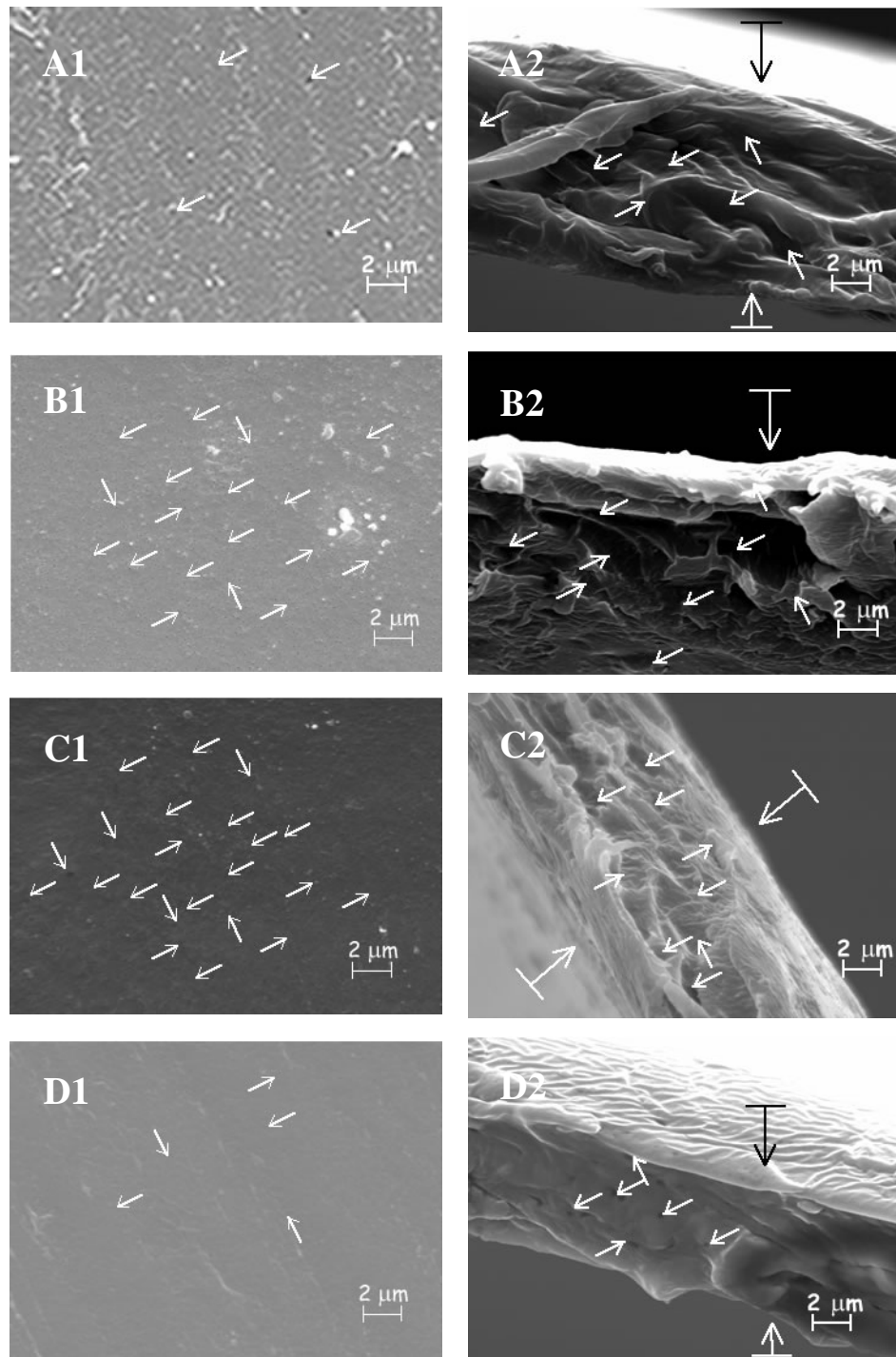


Figura 31 – Fotos em Microscopia eletrônica de varredura da superfície (1) e seção transversal (2) do filme de PVC brasileiro após 15 dias de contato com os simulantes etanol 95% (B), isooctano (C) e água (D), mantidos a 20°C. Filme controle (A), mantido a temperatura ambiente (25°C) e que não esteve em contato com simulantes. Aumento 8000x. Setas: indicam alguns pontos de alterações da estrutura.

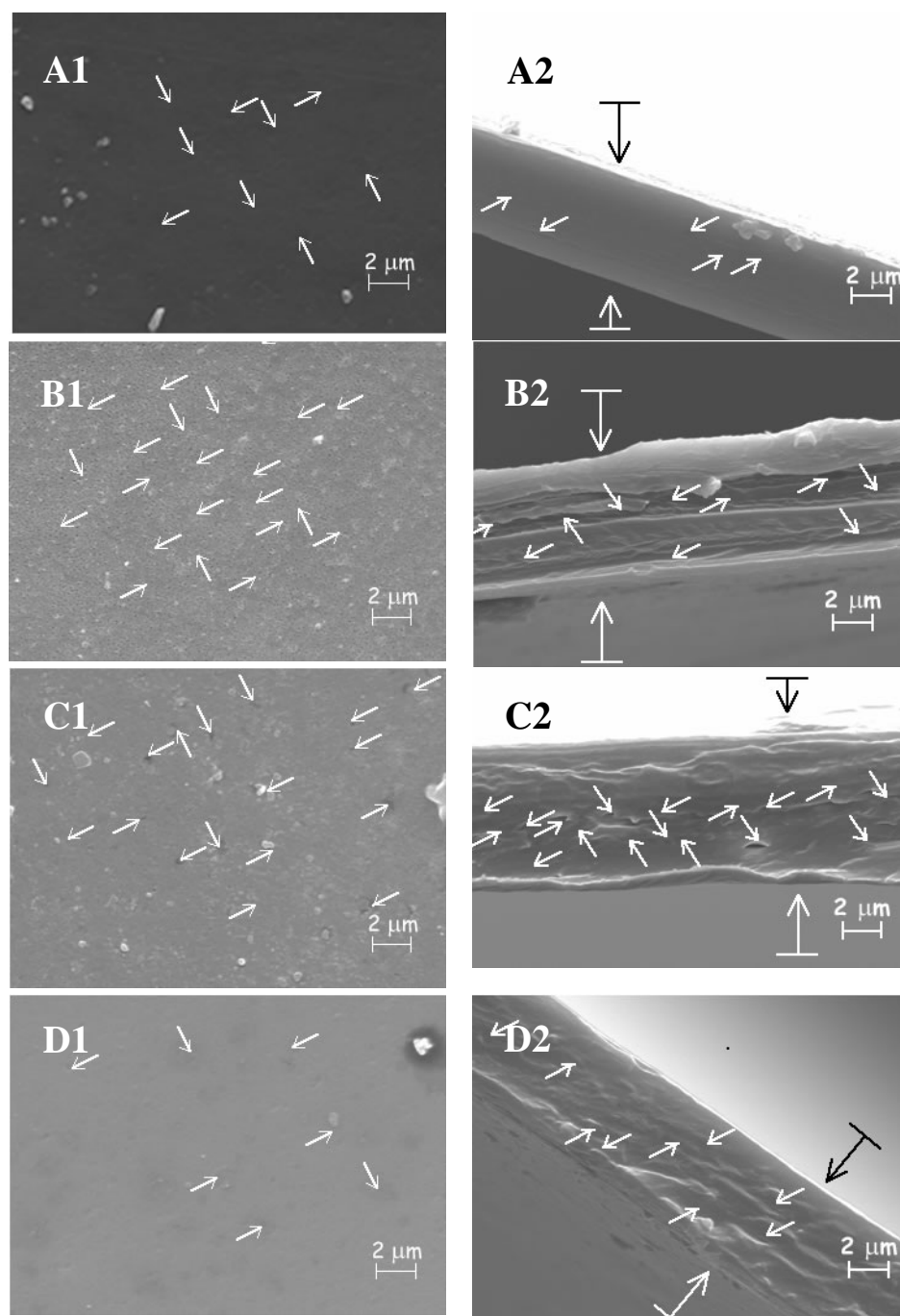


Figura 32 – Fotos em Microscopia eletrônica de varredura da superfície (1) e seção transversal (2) do filme de PVC europeu após 15 dias de contato com os simulantes etanol 95% (B), isooctano (C) e água (D), mantidos a 20°C. Filme controle (A), mantido a temperatura ambiente (25°C) e que não esteve em contato com simulantes. Aumento 8000x. Setas: indicam alguns pontos de alterações da estrutura.

