

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS - FEA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

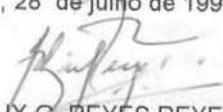
**ABSORVEDORES DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA
EM EMBALAGENS PLÁSTICAS E EM ÓLEOS VEGETAIS:
METODOLOGIA ANALÍTICA E ESTUDO DE MIGRAÇÃO**

MAGALI C. MONTEIRO DA SILVA T. MACHADO
MESTRE EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por MAGALI CONCEIÇÃO M. DA SILVA T. MACHADO e aprovada pela Comissão Julgadora em 28 de julho de 1997.

Campinas, 28 de julho de 1997.


Prof. Dr. FELIX G. REYES REYES
Presidente da Banca

Dr. FÉLIX G. R. REYES
ORIENTADOR

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos

1997

UNIDADE	OC		
N.º CHAMADA:	TUNICAMP		
	M18a		
V.	Ex.		
TOMBO BC/	31543		
PROC.	28197		
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00		
DATA	30/08/97		
N.º CPD			

CM-00100167-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

M18a Machado, Magali C. Monteiro da S. T.
Absorvedores de radiação ultravioleta em embalagens plásticas e em óleos vegetais: metodologia analítica e estudo de migração / Magali C. Monteiro da Silva T. Machado. -- Campinas, SP: [s.n.], 1997.

Orientador: Félix Guillermo Reyes Reyes
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Absorvedores. 2.Migração. 3.Análise cromatografica.
4.Plástico - embalagens. I.Reyes Reyes, Felix Guillermo.
II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA



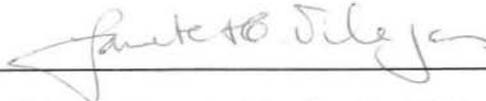
Prof. Dr. Félix G. R. Reyes
ORIENTADOR



Prof. Dra. Delia Rodrigues Amaya
MEMBRO



Prof. Dra. Heloísa Máscia Cecchi
MEMBRO



Prof. Dra. Janete Yariwake Villegas
MEMBRO

Prof. Dr. João Bosco Faria
MEMBRO

Prof. Dr. José Assis de Faria
MEMBRO



Prof. Dra. Suzane Rathe
MEMBRO

Campinas, de de 1997

À Bárbara e ao Domingos

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Félix G. R. Reyes, agradeço a orientação e a amizade ao longo dos cursos de mestrado e doutorado.

À Prof. Dra. Cristina Nerín, pela oportunidade de trabalhar no Laboratório de Química Analítica da Universidade de Zaragoza, por seu dinamismo e exemplo de como *seguir em frente*.

Ao Departamento de Alimentos e Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêutica da UNESP-Araraquara, pelo afastamento concedido para a realização deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, pelas oportunas sugestões.

Ao CNPq e ao Governo Espanhol, pelas bolsas concedidas.

À minha família, aos amigos de Campinas, ao Bosco, à Celia e à Filomena, pela paciência e carinho sempre dispensados. À Regina Furlani pela atenção e pelo suporte técnico virtuais.

A Ana, Begoña, Blanca, Carlos, Celia y Tomas, que me han enseñado a querer a los españoles. También a Berta y Alberto que llegaron después.

CONTEÚDO

RESUMO.....	i
SUMMARY.....	iii
INTRODUÇÃO.....	1
Referências Bibliográficas.....	4
OBJETIVOS.....	5
Capítulo 1- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
1.1 - Aditivos em polímeros.....	6
1.2 - Estabilizantes.....	8
1.2.1 - Estabilizantes contra radiação UV.....	8
1.2.1.1 - Absorvedores de radiação UV.....	12
1.2.1.2 - Outros estabilizantes contra radiação UV.....	14
1.2.2 - Aspectos técnicos dos absorvedores de radiação UV.....	16
1.3 - Estabilidade dos alimentos à luz.....	19
1.4 - Embalagem de óleos vegetais.....	20
1.5 - Métodos analíticos empregados na determinação de absorvedores de radiação UV em polímeros.....	23
1.6 - Uso de simulantes de alimentos nos estudos de migração.....	33
1.8 - Aspectos toxicológicos dos absorvedores de radiação UV.....	37
1.8.1 - Toxicidade aguda.....	38
1.8.2 - Toxicidade subcrônica.....	41
1.8.3 - Toxicidade crônica.....	41
1.8.4 - Situação atual e tendências da avaliação do uso seguro de aditivos para material de embalagem.....	42
1.7 - Aspectos da legislação dos estabilizantes de radiação UV.....	45
1.9 - Referências Bibliográficas.....	56

Capítulo 2- DETERMINATION OF UV STABILIZERS BY HIGH PERFORMANCE-SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY.....	66
Abstract.....	66
Introduction.....	66
Experimental.....	67
Materials.....	67
Preparation of samples for analysis.....	67
High performance-size exclusion chromatography.....	67
Gas chromatography/mass spectrometry.....	67
Quantitative evaluation.....	68
Recovery studies.....	68
Results and discussion.....	68
Behaviour of the SEC column.....	68
Overview of the analytical methodology.....	68
Characterization of additives in PET bottles.....	70
Quantification of UV stabilizers in PET bottles.....	71
Recovery studies.....	76
Conclusions.....	76
Acknowledgements.....	76
References.....	76
Errata.....	78
Capítulo 3- A GC/MS METHOD TO DETERMINE UV STABILIZERS IN PET BOTTLES.....	79
1 Introduction.....	80
2 Experimental.....	81
2.1 Standards and bottles.....	81
2.2 Extraction and clean-up.....	82
2.3 Gas chromatography/mass spectrometry.....	82
2.4 Procedure.....	83

3 Results and discussion.....	83
3.1 Method development.....	83
3.2 PET bottle analysis.....	84
4 Conclusions.....	86
5 References.....	87

Capítulo 4- MIGRATION BEHAVIOUR OF TINUVIN P, AN UV STABILIZER FROM PET BOTTLES, INTO FATTY FOOD SIMULANTS 95

Abstract.....	96
Introduction.....	97
Experimental.....	98
Chemicals and bottles.....	98
Fatty-food simulants.....	99
Test samples and contact.....	99
Sample treatment and analysis.....	99
Gas chromatography/mass spectrometry.....	100
Stability studies.....	100
Quantitation.....	101
Results and discussion.....	101
Fatty-food simulants.....	101
Sample treatment and analysis.....	101
Migration and stability results.....	102
Conclusions.....	104
Acknowledgement	104
References.....	104

CONCLUSÕES.....	113
ANEXOS.....	116
Anexo 1.....	116
Anexo 2.....	117
Anexo 3.....	123

RESUMO

O trabalho centrou-se no estudo de absorvedores de radiação ultravioleta (UV) utilizados em garrafas de polietilenotereftalato (PET) destinadas ao acondicionamento de óleos vegetais.

Duas metodologias de análise, uma utilizando a Cromatografia por Exclusão-CLAE¹/UV e outra a CG/EM², foram desenvolvidas. Os componentes de uma mistura sintética de antioxidantes e absorvedores de radiação UV contendo BHT, Tinuvin 326, Cyasorb UV 5411, Tinuvin P e Irgafos 168, foram separados e quantificados por Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV. Os limites de detecção obtidos foram de 0,1 µg/g, exceto para Irgafos 168 (1,0 µg/g), e os valores do coeficiente de variação foram inferiores a 3 %, em todos os casos. Tinuvin P foi identificado e quantificado nas diferentes partes da garrafa (gargalo, corpo e fundo), tendo sido determinado um nível de 12 mg /100 g PET. O método revelou-se simples e permitiu, em apenas uma etapa, a separação do polímero, do óleo e do absorvedor de radiação UV, assim como a quantificação desse último. A identidade das substâncias presentes nos extratos das garrafas de PET, isoladas por Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV, foi confirmada por CG/EM. Essa técnica permitiu ainda, a identificação de dímeros cíclicos de PET presentes nos extratos.

Na metodologia utilizando CG/EM o procedimento incluiu a extração dos absorvedores de radiação UV, limpeza dos extratos orgânicos e análise por CG/EM em modo SIM³. Os limites de detecção obtidos para uma mistura sintética contendo Tinuvin 326, Tinuvin 327, Tinuvin P e Cyasorb UV 5411, foram de 20 pg

¹ Cromatografia líquida de alta eficiência

² Cromatografia gasosa/espectrometria de massa

³ Monitoração de íons selecionados

e, para BHT, Chimassorb 81 e Cyasorb UV 24, de 0,05, 260 e 2200 pg, respectivamente. Os valores do coeficiente de variação foram menores do que 5 %. Tinuvin P foi identificado e quantificado nas diferentes partes da garrafa (corpo, fundo e gargalo) de PET, tendo sido determinado um nível de 13 mg/100 g PET. Esta metodologia foi também utilizada nos estudos de migração e de estabilidade, devido à sensibilidade e especificidade requeridas nos mesmos.

O comportamento da migração de Tinuvin P foi avaliado utilizando vários simulantes gordurosos, tais como óleo de soja, óleo de oliva, n-heptano e isoctano, sob condições de contato de 2 a 10 dias a 40 °C (imersão total). A estabilidade de vários absorvedores de radiação UV foi também estudada empregando-se os simulantes n-heptano e isoctano. A perda de Tinuvin P nos simulantes, após 10 dias a 40 °C, foi de 6 e 10 % em isoctano e n-heptano, respectivamente. Outros absorvedores de radiação UV apresentaram perdas mais elevadas (de até 30 % para Tinuvin 327). Os resultados indicaram que, nos estudos de migração específica, a estabilidade da substância de interesse deve ser estabelecida no simulante, de forma a evitar que o resultado da migração seja subestimado. Visando quantificar o absorvedor de radiação UV migrado, as soluções de n-heptano e isoctano foram concentradas e diretamente analisadas por CG/EM, em modo SIM. No caso dos óleos de oliva e de soja, o Tinuvin P foi isolado através de coluna de exclusão molecular e quantificado por CG/EM, em modo SIM. O isoctano mostrou ser um simulante gorduroso mais adequado do que o n-heptano para o estudo de migração do Tinuvin P de garrafas de PET. Níveis mais elevados de Tinuvin P migraram para os óleos de soja e de oliva, comparativamente ao n-heptano. Esses resultados sugerem que os métodos oficiais recomendados para estudos de migração específica, devem ser revistos uma vez que os níveis de migração determinados usando n-heptano como simulante poderiam ser subestimados quando comparados aos óleos vegetais.

SUMMARY

This work was aimed to study UV stabilizers used in polyethyleneterephthalate (PET) bottles intended to packaging for edible oil.