O filme brasileiro apresentou semelhança nas estruturas superficiais e transversais às do filme controle e o que esteve em contato com o simulante água, resultado coerente com os apresentados no item 4.8, onde foi mostrado que a migração dos plastificantes neste simulante pouco alterou as propriedades mecânicas de carga máxima na ruptura e alongamento na carga máxima.

Para os filmes que estiveram em contato com os simulantes etanol 95% e isoctano observa-se na Figura 31 (B e C) um número maior de pontos, alguns indicados pelas setas inseridas nas figuras, ou seja, um número maior de perfurações na superfície e também uma maior presença de espaços vazios em sua estrutura transversal quando comparado com o filme controle (Figura 31 - A). O surgimento de espaços entre as estruturas poliméricas são indícios da perda dos plastificantes DEHP e DEHA presentes no filme brasileiro.

No filme europeu as modificações estruturais também foram maiores nos que estiveram em contato com os simulantes etanol 95% e isoctano, como o ocorrido com o filme brasileiro. Porém, para o filme europeu previamente imerso em simulante água, foi observado alterações mais acentuadas em comparação com o filme controle (Figura 32), foi observado o surgimento de manchas em sua superfície e de espaços vazios na seção transversal (Figura 32 - D).

O filme europeu contém os plastificantes DEHA e ATBC. Nos resultados apresentados no item 4.5 foi verificado que o plastificante ATBC migra com maior facilidade em água fato que possibilita a explicação das visíveis alterações em sua estrutura, quando comparada com o filme controle europeu. Todavia, os testes mecânicos para o filme em água, item 4.8, exibiram valores para a carga máxima na ruptura e alongamento na carga máxima próximos dos encontrados para o filme controle. A ocorrência desse fato pode ser atribuída a uma incorporação de água, que também é um plastificante, pela estrutura polimérica (Rabello, 2000), mantendo suas propriedades mecânicas.

Alguns autores como Zygoura et al. (2007), Goulas et al. (2006), Bergo e Sobral (2006), Yu e Selbadurai (2005), Rabello (2000) e Robertson (1992) atribuem que a perda ou inserção de plastificante em uma matrix polimérica altera a estrutura da mesma, como o observado neste trabalho (Figuras 31 e 32).

Não se pode negligenciar que os plastificantes têm estruturas variadas, características diferenciadas, bem como seu poder de plastificação (Rabello, 2000; Fouad, 1999), justificando assim o comportamento diferenciado das alterações estruturais e mecânicas dos filmes avaliados.

## **5. CONCLUSÃO**

Este trabalho teve por finalidade avaliar a migração dos plastificantes ftalato de di-(2-etil-hexila) (DEHP), adipato de di-(2-etil-hexila) (DEHA) e citrato de acetil-tribulila (ATBC) utilizados na produção de filmes de poli(cloreto de vinila) (PVC) utilizados em contato direto com alimentos.

Verificou-se que a migração dos plastificantes, em contato com os simulantes de alimentos, etanol 95%, isoctano e água, tende a ser maior à temperatura de 20°C que a 5°C, fato bem identificado no filme de PVC brasileiro, porém, pouco acentuado no filme europeu.

Foi observada uma maior migração dos plastificantes DEHA e DEHP quando em contato com o queijo mussarela em relação ao presunto, o mesmo não ocorreu com o ATBC, que apresentou o mesmo comportamento para ambos os alimentos.

Os simulantes, etanol 95% e isoctano, apresentaram maior expressividade em comparação com a água, quanto à migração dos plastificantes avaliados. Sendo assim, esses são os indicados para avaliar a migração para queijo mussarela e presunto com o intuito de verificar os limites de migração específicos para os plastificantes em questão.

Entre os casos avaliados da migração dos plastificantes, presentes em ambos filmes PVC, em simulantes dos alimentos queijo mussarela em presunto, utilizando etanol 95% e isoctano, foi observado que em 37% dos casos pelo menos um dos simulantes representou de forma adequada o alimento. Não apresentando diferença significativa ( $P > 0,05$ ) quanto ao teor de plastificante migrado para o simulante e o alimento.

Para o filme de PVC brasileiro avaliado quanto aos plastificantes DEHA e DEHP as concentrações migradas do DEHP encontraram-se dentro dos limites legais, porém, as de DEHA merecem avaliação criteriosa por ter apresentado valores máximos excedentes ao LME determinado, não estando, portanto, adequado à utilização em contato com queijo mussarela e presunto.

O filme de PVC europeu, avaliado quanto aos plastificantes DEHA e ATBC apresentou todos os valores de migração dentro do regulamentado e, portanto, está adequado à utilização em contato com queijo mussarela e presunto.

Vale ressaltar que as concentrações dos plastificantes migrados para os alimentos, quando avaliadas em  $\text{mg.kg}^{-1}$ , apresentaram valores acima do LME, com exceção do DEHP presente no filme brasileiro quando em contato com queijo e presunto e do DEHA do filme europeu quando em contato com o presunto.

Foram observadas, também, alterações nas propriedades mecânicas dos filmes após o processo de migração. Como o esperado, a perda de plastificante dos filmes proporcionou um aumento na carga máxima na ruptura e uma diminuição no alongamento na maioria dos casos avaliados. E observou-se uma maior alteração nas propriedades dos filmes quando estes estiveram imersos nos simulantes etanol 95% e isoctano. Esses resultados estão coerentes com os alcançados mediante visualização por Microscopia Eletrônica de Varredura das estruturas dos filmes, que mostrou maiores alterações quando estes estiveram em contato com os solventes apolares.

Assim, pode-se concluir que a migração dos plastificantes para os alimentos ocorreu, em muitos casos, acima do LME levando à ingestão desses aditivos pelos consumidores, além de ter promovido alterações nas propriedades mecânicas e estruturais dos filmes durante ao período de estocagem dos produtos.

## **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



- ACF, 2003. Statement of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC Panel). **European Food Safety Authority (EFSA)**. Expressa em 26 de maio de 2004. Disponível em [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out82\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out82_en.pdf). Acessado em 10 de Janeiro de 2007.
- AL-KHATIM, A.; AL-HACHIM, G.M. Effects of oil plastic extracto on mice. **International Journal of Environmental Health Research**. 11:73-80, 2001.
- American Society for Testing and Materials – ASTM. **Standard practice for conditioning plastics and electrical insulating materials form testing – D618-95**. Philadelphia: ASTM 1996. 3p.
- American Society for Testing and Materials – ASTM. **Standard specification for standard atmosphere for conditioning and testing flexible barriers materiais – E171-94**. Philadelphia: ASTM 1996. 1p.
- ANSESIO, E.C. **Estudio analítico y criterios de utilización de materiales reciclados como envase alimentario**. (Tese de Doutorado). Zaragoza, Universidade de Zaragoza, Centro Politécnico Superior de Engenheiros, Espanha, 2002.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **Resolução nº105/99** - Aprova os Regulamentos Técnicos: Disposições Gerais para Embalagens e Equipamentos Plásticos em contato com Alimentos e seus Anexos. Brasil. Diário Oficial, 20 de maio de 1999.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos. Teoria e Prática**. 2 ed. Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, 1999. 418p.
- Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT. **Plásticos – atmosferas padrão para condicionamento e ensaio – NBR 7452**. São Paulo: ABNT, 1982. 5p.

- AZEREDO, H.M.C.; FARIA, J.A.F.; BRITO, E.S. Embalagens e Estabilidade de Alimentos. In: AZEREDO, H.M.C. **Fundamentos de Estabilidade de Alimentos**. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 195p.
- BADEKA, A.B.; PAPPAS, K.; KONTOMINAS, M.G. Effect of microwave versus conventional heating on the migration of dioctyl adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food grade PVC and P(VDC/VC) films into fatty foodstuffs. **Z Lebensm Unters Forsch A**. 208:429-33, 1999.
- BATLLE, R.; NERÍN, C. Application of single-drop microextraction to the determination of dialkyl phthalate esters in food simulants. **Journal of Chromatography A**. 1045:29-35, 2004.
- BERGO, P.; SOBRAL, P.J.A. Effects of plasticizer on physical properties of pigskin gelatin films. **Food Hydrocolloids**. Article in Press, 2006. doi:10.1016/j.foodhyd.2006.09.014.
- BORCH, J.; DALGAARD, M.; LADEFOGED, O. Early testicular effects in rats perinatally exposed to DEHP in combination with DEHA – apoptosis assessment and immunohistochemical studies. **Reproductive Toxicology**. 19:517-25, 2005.
- BORCH, J.; LADEFOGED, O.; HASS, U.; VINGGAARD, A.M. Steroidogenesis in fetal male rats is reduced by DEHP and DINP, but endocrine effects of DEHP are not modulated by DEHA in fetal, prepubertal and adult male rats. **Reproductive Toxicology**. 18(1):53-61, 2004.
- BOUMA, K.; SCHAKEL, D.J. Migration of phthalates from PVC toys into saliva simulant by dynamic extraction. **Food Additives and contaminants**. 19(6):602-10, 2002.
- CANEVAROLO, S.V.Jr. **Ciência dos Polímeros**. 1 ed. São Paulo, Artliber Editora Ltda, 2002. 183p.
- CANO, J.M.; MARÍN, M.L.; SÁNCHEZ, A.; HERNANDIS, V. Determination of adipate plasticizers in poly(vinyl chloride) by microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**. 963:401-09, 2002.
- CHEN, C.Y.; GHULE, A.V.; CHEN, Y.W.; WANG, C.C.; CHIANG, Y.S.; LING, Y.C. Rapid identification of phthalates in blood bags and food packaging using ToF-SIMS. **Applied Surface Science**. 231-232: 447-51, 2004.

- CREDENDIO, J.E. Filme de PVC Majipack tem venda proibida. **Folha de São Paulo**. São Paulo, 4 de setembro de 2004. Caderno Cotidiano, saúde publica. p.?
- CSTEE/98/17. Scientific committee on toxicity, ecotoxicity and the environment. Plenário em 28 de setembro de 1999.
- DALGAARD, M.; HASS, U.; VINGGAARD, A.M.; JARFELT, K.; LAM, H.R.; SORENSEN, H.K.; SOMMER, H.M.; LADEFOGED, O. Di(2-ethylhexyl adipate (DEHA) induced developmental toxicity but not antiandrogenic effects in pre- and postnatally exposed Wistar rats. **Reproductive Toxicology**. 17:163-70, 2003.
- DAVID, R.M.; MOORE, M.R.; FINNEY, D.C.; GUEST, D. Reversibility of the chronic effects of di(2-ethylhexyl)phthalate. **Toxicologic Pathology**. 29(4):430-9, 2001.
- DHANYA, C.R.; INDU, A.R.; DEEPADEVI, K.V.; KURUP, P.A. Inhibition of membrane Na(+)-K+ Atpase of the brain, liver and RBC in rats administered di(2-ethyl hexyl) phthalate (DEHP) a plasticizer used in polyvinyl chloride (PVC) blood storage bags. **Indian journal of Experimente Biological**. 41(8):814:20, erratum in 41(12):1360, 2003.
- 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. **Diario Oficial**, 302p. 2005.
- 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. **Diario Oficial**, 220p. 2002.
- Diretiva 82/711/CEE do Conselho, de 18 de outubro de 1982, que estabelece as normas básicas necessárias para verificação da migração de constituintes dos materiais de embalagem e objetos de materiais plásticos destinados a entrar em contato com produtos alimentícios. **Diario Oficial**, 297p. 1982.
- Diretiva 85/572/CEE do Conselho, de 19 de dezembro de 1985, determina a lista dos simulantes que devem ser utilizados para controlar a migração de componentes dos materiais e objetos de materiais plásticos destinados a entrar em contato com produtos alimentícios. **Diario Oficial**, 372p. 1985.
- Diretiva 97/48/CEE da Comissão de 29 de julho de 1997 que modifica a Diretiva 82/711/CEE do conselho, estabelece as normas básicas necessárias para a verificação da migração dos componentes de materiais e objetos de materiais plásticos destinados a entrar em contato com produtos alimentícios. **Diario Oficial**, 222p. 1997

- DUARTE, L.C.; JUCHEM, P.L.; PULZ, G.M.; BRUM, T.M.M.; CHODUR, N.; LICCARDO, A.; FISCHER, A.C.; ACAUAN, R.B. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no Estudo de Gemas: Exemplos brasileiros. **Pesquisas em Geociências**. 30(2): 3-15, 2003.
- DUARTE, M.F. **Espectrometria de massa de electrospray – técnica do presente e do futuro**. Disponível em: <[http://www.dqb.fc.ul.pt/docentes/fduarte/espectrometria\\_de\\_massa\\_de\\_el ect.htm](http://www.dqb.fc.ul.pt/docentes/fduarte/espectrometria_de_massa_de_el ect.htm)>. Acesso em: 20 de agosto de 2005.
- 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: 105-12, 2006.
- FERREIRA, V. **Cromatografia: Fundamentos y Práticas**. Serviço de Publicações da Universidade de Zaragoza, Espanha. 1997, 227p.
- FOUAD, M.M.K.; EL SAYED, A.M.; MAHDY, A.N. Migration of DINP and DOP plasticisers from PVC sheets into food. **Environmental Management and Health**. 10(5):297-302, 1999.
- FREIRE, M.T.A.; FEDERICO, V.R.; SANTANA, I.A.; REYES, F.G.R. Determinação de plastificantes em filmes de PVC de uso em alimentos e coletados em São Paulo. Anais do XIX In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Recife, PE. 2004.
- GIL, S.M.; POLITO, W.; CAMPOS Jr., C.P.; GIL, B.Z.; CENTURION, L.M.; RODRIGUES, R.D.R. Tela de polipropileno: Estudo do efeito de esterilização na estrutura em fragmentos de tela para reutilização em cirurgia de Hérnia. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. 32(4): 188-91, agosto/2005.
- GNANASEKHARAN, V.; FLOROS, J.D. Migration and sorption phenomena in packaged foods. *Criticas Reviews in Food Science and Nutrition*. 37(6):519-59, 1997. In: AZEREDO, H.M.C. **Fundamentos de Estabilidade de Alimentos**. Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 195p.
- GÓMEZ-HENS, A.; AGUILAR-CABALLOS, M.P. Social and economic interest in the control of phthalic acid esters. **Trends in analytical Chemistry**. 22(11): 847-57, 2003.
- GOTARDO, M.A.; MONTEIRO, M. Migration of diethylhexyl phthalate from PVC bags into intravenous cyclosporine solutions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Article in Press, 2005.