Analytical methodologies employing SEC-HPLC¹/UV and GC/MS² were developed to determine UV stabilizers. The components of a synthetic mixture of antioxidants and UV stabilizers containing BHT, Tinuvin 326, Cyasorb UV 5411, Tinuvin P and Irgafos 168 were separated and quantified by SEC-HPLC/UV. The detection limit obtained for all the compounds was 0.1 µg/g, except for Irgafos 168 (1.0 µg/g). Relative standard deviation values were lower than 3 %. Tinuvin P was identified and quantified in different sections of the PET bottle (top, body and bottom), at a level of 12 mg/100 g PET. This method allowed the separation of the polymer, the oil and the Tinuvin P in only one run, and also made Tinuvin P quantification possible, without further handling. The identity of the compounds present in the PET bottle extracts, and isolated by SEC-HPLC/UV, was confirmed by GC/MS. This technique also allowed the identification of cyclic dimers in the extracts.

A GC/MS method was also developed to determine UV stabilizers in PET bottles. The procedure included extraction of the UV stabilizers and clean-up of the organic extract, followed by SIM³ mode GC/MS analysis. The detection limits obtained for a synthetic mixture of Tinuvin 326, Tinuvin 327, Tinuvin P and Cyasorb UV 5411 were 20 pg, and for BHT, Chimassorb 81 and Cyasorb UV 24, 0.05, 260 and 2200 pg, respectively. Relative standard deviation values were

¹ High performance-size exclusion chromatography

² Gas chromatography/mass spectrometry

³ Single ion monitoring

lower than 5%. Tinuvin P was identified and quantified in different sections of PET bottles (top, body and bottom), at a level of 13 mg/100 g PET. Due to the sensitivity and specificity required, the GC/MS method was also used in the migration and stability studies.

The migration behaviour of Tinuvin P was investigated by using several fatty-food simulants such as olive oil, soybean oil, n- heptane and isooctane, at exposure conditions of 2 to 10 days at 40 °C (total immersion). The stability behaviour of several UV stabilizers in n-heptane and isooctane was also studied. Tinuvin P was not stable in the simulants, after 10 days at 40 °C losses of 6 and 10 % in isooctane and n-heptane were verified, respectively. Other UV stabilizers at the same experimental conditions showed higher losses (up to 30 % for Tinuvin 327). This results indicated that when carrying out specific migration studies, the stability of the substance of interest should be established in the food simulant, to avoid the underestimation of the real migration behaviour. In order to quantify the UV stabilizer migrated, n- heptane and isooctane solutions were concentrated and directly analysed by SIM mode GC/MS. For olive and soybean oils, Tinuvin P was isolated by using size-exclusion chromatography and quantified by SIM mode GC/MS. Isooctane appeared to be a more suitable fatty-food simulant than n-heptane for the migration study of Tinuvun P from PET. Higher levels of Tinuvin P migrated to olive and soybean oils rather than n-heptane. This result suggest that the recommended official methods for specific migration studies, should be revised since the migration levels using n-heptane as fatty-food simulant could be underestimated when compared to edible oils.

INTRODUÇÃO

A demanda progressiva de alimentos embalados vem despertando, a nível mundial, o interesse da indústria de embalagens, da indústria de alimentos, dos consumidores, dos pesquisadores e de órgãos governamentais, no sentido de manter a qualidade e aumentar a vida-de-prateleira dos produtos por períodos de tempo cada vez maiores e sob condições adversas (RICE, 1987). O emprego e o desenvolvimento de embalagens mais atraentes do ponto de vista do consumidor e adequadas a uma maior estabilidade dos alimentos estão relacionados, entre outros fatores, aos materiais utilizados na sua fabricação e à presença de compostos capazes de migrar das embalagens para os alimentos.

A interação alimento/embalagem é um tópico amplo que inclui, o transporte de gases, vapores, água e outros compostos de baixa massa molecular do alimento através da embalagem, do ambiente para a embalagem e dessa para o alimento, do alimento para dentro da embalagem e da embalagem para o alimento. Assim, esta interação pode levar a modificações químicas no alimento, na embalagem ou em ambas (IFT, 1988). Cabe destacar que, os processos fundamentais pelos quais substâncias traço migram das embalagens para os alimentos baseiam-se na teoria da difusão (GILBERT *et alii*, 1980).

Na fabricação de materiais de embalagem são empregados muitos coadjuvantes de processo, visando o processamento adequado, a modificação de determinadas propriedades do material de embalagem, assim como sua estabilidade, no caso de embalagens plásticas. Na produção de resinas termoplásticas muitos tipos diferentes de compostos são incorporados às mesmas com a finalidade de conferir características específicas. Estes aditivos podem ser classificados quanto à sua função em deslizantes, antioxidantes, agentes anti-estático e anti-bloqueio, estabilizantes, corantes e catalisadores (DOMENE,

1982, MILES & BRISTON, 1975, IFT, 1988), sendo a maioria usada em quantidades de 1-2% (SEYMOUR, 1986, citado por IFT, 1988).

Além dos aditivos, podem estar presentes nos materiais de embalagem resíduos relacionados ao processo de conversão dos plásticos, tais como monômeros, oligômeros, compostos de degradação e solventes residuais (KIM-KANG, 1990, FERNANDES *et alii*, 1987).

Existe hoje uma crescente preocupação com a migração de aditivos das embalagens para os alimentos. Além da redução da resistência mecânica das embalagens, existe a possibilidade de uma ação tóxica para o consumidor relacionada ao tipo e quantidade de compostos migrados.

As pesquisas no campo da migração a partir de materiais plásticos em contato com alimentos são muito recentes. O baixo nível de concentração das substâncias que migram e a complexidade das matrizes (plásticos, alimentos ou simulantes) impõe o uso de técnicas analíticas sensíveis e específicas, muitas vezes não disponíveis, requerendo assim o desenvolvimento de novas metodologias.

No Brasil, a regulamentação do uso de materiais plásticos na elaboração de embalagens destinadas ao contato com alimentos foi recentemente revisada, como consequência das negociações realizadas no MERCOSUL. As resoluções do MERCOSUL estabeleceram as listas positivas de polímeros e resinas para embalagens e equipamentos em contato com alimentos e de aditivos para materiais plásticos, as quais dispõem sobre as restrições de uso, especificações e limites de composição e migração de substâncias (MERCOSUL, 1995). As resoluções do MERCOSUL foram implementadas no país através da Portaria nº 26 da Secretaria de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1996), em cujo regulamento técnico estão as disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos.

Ainda assim, dispõe-se de poucas informações sobre a migração de absorvedores de radiação ultravioleta (UV) das embalagens para os alimentos, o que torna cada vez mais relevante o conhecimento dos fatores que influenciam seu processo de migração.

Como os alimentos são constituídos de misturas de substâncias complexas, existem grandes dificuldades analíticas no estudo da migração de aditivos de materiais de embalagem. Assim sendo, diversos tipos de simulantes vem sendo propostos para tais estudos, pelo fato dos mesmos serem constituídos por substâncias de composição química mais simples, com menor quantidade de interferentes. Contudo, cada classe de simulante deve apresentar comportamento de migração semelhante ao tipo de alimento ao qual está substituindo.

O presente estudo apresenta duas metodologias de análise desenvolvidas para a determinação de absorvedores de radiação UV em polietilenotereftalato (PET), tendo sido utilizadas as técnicas de Cromatografia por Exclusão-CLAE¹/UV e de CG/EM². Foram também avaliados o comportamento de migração e a estabilidade de absorvedores de radiação UV em diferentes condições de tempo e temperatura, utilizando simulantes gordurosos.

¹ Cromatografia líquida de alta eficiência

² Cromatografia gasosa/espectrometria de massa

Referências Bibliográficas

- BRASIL. Portaria nº 26, de 25 de março de 1996, da Secretaria de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde. Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 25 de março. 1996. Seção I, p. 4936 a 4948.
- DOMENE, O.L. Migração de aditivos de embalagens flexíveis para alimentos. **Bol. SBCTA**, Campinas, v.16, n.1, p.17-27, jan/mar, 1982.
- FERNANDES, M.H.C., GARCIA, E.E.C., PADULA, M. **Migração de componentes de embalagens plásticas para alimentos**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem de Alimentos-CETEA, ITAL/SBCTA, 1987, 175p.
- GILBERT, S. G., MILTZ, J., GIACIN, J. R. Transport considerations of potential migrants from food packaging materials. **J. Food Process. Preserv.**, Westport, v. 4, n. 1-2, p. 27-49, mar/jun., 1980.
- IFT. Migration of Toxicants, flavors, and odor-active substances from flexible packaging material to food. A Scientific Status Summary by the Expert Panel on Food Safety and Nutrition, Inst. of Food Technologists. **Food Technol.**, Chicago, v.42, n.7, p.95-102, july, 1988.
- KIM-KANG, H. Volatiles in packaging materials. **Critical Rev. Food Sci. Nut.**, Boston, v.29, n.4, p.255-271, july/aug., 1990.
- MERCOSUL, GMC/Res. nº 87/93: Lista positiva de polímeros e resinas para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Montevideo: Mercosul, 1995.
- MERCOSUL, GMC/Res. nº 95/94: Lista positiva de aditivos para materiais plásticos em contato com alimentos. Montevideo: Mercosul, 1995.
- MILES, D.C.; BRISTON, J.H. **Tecnologia dos polímeros**. São Paulo: Polígono, 1975. 573 p.
- RICE, J. Flavor/odor effects of plastic packaging on food products. **Food Processing**, Chicago, v.48, n.11, p.158-161, october, 1987.

OBJETIVOS

Os objetivos do trabalho foram: - desenvolver metodologia analítica para a determinação de absorvedores de radiação ultravioleta (UV), da classe das 2-hidroxibenzofenonas e 2-(2'-hidroxifenil)benzotriazóis, presentes em embalagens de polietilenotereftalato (PET) utilizadas no acondicionamento de óleos vegetais; -realizar estudos de migração e estabilidade destes absorvedores, empregando simulantes de alimentos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Desenvolver e otimizar metodologia analítica para determinação de absorvedores de radiação UV por Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV.

Desenvolver e otimizar metodologia analítica para determinação de absorvedores de radiação UV por CG/EM.

Utilizar as metodologias desenvolvidas para determinar absorvedores de radiação UV em garrafas de PET destinadas ao acondicionamento de óleos vegetais.

Estudar a migração de absorvedores de radiação UV em garrafas de PET empregando simulantes gordurosos (n-heptano, isoctano, óleo de soja e óleo de oliva).

Estudar a estabilidade dos absorvedores de radiação UV nas condições de migração empregadas.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1- Aditivos em polímeros

Aditivos são substâncias empregadas na produção de polímeros para reforçar propriedades mecânicas, para reduzir os custos dos polímeros, para evidenciar determinadas propriedades, como por exemplo, resistência à chama, e para modificação da estrutura polimérica (MILES & BRISTON, 1975). São, também, compostos fisicamente dispersos na matriz polimérica, mas que não afetam de maneira significativa a estrutura molecular do polímero.