- GOULAS, A.E.; ANIFANTAKI, K.I.; COLIOULIS, D.G.; KONTOMINAS, M.G. Migration of di-(2-ethylhexylexyl)adipate plasticizer from food-grade polyvinyl chloride film into hard and soft cheeses. **Journal fo Dairy Science**. 83:1712-18, 2000.
- GOULAS, A.E.; ZYGOURA, P.; KARATAPANIS, A.; GEORGANTELIS, D.; KONTOMINAS, M.G. Migration of di(2-ethylhexyl)adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into sweetened sesame paste (halawa tehineh): Kinetic and penetration study. **Food and Chemical Toxicology**. Article in press, 2006. doi:10.1016/j.fct.2006.10.003.
- GROB, K.; PFENNINGER, S.; POHL, W.; LASO, M.; IMHOF, D.; RIEGER, K. European legal limits for migration from food packaging materials: 1. Food should prevail over simulants; 2. More realistic conversion from concentrations to limits per surface area. PVC cling films in contact with cheese as an example. **Food Control**. 18: 201-10. 2007.
- HELLWIG, J.; JACKH, R. Differential prenatal toxicitu of one straight-chain and five branched-chain primary alcohols in rats. **Food Chemical Toxicology**. 35(5):489-500, 1997. In: BORCH, J.; DALGAARD, M.; LADEFOGED, O. Early testicular effects in rats perinatally exposed to DEHP in combination with DEHA – apoptosis assessment and immunohistochemical studies. **Reproductive Toxicology**. 19:517-25, 2005.
- Instituto do PVC, 2006. Disponível em: <[http://www.institutodopvc.org/publico/?a=noticia&not\\_ano=2006&not\\_id=142](http://www.institutodopvc.org/publico/?a=noticia&not_ano=2006&not_id=142)> Acesso em : 20 de dezembro de 2006
- KOCH, H.M.; DREXLER, H.; ANGERER, J. Internal exposure of nursery-school children and their parents and teachers to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP). **International Journal of Hygiene and Environmental Health**. 207(1):15-22, 2004.
- LANÇAS, F.M. **Cromatografia em Fase Gasosa**. 1 ed. São Carlos-São Paulo, Acta (Ed). 1993. 254p.
- LATINI, G.; DE FELICE, C.; PRESTA, G.; DEL VECCHIO, A.; PARIS, I.; RUGGIERI, F.; MAZZEO, P. Exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate in humans during pregnancy. A preliminary report. **Biological Neonate**. 93(1):22-4, 2003.
- LATINI, G.; DE FELICE, C.; VERROTTI, A. Plasticizers, infant nutrition and reproductive health. **Reproductive Toxicology**. 19:27-33, 2004.
- LAU, O.W.; WONG, S.K. Contamination in food from packaging material. **Journal of Chromatography A**. 882:255-70, 2000.

- LEHOTAY, S.J.; HAJŠLOVÁ, J. Application of gas chromatography in food analysis. **Trends in analytical Chemistry**. 21:686-97, 2002.
- LI, X.; ZENG, Z.; CHEN, Y.; XU, Y. Determination of phthalate acid esters plasticizers in plastic by ultrasonic solvent extraction combined with solid-phase microextraction using calix[4]arene fiber. **Talanta**. 63:1013-19, 2004.
- MACHO, S.A. **Metodologías analíticas basadas en espectroscopia de infrarrojo y calibración multivariante. Aplicación a ala industria petroquímica**. (Tese de Doutorado). Taragona, Universidade Rovira i Virgili. Departamento de Química Analítica: Química orgânica, Espanha, 2002. 222p..
- MAGLIOZZI, R.; NARDACCI, R.; SCARSELLA, G.; DI CARLO, V.; STEFANINI, S. effects of the plasticizer DEHP on lung of newborn rats: catalase immunocytochemistry and morphometric analysis. **Histochem Cell Biol**. 120:41-9, 2003.
- MARCILLA, A.; GARCÍA, S.; GARCÍA-QUESADA, J.C. Study of the migration of PVC plasticizers. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**. 71:457-63, 2004.
- MARTINS, G.S.; IOZZI, M.A.; MARTINS, M.A.; MATTOSO, L.H.C.; FERREIRA, F.C. Caracterização mecânica e térmica de compósitos de poli(cloreto de vinila) reforçados com fibras de sisal. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. 14(5):326-33, 2004.
- MELO, N.R. **Avaliação de Embalagem ativa por incorporação de nisina na inibição de *Staphylococcus* sp.** (Dissertação de mestrado) Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2003. 88 p..
- MERCOSUL/GMC/RES N° 50/01 – Lista positiva de aditivos para materiais plásticos destinados a elaboração de embalagens e equipamentos que estarão em contato com alimentos.
- MIDIO, A.F.; MARTINS, D.I. **Toxicologia de Alimentos**. 1 ed. São Paulo, Varela Editora e Livraria Ltda, 2000. 295p.
- MONTAUDO, G.; LATTIME, R.P. **Mass Spectrometry of Polymers**. 1 ed. New York, CRC Press LLC (Ed). 2002, 560p.
- NERÍN, C.P. “**Nuevas técnicas analíticas para la evaluación de la migración específica**”. In: “Migración de Componentes y residuos de envases en contacto con alimentos. Ed: R. Catalá e R. Gavara, 2002.

- NUTI, F.; HILDENBRAND, S.; CHELLI, M.; WODARZ, R.; PAPINI, A.M. Synthesis of DEHP metabolites as biomarkers for GC-MS evaluation of phthalates as endocrine disrupters. **Bioorganic & medicinal Chemistry**. 13: 3461-65, 2005.
- OKITA, R.T.; OKITA, J.R. Effects of diethyl phthalate and other plasticizer o Laurate Hydroxylation in rat liver microsomes. **Pharmaceutical Research**. 9(12):1648-53, 1992.
- OLIVEIRA, L.M.; ALVES, R.M.V.; SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; PADULA, M.; GARCIA, E.E.C.; COLTRO, L. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Instituto de Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia de Embalagem (CETEA), Campinas. 1996.
- ORLIAC, O.; ROUILLY, A.; SILVESTRE, F.; RIGAL, L. Effects of various plsticizers on the mechanical properties, water resistance and aging of thermo-moulded films made from sunflower proteins. **Industrial Crops and Products**. 18:91-100, 2003.
- OVIEDO, M.T.P.; TOLEDO, M.C.F.; VICENTE, E. Resíduos de agrotóxicos piretróides em hortaliças, ESÍDUOS DE AGROTÓXICOS PIRETRÓIDES EM HORTALIÇAS. **Pesticidas: Revista Ecotoxicológica e Meio Ambiente**, Curitiba. 13:09 – 13, jan./dez. 2003. Disponível em: <<http://calvados.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/pesticidas/article/view/3160/2533>> Acessado em 26 de dezembro de 2006
- PETERSEN, J.H.; NAAMANSEN, E.T. DEHA-platicized PVC for retail packaging of fresh meat. **Z Lebensm Unters Forsch A**. 206:156-60, 1998.
- POSTEK, M.T.; HOWARD, K.S.; JOHNSON, A.H.; McMICHAEL, K.L. **Scanning Electron Microscopy – A student’s handbook**. 1980, 305p..
- PUGH, G.Jr.; ISENBERG, J.S.; KAMENDULIS, L.M.; ACKLEY, D.C.; CLARE, L.J.; BROEN, R.; LINGTON, A.W.; SMITH, J.H.; KLAUNIG, J.E. Effects of di-isononyl phthalate, di-2-ethylhexyl phthalate, and clofibrate in Cynomolgus Monkeys. **Toxicological Sciences**. 56:181-88, 2000.
- RABELLO, M.S. **Aditivação de Polímeros**. 1 ed.. São Paulo, Artliber Editora Ltda, 2000. 242p.
- ROBERTSON, G.L. **Food Packaging-Principles and Practice**. 1 ed. New York, Marcel Dekker, Inc., 1993. 676p.
- RODOLFO, A.Jr.; NUNES, L.R.; ORMANJI, W. **Tecnologia do PVC**. Primeira ed.. São Paulo, ProEditores / Braskem, 2002. 399p.