Os aditivos usados em materiais plásticos são normalmente classificados segundo sua função específica. MASCIA, 1974 (citado por FERNANDES *et alii*, 1987), classifica os aditivos usados em polímeros em: a) aditivos que auxiliam o processo de fabricação como os estabilizantes de processo (antioxidantes e estabilizantes de calor), os lubrificantes, os auxiliares de processo (agente anti-bloqueio e anti-estático, melhoradores de propriedades de fluxo e agentes deslizantes); b) aditivos que modificam as propriedades mecânicas do material como os plastificantes e flexibilizantes, as cargas de reforço e os agentes que produzem aumento de resistência mecânica; c) aditivos usados para a redução dos custos de formulação como os diluentes e cargas especiais; d) aditivos modificadores de propriedades de superfície como os agentes anti-estático, anti-bloqueio e anti-desgaste, além dos agentes deslizantes e os promotores de adesão; e) aditivos modificadores de propriedades óticas como os pigmentos e tintas e os branqueadores; f) aditivos anti-envelhecimento como os antioxidantes e estabilizantes contra a radiação ultra violeta (UV) e os fungicidas e bactericidas, e; g) aditivos que atuam como agentes de expansão e retardadores de chama.

A incorporação dos aditivos é, geralmente, feita no processo de fabricação da resina com o objetivo de se obter a mais perfeita homogeneização do material para que suas propriedades sejam uniformes. Entretanto, esta incorporação de aditivos também pode ser feita após a fabricação da resina pelo uso de concentrados ou *master-batches*, fabricados com os aditivos desejados (DOMENE, 1982). Esses concentrados ou *master-batches* são constituídos por uma resina que age como veículo, à qual os aditivos são incorporados de maneira concentrada, para depois serem dispersos ou diluídos na embalagem final a que se destina.

Dentre os requisitos mais importantes que um aditivo deve ter destacam-se o de ser efetivo para o objetivo proposto, ser economicamente viável e o de não apresentar perigo para a saúde do consumidor.

É importante que o aditivo não volatilize durante o processamento, nem exude para a superfície do material. Além disso, o aditivo não deve ser extraído por líquidos com os quais a matriz polimérica venha a entrar em contato, nem migrar para esses produtos.

Sob o ponto de vista da migração, os aditivos mais estudados têm sido os antioxidantes, os plastificantes, os lubrificantes e os estabilizantes (FERNANDES *et alii*, 1987). Os antioxidantes têm a função de inibir ou retardar degradações térmicas ou oxidativas que fragilizam os polímeros em consequência da quebra das cadeias (DOMENE, 1982). Os plastificantes reduzem a temperatura de processamento do polímero abaixo das condições de decomposição, modificam propriedades de processamento e tornam o produto final mais flexível. Os lubrificantes facilitam o fluxo de um polímero em relação a ele mesmo ou contra outro material. Os estabilizantes protegem os polímeros da decomposição, principalmente térmica e fotooxidativa (FERNANDES *et alii*, 1987).

1.2- Estabilizantes

Os agentes estabilizantes evitam a deterioração física e química dos polímeros durante seu processamento e uso como embalagem. A degradação química da estrutura polimérica depende principalmente da configuração dos polímeros. Os processos de degradação que podem afetar os polímeros são o auto-envelhecimento, a oxidação, o efeito da luz e do calor e a quebra (MILES & BRISTON, 1975).

Estabilizantes ao calor são aditivos incorporados aos polímeros visando protegê-los da decomposição devido ao efeito das elevadas temperaturas empregadas para a transformação do material.

A estabilização contra radiação UV é considerada um caso peculiar, uma vez que também age contra a oxidação. A incorporação de estabilizantes contra radiação UV aos polímeros é capaz de impedir a perda de cor e de rigidez, a decomposição e a quebra (MILES & BRISTON, 1975).

1.2.1- Estabilizantes contra radiação UV

Os estabilizantes contra radiação UV são substâncias orgânicas que protegem materiais poliméricos da degradação provocada pela luz solar e por radiação UV artificial.

O sol emite radiação eletromagnética com comprimento de onda na faixa do raio X até o infra-vermelho. A atmosfera da terra, particularmente o ozônio da estratosfera, absorve as radiações altamente energéticas de baixo comprimento de onda e apenas radiação com comprimento de onda maior que 290 nm alcança a superfície da Terra. Embora apenas uma quantidade relativamente pequena da

energia solar esteja na região do UV (290-400 nm), a mesma é responsável pela maioria das degradações fotoquimicamente induzidas.

A quantidade de energia dos fótons encontrados na região do UV é suficiente para exceder a energia de dissociação de ligações covalentes de materiais poliméricos (**Tabela 1**) iniciando assim, as reações de degradação (DEXTER, 1983).

A absorção de radiação eletromagnética pelas resinas está relacionada à sua estrutura. Hidrocarbonetos saturados não absorvem radiação eletromagnética em comprimento de onda acima de 250 nm. Entretanto, na presença de duplas ligações (cromóforos) a absorção ocorre em comprimentos de onda maiores. Isto é particularmente pronunciado para duplas ligações entre átomos de carbono e heteroátomos. Assim, compostos carbonilílicos absorvem acima de 290 nm (GUGUMUS, 1993).

Tabela 1 - Energias das radiações de diferentes comprimentos de onda na região do UV e energias de ligação das ligações químicas típicas em polímeros.

Comprimento de onda (nm)	Energia (KJ/Einstein)	Tipo de ligação	Energia de ligação (KJ/mol)
200	418	C-H	356-418
300	398	C-C C-O	314-335 314-335
350	339	C-Cl	293-335
400	297	C-N	251-272

Fonte: DEXTER (1983).

Radiação de comprimento de onda maior que 290 nm também induz a degradação de polímeros que não contém cromóforos em suas estruturas. Isso é causado por traços de impurezas resultantes da produção dos polímeros, tais como coadjuvantes de processo, corantes, etc., ou por produtos de oxidação dos polímeros frequentemente presentes em polímeros comerciais (GUGUMUS, 1993; DEXTER, 1983).

Os grupos cromóforos absorvem energia da radiação UV passando para o estado excitado. Essa absorção pode ser responsável pela quebra de ligações químicas e formação de radicais que provocam reações em cadeia. A fotoxidação do material polimérico pode ser representada segundo o esquema apresentado na **Figura 1**.

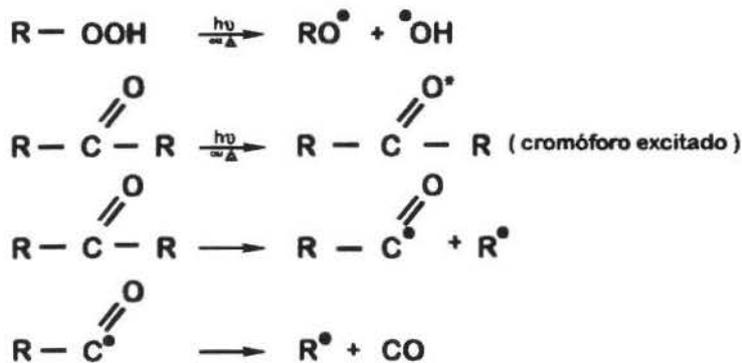
Cabe ainda observar que, na presença de oxigênio, os polímeros irão simultaneamente sofrer oxidação e fotoxidação. Frequentemente é difícil distinguir processos de oxidação induzidos por radiação eletromagnética (fotoquímicos) daqueles induzidos pelo calor, os quais podem ocorrer simultaneamente (GUGUMUS, 1993).

A iniciação da fotoxidação pode ser retardada por aditivos que funcionam por mecanismos fotofísicos como os absorvedores de radiação UV, e por supressores de cromóforos fotoexcitados.

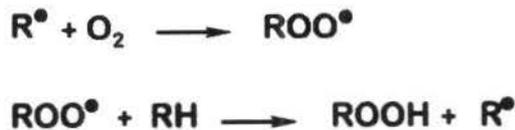
Segundo GUGUMUS (1993), a primeira possibilidade de proteção contra a radiação UV é baseada na prevenção da absorção ou na redução da quantidade de radiação absorvida pelos cromóforos. A segunda possibilidade seria a redução da taxa de iniciação através da desativação dos estados excitados dos grupos cromóforos. A terceira possibilidade surge ao se considerar a etapa de divisão fotolítica da cadeia. Para impedi-la, a partir disso, a proteção à radiação UV implicaria na transformação de hidroperóxidos em compostos mais estáveis, sem geração de radicais livres, antes que os hidroperóxidos fossem submetidos a

clivagem fotolítica. Isto também significaria uma redução na taxa de iniciação. A quarta possibilidade de intervenção no processo de degradação fotooxidativa consiste na eliminação dos radicais livres o mais rápido possível após sua formação, tanto como radicais alquila quanto como radicais peróxido.

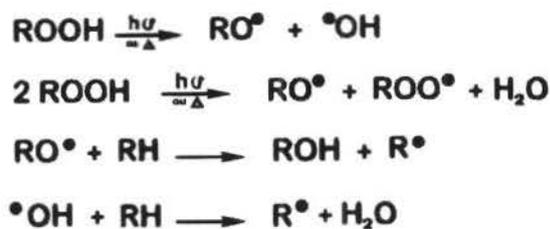
Iniciação da cadeia



Propagação da cadeia



Divisão da cadeia



Terminação da cadeia

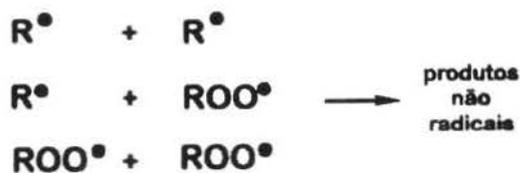


FIGURA 1- Esquema das reações de oxidação e de fotooxidação de materiais poliméricos (DEXTER, 1983; GUGUMUS, 1993).

Os mecanismos descritos na literatura (HELLER & BLATTMAN, 1972 e 1973) correspondem essencialmente às quatro possibilidades acima consideradas. A classificação dos estabilizantes contra radiação UV também é baseada nesses mecanismos. As principais classes de estabilizantes contra radiação UV são os absorvedores de radiação UV, os supressores de estados excitados, os bloqueadores de radicais livres e as substâncias que decompõem hidroperóxidos.

1.2.1.1- Absorvedores de radiação UV

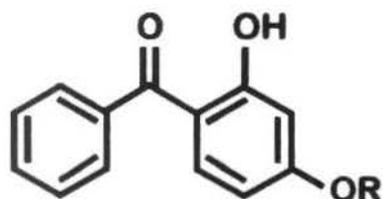
O mecanismo de proteção dos absorvedores de radiação UV é essencialmente baseado na absorção da radiação UV prejudicial e sua dissipação na forma de calor, de maneira que não há indução à fotossensibilização, pois muito menos energia atinge os grupos cromóforos no substrato.

Os absorvedores de radiação UV apresentam alto poder de absorção e são compostos muito estáveis à radiação, mesmo por tempo de exposição prolongado.