- RODRIGUEZ, F. **Principles of Polymer Systems**. 3 ed. New York, Hemisphere Publishing Corporation, 1989. 640p.
- ROMERO, J.L. **Desarrollo de un método de SDME (HS) para la determinación de terpenos. Aplicación en ensayos de migración.** (Dissertação de final de curso). Zaragoza, Universidade de Zaragoza, Centro Politécnico Superior de Engenheiros, Espanha, Centro Politécnico Superior de Engenheiros, 2005. 214p.
- SANTOS, L.J.C.; BERRIER, J.; GRIMALDI, M.; CASTRO, S.S. Utilização do microscópio eletrônico de varredura (MEV) para o reconhecimento de revestimentos argilosos. **Boletim Paranaense de Geociências**. 53: 35-43, 2003.
- SAS. User's guide: Basic and statistic. Cary: 1995. 1686p.
- SHEA, K.M. Pediatric exposure and potential toxicity of phthalate plasticizers. **American Academy of Pediatrics**. 111(6):1467-73, 2003.
- SILVEIRA, M. Preparo de amostras biológicas para microscopia eletrônica de varredura. In: SOUZA, W., HADDAD, A., SESSO, SILVEIRA, M., BARTH, O. M., MACHADO, R. D., SOUTO-PADRÓN, T. **Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica**. Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica. 1:71 – 79, 1989.
- SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6 ed. Rio de Janeiro, Itc (Ed). 2000, 460p.
- SIMAL-GÁNDARA, J.; DAMANT, A.P.; CASTLE, L. The use of LC-MS in studies of migration from food contact materials: A review of present applications and future possibilities. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**. 32(1):47-78, 2002.
- Sinopse Documental, 2003/CEE do Conselho, atualizada em Junho de 2005, 297p. 2005. [http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/foodcontact/documents\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/foodcontact/documents_en.htm).
- SOBRAL, P.J.A.; GARCIA, F.T.; HABITANTE, A.M.Q.B.; MONTERREY-QUINTERO, E.S. Propriedades de filmes comestíveis produzidos com diferentes concentrações de plastificantes e de proteínas do músculo de tilápia-do-nilo. **Pesquisa agropecuária Brasileira**. Brasília. 39(3):255-62, mar., 2004.
- TSUMURA, Y.; ISHIMITSU, S.; KAIHARA, A.; YOSHII, K.; NAKAMURA, Y.; TONOGAI, Y. Di(2-ethylhexyl) phthalate contamination of retail packet lunches caused by PVC gloves used in the preparation of foods. **Food Additives & Contaminants**. 18(6):569-79, 2001.



- TSUMURA, Y.; ISHIMITSU, S.; SAITO, I.; SAKAI, H.; TSUCHIDA, Y.; TONOGAI, Y. Estimated daily intake of plasticizers in 1-week duplicate diet samples following regulation of DEHP-containing PVC gloves in Japan. **Food Additives and Contaminants**. 20(4):317-24, 2003.
- VEJA-BUSTILLOS, O.; SASSINE, A.; MARCH, R. A **Espectrometria de Massa Quadrupolar**. São Paulo – Brasil. Scortecci (Ed), 2001. Disponível em: <<http://sassine.tripod.com.br/Texto-atecap1.htm>>. Acesso em: 20 de agosto de 2005
- VINHAS, G.M.; SOUTO-MAIOR, R.M.; LAPA, C.M.; ALMEIDA, Y.M.B. Degradation studies on plasticized PVC films submitted to gamma radiation. **Materials Research**. 6(4):497-500, 2003.
- VOSS, C.; ZERBAN, H.; BANNASCH, P.; BERGER, M.R. Lifelong exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of Sprague-Dawley rats. **Toxicology**. 206:359-71, 2005.
- WAHL, H.G.; HONG, Q.; HILDENBRAND, S.; RISLER, T.; LUFT, D.; LIEBICH, H. 4-Heptanone is a metabolite of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in haemodialysis patients. **Nephrology Dialysis Transplantation**. 19:2576-83, 2004.
- WAHL, H.G.; HONG, Q.; HOFFMANN, A.; HARING, H.; LIEBICH, H.M. Identification of plasticizers in medical products by a combined direct thermodesorption-cooled injection system and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**. 847:1-7, 1999.
- WANG, Y.; NACSON, S.; PAWLISZYN, J. The coupling of solid-phase microextraction/surface enhanced laser desorption/ionization to ion mobility spectrometry for drug analysis. **Analytica Chimica Acta**. 582(1): 50-54. 16 Jan. 2007.
- WANG, Q.; STORN, B.K. Separation and analysis of low molecular weight plasticizers in poly(vinyl chloride) tubes. **Polymer Testing**. 24:290-300, 2005.
- WIKIPEDIA, 2006. **Espectroscopia de infravermelho**. Disponível em: <[http://pt.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia\\_de\\_infravermelho](http://pt.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_de_infravermelho)> Acesso em 19 de dezembro de 2006.
- WIKIPEDIA, 2006. **Identificação de plásticos**. Disponível em: <[http://www.em.pucrs.br/~jfazzi/Materiais/IDENTIFICACAO\\_DE\\_PLASTICOS.pdf](http://www.em.pucrs.br/~jfazzi/Materiais/IDENTIFICACAO_DE_PLASTICOS.pdf)> Acesso em 28 de novembro de 2006b.
- YU, Q.; SELBADURAI, A.P.S. Mechanical behaviour of a plasticized PVC subjected to ethanol exposure. **Polymer Degradation and Stability**. 89:109-24, 2005

ZYGOURA, P.D.; GOULAS, A.E.; RIGANAKOS, K.A.; KONTOMINAS, M.G. Migration of di-(2-ethylhexil)adipate and acetyltributyl citrate plasticizers from food-grade PVC film into isooctane: Effect of gamma radiation. **Journal of Food Engineering**. 78:870-7, 2007.

ZYGOURA, P.D.; PALEOLOGOS, E.K.; RIGANAKOS, K.A.; KONTOMINAS, M.G. Determination of diethylhexyladipate and acetyltributylcitrate in aqueous extracts after cloud point extraction coupled with microwave assisted back extraction and gas chromatographic separation. **Journal of Chromatography A**. 1093:29-35, 2005.