Vários compostos orgânicos são empregados como absorvedores de radiação UV, sendo as hidroxibenzofenonas e os hidroxifenilbenzotriazóis as classes mais comumente usadas. Além dessas classes, os salicilatos, os cianoacrilatos, os hidroxibenzoatos e os oxalanilídeos também absorvem parte da radiação UV. Na **Figura 2** estão apresentadas as estruturas químicas dos compostos usados como absorvedores de radiação UV.

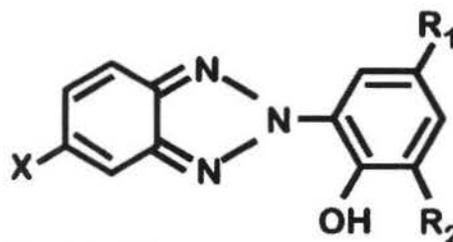
O mecanismo pelo qual as hidroxibenzofenonas dissipam a energia radiante absorvida envolve um mecanismo ceto-enólico das estruturas tautoméricas (**Figura 3**).

Hidroxibenzofenonas



R = H, CH₃ a C₁₂ H₂₅

Hidroxifenilbenzotriazóis

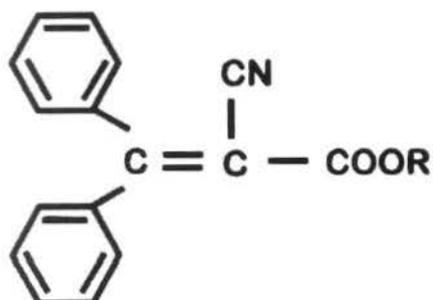


X = H, Cl

R₁ = CH₃ a C₈ H₁₇, alquilas lineares e ramificadas

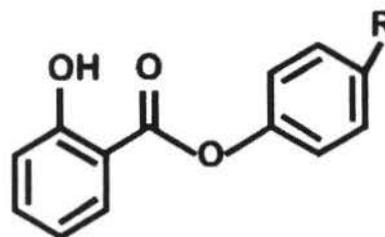
R₂ = H e alquilas ramificadas

Cianoacrilatos



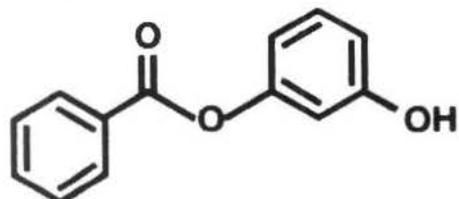
R = C₂H₅, terc. C₈ H₁₇

Salicilatos

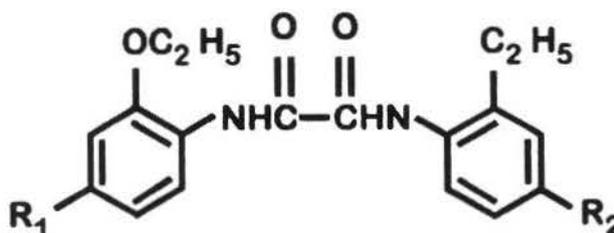


R = terc. C₄ H₉, terc. C₈ H₁₇

Hidroxibenzoatos



Oxalanilídeos



R₁ = R₂ = terc. C₄ H₉

FIGURA 2- Estrutura química de absorvedores de radiação UV (DEXTER, 1983; GUGUMUS, 1993).

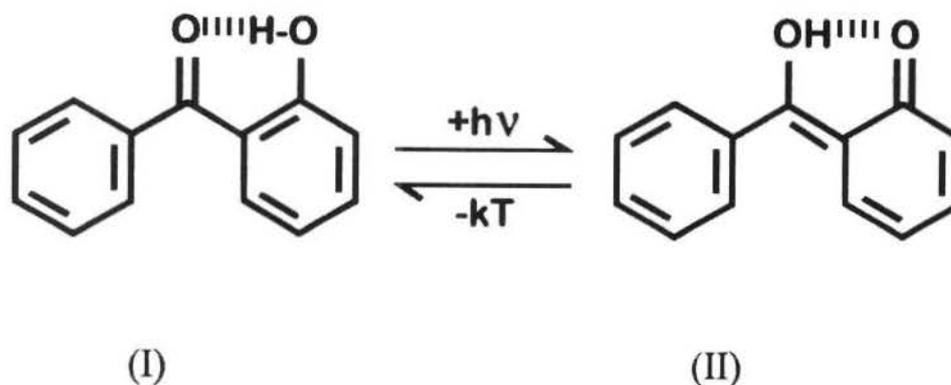


FIGURA 3- Estruturas tautoméricas da 2-hidroxibenzofenona (GUGUMUS, 1993).

Sob exposição à radiação, (I) é transformado em enol (II), o qual retorna à sua forma inicial (I) com perda de energia térmica para o meio (**Figura 3**).

Os hidroxifenilbenzotriazóis dissipam a energia absorvida de maneira análoga às hidroxibenzofenonas. Entretanto, de acordo com CARLSSON *et alii* (1972) os hidroxifenilbenzotriazóis atuam exclusivamente como absorvedores de radiação UV, enquanto que as hidroxibenzofenonas conferem estabilidade adicional através de transferência de energia.

1.2.1.2- Outros estabilizantes contra radiação UV

a) Substâncias que decompõem hidroperóxidos:

São compostos que decompõem peróxidos em produtos estáveis sem radicais livres. Complexos metálicos de compostos que contém enxofre como os dialquilditiocarbamatos, os dialquilditiofosfatos e os tiobisfenolatos são eficientes para decompor hidroperóxidos (GUGUMUS, 1993).

b) Supressores de estados excitados:

Este tipo de estabilizante contra radiação UV retira a energia absorvida dos cromóforos excitados de um polímero, dissipando-a como calor ou como radiação fluorescente ou fosforescente. Após a transferência de energia, o cromóforo retorna ao estado fundamental.