## **APÊNDICES**

## APÊNDICE A

Classificação	Descrição
Tipo I	alimentos aquosos não ácidos ( $\text{pH} > 5$ );
Tipo II	alimentos aquosos ácidos ( $\text{pH} \leq 5$ );
Tipo III	a. alimentos aquosos não ácidos contendo óleo ou gordura;
	b. alimentos aquosos ácidos contendo óleo ou gordura;
Tipo IV	alimentos oleosos ou gordurosos;
Tipo V	alimentos alcoólicos (conteúdo em álcool superior a 5% (v/v));
Tipo VI	alimentos sólidos secos ou de ação extrativa pouco significativa.

Fonte: ANVISA – Resolução 105/99

Quadro 1A: Classificação dos alimentos sob o ponto de vista da interação com as embalagens e equipamentos plásticos.

Classificação	Descrição
Simulante A	água destilada
Simulante B	solução de ácido acético em água destilada a 3% (m/v)
Simulante C	solução de etanol em água destilada a 15% ou na concentração mais próxima da real de uso
Simulante D	azeite de oliva refinado; n-heptano

Fonte: ANVISA – Resolução 105/99

Quadro 2A – Classificação e definição dos simulantes de alimentos para realização de ensaios de migração em embalagens

<b>Alimento</b>	<b>Simulante</b>
Tipo I	A
Tipo II	B
Tipo IIIa	A , D
Tipo IIIb	B , D
Tipo IV	D
Tipo V	C
Tipo VI	Nenhum, ou ocasionalmente A, B, C ou D, dependendo do tipo de alimento.

Fonte: ANVISA – Resolução 105/99

Quadro 3A - Simulantes indicados para cada tipo de alimento

N° de referência (de acordo com a União Européia – Diretiva 85/572)		Descrição dos alimentos	Simulantes Indicados			
			A	B	C	D
01	Bebidas					
06	Produtos de origem animal					
06-04	Carnes processadas (presunto, toucinho, etc.)	salame, fiambres,	X			X/4
07	Produtos lácteos					
07-04	Queijos:					
	A. Integral, com casca		X(1)	X(1)		
	B. Queijos fundidos		X(1)	X(1)		
	C. Outros		X(1)	X(1)		X/3(4)

(1) Usar apenas um dos dois simulantes:

A para alimentos de pH superior a 5.

B para alimentos de pH inferior ou igual a 5

(4) Caso se demonstre por meio de algum ensaio adequado que não existe contato oleoso com o plástico, pode-se suprimir o ensaio com o simulante D.

Fonte: ANVISA – Resolução 105/99

Quadro 4A – Classificação dos alimentos em função dos simulantes  
(parte do Quadro)

<b>Condições de contato para as piores condições de uso previstas</b>	<b>Condições de teste</b>
Tempo de contato	Duração do teste
$t \leq 5 \text{ min}$	Casos particulares
$5 \text{ min} < t \leq 0,5 \text{ horas}$	0,5 horas
⋮	⋮
$4 \text{ horas} < t \leq 24 \text{ horas}$	24 horas
$t > 24 \text{ horas}$	10 dias
Temperatura de contato	Temperatura de teste
$T \leq 5^{\circ}\text{C}$	$5^{\circ}\text{C}$
$5^{\circ}\text{C} < T \leq 20^{\circ}\text{C}$	$20^{\circ}\text{C}$
$20^{\circ}\text{C} < T \leq 40^{\circ}\text{C}$	$40^{\circ}\text{C}$
⋮	⋮

Fonte: Diretiva 82/711/CEE

Quadro 5A – Condições convencionais para os testes de migração com simulantes de alimentos.

<b>Simulante D</b>	<b>Isoctano</b>	<b>Etanol 95%</b>	<b>MPPO*</b>
10 dias – $5^{\circ}\text{C}$	0,5 dia – $5^{\circ}\text{C}$	10 dias – $5^{\circ}\text{C}$	_____
10 dias – $20^{\circ}\text{C}$	1 dia – $20^{\circ}\text{C}$	10 dias – $20^{\circ}\text{C}$	_____
10 dias – $40^{\circ}\text{C}$	2 dias – $20^{\circ}\text{C}$	10 dias – $40^{\circ}\text{C}$	_____
⋮	⋮	⋮	⋮

\* Óxido de Polifenileno modificado

Fonte: Diretiva 82/711/CEE

Quadro 6A – Convenções para os testes de migração com substituintes do simulante D

## APÊNDICE B

Tabela 1B – Resumo da análise de regressão para os diferentes simulantes de alimentos, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC brasileiro.

Fonte de variação	G.L. <sup>1</sup>	Quadrado médio		
		Simulantes a 5°C		
		Etanol 95%	Isoctano	Água
Regressão	1	5,102*	0,452 <sup>ns</sup>	0,0002 <sup>ns</sup>
Falta de ajustamento	1	2,971 <sup>ns</sup>	0,097 <sup>ns</sup>	9,00E-05 <sup>ns</sup>
Tempo	(2)	4,037	0,275	0,0002
Resíduo	24	0,890	0,890	0,890
		Simulantes a 20°C		
		Etanol 95%	Isoctano	Água
Regressão	1	11,049*	0,268 <sup>ns</sup>	1,67E-05 <sup>ns</sup>
Falta de ajustamento	1	0,028 <sup>ns</sup>	0,068 <sup>ns</sup>	6,42E-05 <sup>ns</sup>
Tempo	(2)	5,538	0,168	3,74E-05
Resíduo	24	0,890	0,890	0,890

<sup>1</sup> Grau de liberdade

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2B – Resumo da análise de regressão para os diferentes simulantes de alimentos, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHP presente no filme de PVC brasileiro.

Fonte de variação	G.L. <sup>1</sup>	Quadrado médio		
		Simulantes a 5°C		
		Etanol 95%	Isoctano	Água
Regressão	1	0,018*	0,028*	2,00E-05 <sup>ns</sup>
Falta de ajustamento	1	0,013*	0,007 <sup>ns</sup>	4,00E-05 <sup>ns</sup>
Tempo	(2)	0,016	0,017	3,00E-05
Resíduo	24	0,003	0,003	0,003
		Simulantes a 20°C		
		Etanol 95%	Isoctano	Água
Regressão	1	0,073*	0,010 <sup>ns</sup>	2,00E-06 <sup>ns</sup>
Falta de ajustamento	1	0,002 <sup>ns</sup>	0,002 <sup>ns</sup>	2,00E-05 <sup>ns</sup>
Tempo	(2)	0,037	0,006	8,78E-06
Resíduo	24	0,003	0,003	0,003

<sup>1</sup> Grau de liberdade

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.



Tabela 3B – Resumo da análise de regressão para os diferentes simulantes de alimentos, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC europeu.

Fonte de variação	G.L. <sup>1</sup>	Quadrado médio		
		Simulantes a 5°C		
		Etanol 95%	Isoctano	Água
Regressão	1	0,338*	0,034 <sup>ns</sup>	2,00E-07 <sup>ns</sup>
Falta de ajustamento	1	0,028 <sup>ns</sup>	0,018 <sup>ns</sup>	6,00E-08 <sup>ns</sup>
Tempo	(2)	0,183	0,023	1,11E-07
Resíduo	24	0,030	0,030	0,030
Simulantes a 20°C				
		Etanol 95%	Isoctano	Água
Regressão	1	0,051 <sup>ns</sup>	0,049 <sup>ns</sup>	1,00E-05 <sup>ns</sup>
Falta de ajustamento	1	0,020 <sup>ns</sup>	0,028 <sup>ns</sup>	1,00E-05 <sup>ns</sup>
Tempo	(2)	0,035	0,038	1,30E-05
Resíduo	24	0,030	0,030	0,030

<sup>1</sup> Grau de liberdade

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4B – Resumo da análise de regressão para os diferentes simulantes de alimentos, durante o tempo dos testes de migração do plastificante ATBC presente no filme de PVC europeu.

Fonte de variação	G.L. <sup>1</sup>	Quadrado médio		
		Simulantes a 5°C		
		Etanol 95%	Isoctano	Água
Regressão	1	0,090*	6,00E-06 <sup>ns</sup>	0,056*
Falta de ajustamento	1	0,040*	8,00E-06 <sup>ns</sup>	0,137*
Tempo	(2)	0,065	7,00E-06	0,096
Resíduo	24	0,006	0,006	0,006
Simulantes a 20°C				
		Etanol 95%	Isoctano	Água
Regressão	1	0,062*	0,001 <sup>ns</sup>	0,036*
Falta de ajustamento	1	0,002 <sup>ns</sup>	0,008 <sup>ns</sup>	0,137*
Tempo	(2)	0,032	0,004	8,64E-02
Resíduo	24	0,006	0,006	0,006

<sup>1</sup> Grau de liberdade

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>ns</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

## APÊNDICE C

Tabela 1C – Resumo da análise de regressão para os alimentos queijo mussarela e presunto, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC brasileiro, expresso em  $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ .

Fonte de variação	G.L. <sup>1</sup>	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		Quadrado médio ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )	
		Queijo	Presunto	Queijo	Presunto
Regressão linear					
Regressão	1	568,308*	296,673*	0,275*	0,141*
Falta de ajustamento	2	220,400*	49,569 <sup>n.s</sup>	0,106*	0,024 <sup>n.s</sup>
Tempo	(3)	336,369	131,937	0,163	0,063
Resíduo	12	17,874	17,874	0,009	0,009
Regressão quadrática					
Regressão	2	284,481*	157,906*	0,138*	0,075*
Falta de ajustamento	1	440,146*	79,999 <sup>n.s</sup>	0,212*	0,038 <sup>n.s</sup>
Tempo	(3)	336,369	131,937	0,163	0,063
Resíduo	12	17,874	17,874	0,009	0,009

<sup>1</sup> Grau de liberdade

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2C – Resumo da análise de regressão para os alimentos queijo mussarela e presunto, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHP presente no filme de PVC brasileiro, expresso em  $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ .

Fonte de variação	G.L. <sup>1</sup>	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		Quadrado médio ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )	
		Queijo	Presunto	Queijo	Presunto
Regressão linear					
Regressão	1	1,701*	0,034 <sup>n.s</sup>	8,00E-04*	1,61E-05 <sup>n.s</sup>
Falta de ajustamento	2	2,330*	0,853*	0,001*	0,0004*
Tempo	(3)	2,121	0,580	0,001	0,0003
Resíduo	12	0,046	0,046	2,33E-05	2,33E-05
Regressão quadrática					
Regressão	2	0,877*	0,509*	4,14E-04*	0,0002*
Falta de ajustamento	1	4,609*	15,593*	0,002*	0,0003*
Tempo	(3)	2,121	0,580	0,001	0,0003
Resíduo	12	0,046	0,046	2,33E-05	2,33E-05

<sup>1</sup> Grau de liberdade

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3C – Resumo da análise de regressão para os alimentos queijo mussarela e presunto, durante o tempo dos testes de migração do plastificante DEHA presente no filme de PVC europeu, expresso em  $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ .

Fonte de variação	G.L. <sup>1</sup>	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		Quadrado médio ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )	
		Regressão linear			
		Queijo	Presunto	Queijo	Presunto
Regressão	1	42,044*	8,6434*	0,020*	0,006*
Falta de ajustamento	2	17,986*	21,185*	0,009*	0,007*
Tempo	(3)	26,005	17,004	0,013	0,007
Resíduo	12	0,816	0,816	9,16E-04	9,16E-04
		Regressão quadrática			
		Queijo	Presunto	Queijo	Presunto
Regressão	2	21,066*	4,885*	0,010*	0,005*
Falta de ajustamento	1	35,883*	41,242*	0,017*	0,011*
Tempo	(3)	26,005	17,004	0,013	0,007
Resíduo	12	0,816	0,816	9,16E-04	9,16E-04

<sup>1</sup> Grau de liberdade

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4C – Resumo da análise de regressão para os alimentos queijo mussarela e presunto, durante o tempo dos testes de migração do plastificante ATBC presente no filme de PVC europeu, expresso em  $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ .

Fonte de variação	G.L. <sup>1</sup>	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )		Quadrado médio ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )	
		Regressão linear			
		Queijo	Presunto	Queijo	Presunto
Regressão	1	0,069 <sup>n.s</sup>	0,023 <sup>n.s</sup>	3,49E-05 <sup>n.s</sup>	1,06E-05 <sup>n.s</sup>
Falta de ajustamento	2	4,856*	0,393 <sup>n.s</sup>	0,002*	1,90E-04 <sup>n.s</sup>
Tempo	(3)	3,260	2,69E-01	0,002	1,31E-04
Resíduo	12	1,080	1,080	5,23E-04	5,23E-04
		Regressão quadrática			
		Queijo	Presunto	Queijo	Presunto
Regressão	2	0,677 <sup>n.s</sup>	0,138 <sup>n.s</sup>	3,36E-04 <sup>n.s</sup>	6,70E-05 <sup>n.s</sup>
Falta de ajustamento	1	8,428*	0,532 <sup>n.s</sup>	0,004*	2,57E-04 <sup>n.s</sup>
Tempo	(3)	3,260	0,269	0,002	1,31E-04
Resíduo	12	1,080	1,080	5,23E-04	5,23E-04

<sup>1</sup> Grau de liberdade

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

## APÊNDICE D

Tabela 1D – Resumo da análise de variância para a migração de diferentes plastificantes contidos nos filmes de PVC brasileiro e europeu em contato com queijo mussarela, presunto e suas simulações em etanol 95% e isoctano, expressos em  $\text{mg.kg}^{-1}$  e  $\text{mg.dm}^{-2}$ .

Plastificante Filme	Alimento	Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )	Quadrado médio para ( $\text{mg.dm}^{-2}$ )
DEHA Brasileiro	Queijo	Simulante	2	795,5368*	3,2431*
		Resíduo	6	25,2494	0,3125
DEHP Brasileiro	Queijo	Simulante	2	1,0227 <sup>n.s</sup>	0,0380*
		Resíduo	6	0,1741	0,0020
DEHA Brasileiro	Presunto	Simulante	2	15,2520 <sup>n.s</sup>	2,9931*
		Resíduo	6	27,8388	0,1822
DEHP Brasileiro	Presunto	Simulante	2	8,6563*	0,0100*
		Resíduo	6	0,6059	0,0014
DEHA Europeu	Queijo	Simulante	2	186,8117*	0,0972*
		Resíduo	6	0,7451	0,0093
ATBC Europeu	Queijo	Simulante	2	21,6410*	0,1218*
		Resíduo	6	0,3001	0,0014
DEHA Europeu	Presunto	Simulante	2	40,7422*	0,0882*
		Resíduo	6	0,6414	0,0053
ATBC Europeu	Presunto	Simulante	2	25,2366*	0,0564*
		Resíduo	6	0,1629	0,0008

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

<sup>n.s</sup> Não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

## APÊNDICE E

Tabela 1E – Média dos valores de propriedades mecânicas dos filmes de PVC após contato com queijo mussarela e presunto e com os simulantes alimentares (etanol 95%, isoctano e água) mantidos à temperatura de 5°C.

Filme de PVC	Simulante ou alimento	Após 24 horas		Após 15 dias	
		Carga máxima (N)	Alongamento na carga máxima (%)	Carga máxima (N)	Alongamento na carga máxima (%)
Brasileiro	Etanol 95%	28,10 ± 1,88 <sup>a</sup>	9,16 ± 0,92 <sup>b</sup>	26,27 ± 2,88 <sup>a</sup>	8,60 ± 0,53 <sup>b</sup>
	Isoctano	22,85 ± 0,66 <sup>b</sup>	9,27 ± 0,35 <sup>b</sup>	21,33 ± 2,55 <sup>b</sup>	12,13 ± 5,35 <sup>b</sup>
	Água	8,89 ± 0,89 <sup>d</sup>	148,20 ± 38,09 <sup>a</sup>	9,15 ± 0,63 <sup>d</sup>	180,49 ± 2,05 <sup>a</sup>
	Queijo	13,29 ± 0,97 <sup>c</sup>	169,18 ± 46,65 <sup>a</sup>	14,59 ± 0,74 <sup>c</sup>	174,81 ± 13,12 <sup>a</sup>
	Presunto	9,62 ± 1,74 <sup>c, d</sup>	132,56 ± 41,55 <sup>a</sup>	9,48 ± 0,45 <sup>d</sup>	148,96 ± 17,39 <sup>a</sup>
	Controle*	9,35 ± 0,85	171,60 ± 23,51	9,35 ± 0,85	171 ± 23,51
	dms**	4,165	46,206	4,165	46,206
Europeu	Etanol 95%	20,87 ± 1,26 <sup>a</sup>	9,50 ± 0,58 <sup>b</sup>	20,30 ± 2,16 <sup>a</sup>	8,42 ± 0,42 <sup>b</sup>
	Isoctano	11,47 ± 1,10 <sup>b</sup>	10,42 ± 1,83 <sup>b</sup>	14,75 ± 1,33 <sup>b</sup>	9,59 ± 1,36 <sup>b</sup>
	Água	7,55 ± 0,51 <sup>b, c</sup>	119,69 ± 6,65 <sup>a</sup>	6,86 ± 0,37 <sup>c</sup>	126,57 ± 4,89 <sup>a</sup>
	Queijo	6,47 ± 0,52 <sup>c</sup>	129,507 ± 5307 <sup>a</sup>	8,11 ± 0,52 <sup>c</sup>	114,75 ± 24,55 <sup>a</sup>
	Presunto	7,12 ± 0,54 <sup>c</sup>	117,82 ± 4,08 <sup>a</sup>	8,31 ± 1,77 <sup>c</sup>	136,28 ± 32,83 <sup>a</sup>
	Controle*	7,84 ± 1,13	130,12 ± 20,46	7,84 ± 1,13	130,12 ± 20,46
	dms**	4,165	46,206	4,165	46,206

Médias com letras diferentes, para o mesmo filme e em uma mesma coluna, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

\*\* dms: diferença mínima significativa.

\* Filme que não esteve em contato com os simulantes, alimentos ou submetido às variações de temperaturas.

Tabela 2E – Média dos valores de propriedades mecânicas dos filmes de PVC após 24 horas e 15 dias de contato com os simulantes, etanol 95%, isoctano e água sob temperatura de 5 e 20°C.

Filme de PVC	Simulante ou alimento	Carga máxima (N)	Alongamento na carga máxima (%)	Carga máxima (N)	Alongamento na carga máxima (%)
		Após 24 horas		Após 15 dias	
Brasileiro	Etanol 95%	28,10 ± 1,88 <sup>a</sup>	9,16 ± 0,92 <sup>b</sup>	26,27 ± 2,88 <sup>a</sup>	8,60 ± 0,53 <sup>b</sup>
	Isoctano	22,85 ± 0,66 <sup>b</sup>	9,27 ± 0,35 <sup>b</sup>	21,33 ± 2,55 <sup>b</sup>	12,13 ± 5,35 <sup>b</sup>
	Água	8,89 ± 0,89 <sup>c</sup>	148,20 ± 38,09 <sup>a</sup>	9,15 ± 0,63 <sup>c</sup>	180,49 ± 2,05 <sup>a</sup>
	Controle*	9,35 ± 0,85	171,60 ± 23,51	9,35 ± 0,85 <sup>c</sup>	171 ± 23,51
	dms	3,188	49,760	3,188	49,760
Europeu	Etanol 95%	20,87 ± 1,26 <sup>a</sup>	9,50 ± 0,58 <sup>b</sup>	20,30 ± 2,16 <sup>b</sup>	8,42 ± 0,42 <sup>b</sup>
	Isoctano	11,47 ± 1,10 <sup>b</sup>	10,42 ± 1,83 <sup>b</sup>	14,75 ± 1,33 <sup>c</sup>	9,59 ± 1,36 <sup>b</sup>
	Água	7,55 ± 0,51 <sup>c</sup>	119,69 ± 6,65 <sup>a</sup>	6,86 ± 0,37 <sup>a</sup>	126,57 ± 4,89 <sup>a</sup>
	Controle*	7,84 ± 1,13	130,12 ± 20,46	7,84 ± 1,13	130,12 ± 20,46
	dms	3,188	49,760	3,188	49,760
		20°C			
		Após 24 horas		Após 15 dias	
Brasileiro	Etanol 95%	25,88 ± 1,45 <sup>a</sup>	9,34 ± 0,24 <sup>b</sup>	23,25 ± 1,11 <sup>a</sup>	9,28 ± 0,46 <sup>b</sup>
	Isoctano	22,49 ± 0,57 <sup>b</sup>	8,61 ± 0,69 <sup>b</sup>	21,55 ± 1,98 <sup>a</sup>	12,26 ± 5,09 <sup>b</sup>
	Água	11,65 ± 0,49 <sup>c</sup>	229,90 ± 47,64 <sup>a</sup>	8,94 ± 0,77 <sup>b</sup>	159,99 ± 5,15 <sup>a</sup>
	Controle*	9,35 ± 0,85	171,60 ± 23,51	9,35 ± 0,85	171 ± 23,51
	dms	3,188	49,760	3,188	49,760
Europeu	Etanol 95%	24,07 ± 2,15 <sup>a</sup>	8,54 ± 0,42 <sup>b</sup>	19,31 ± 0,52 <sup>a</sup>	9,04 ± 0,95 <sup>b</sup>
	Isoctano	16,21 ± 0,96 <sup>b</sup>	8,71 ± 1,02 <sup>b</sup>	14,86 ± 1,41 <sup>b</sup>	9,47 ± 1,59 <sup>b</sup>
	Água	7,41 ± 0,82 <sup>c</sup>	137,51 ± 39,37 <sup>a</sup>	7,88 ± 0,90 <sup>c</sup>	153,08 ± 23,32 <sup>a</sup>
	Controle*	7,84 ± 1,13	130,12 ± 20,46	7,84 ± 1,13	130,12 ± 20,46
	dms	3,188	49,760	3,188	49,760

Médias com letras diferentes, para o mesmo filme e em uma mesma coluna, apresentam diferença significativa entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

dms: diferença mínima significativa.

\*Filme que não esteve em contato com os simulantes, alimentos ou submetido às variações de temperaturas.