Os típicos supressores de estados excitados são os quelatos de níquel, os quais também atuam na decomposição de hidroperóxidos ou no bloqueio de radicais livres.

c) Bloqueadores de radicais livres:

Esses compostos promovem a estabilização contra radiação UV através de reação com os radicais intermediários formados nas reações em cadeia durante a degradação fotooxidativa.

As aminas estericamente impedidas são os compostos mais empregados como bloqueadores de radicais livres. Embora seu mecanismo de proteção contra a fotodegradação ainda não esteja completamente esclarecido (DEXTER, 1983), supõe-se que estes compostos funcionem primariamente como antioxidantes estáveis à radiação, nos quais a amina impedida e seus produtos de oxidação funcionam como bloqueadores de radicais livres (**Figura 4**). De acordo com esse mecanismo, o >NH é consumido pela oxidação induzida por radicais livres, mas no processo é convertido a espécie que bloqueiam os radicais alquila ($R\bullet$) e peróxidos ($ROO\bullet$), os quais são responsáveis pelas reações de propagação da cadeia (ver **Figura 1**).

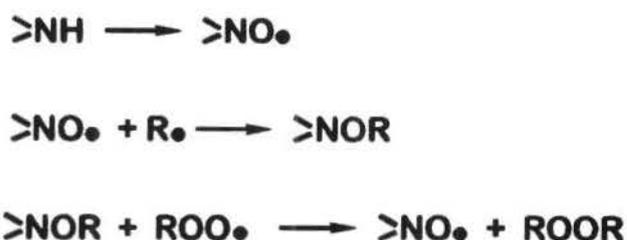


FIGURA 4- Mecanismo de ação antioxidante das aminas estericamente impedidas (DEXTER, 1983).

Aminas estericamente impedidas e radicais nitrosila associados com hidroperóxidos, aumentam sua eficácia em bloquear radicais livres produzidos por decomposição fotolítica de hidroperóxidos. Ainda, as aminas estericamente impedidas induzem a decomposição de hidroperóxidos formados na oxidação de polipropileno (PP) na ausência de luz (DEXTER, 1983; GUGUMUS, 1993).

1.2.2- Aspectos técnicos dos absorvedores de radiação UV

Dentre os fatores a serem considerados na escolha de um absorvedor de radiação UV cabe destacar: poder de proteção, estado físico (líquido/sólido, ponto de ebulição), tamanho de partícula, estabilidade térmica, possibilidade de interação com outros aditivos e cargas, volatilidade, toxicidade quando incorporado às embalagens e sua capacidade de migração, além da compatibilidade com o material plástico considerado.

Para se ter uma atividade ótima de proteção contra radiação UV, os absorvedores devem estar dispersos no substrato. Solubilidade incompleta resulta em absorção mais baixa e pouca solubilidade resulta em exudação à superfície. Geralmente, a modificação de cromóforos com cadeias laterais adequadas

aumenta a solubilidade. Esse é o caso das 4-alcoxi-2-hidroxibenzofenonas, cujo grupo alquila na faixa de C₁₀ a C₁₆ promove compatibilidade ótima com polietileno de baixa densidade (PEBD). Compatibilidade similar com polímeros é observada para a série homóloga dos 2-(2'-hidroxifenilbenzotriazóis) (HELLER & BLATTMAN, 1976, citado por DEXTER, 1983).

Os absorvedores de radiação UV devem apresentar volatilidade muito baixa quando incorporados aos polímeros extrudados a alta temperatura. A temperatura de processamento de policarbonatos e polietilenotereftalato é de cerca de 300 °C. Quantidades consideráveis de aditivos são perdidas quando polímeros aquecidos são expostos ao ar, a menos que o aditivo tenha uma pressão de vapor muito baixa. Baixa volatilidade é também requerida para alguns tipos de aplicação em que os estabilizantes devem sofrer apenas uma perda mínima quando secados em forno ou expostos por longos períodos à radiações UV. A volatilidade dos absorvedores de radiação UV pode ser reduzida pela introdução de substituintes adequados, como no caso do 2-[2'-hidroxi-3',5'-di (α , α -dimetilbenzil)]fenilbenzotriazol (DEXTER & WINTER, 1981 citado por DEXTER, 1983).

É também importante que os absorvedores de radiação UV sejam quimicamente inertes a outros aditivos do substrato. As 2-hidroxibenzofenonas e 2-(2'-hidroxifenil)benzotriazóis podem formar complexos coloridos com íons metálicos como Co⁺², Zn⁺² e Cd⁺², entretanto, tais formações podem ser suprimidas em grande extensão por substituintes volumosos que impeçam estericamente o grupo fenólico (DEXTER, 1983). Assim o 2-(2'-hidroxi-3',5'-di-terc-amilfenil)benzotriazol é menos susceptível à descoloração na presença de íons metálicos do que o 2-(2'-hidroxi-5'-metilfenil)benzotriazol.

Geralmente, os absorvedores de radiação UV, as aminas estericamente impedidas e os fosfitos são usados na estabilização de polímeros em

concentrações menores do que 1%. Apenas em casos especiais, por exemplo em filmes transparentes requeridos para proteger substratos sensíveis à radiação, os absorvedores de radiação UV são empregados em concentrações maiores do que 3% (DEXTER, 1983).

Uma desvantagem dos absorvedores de radiação UV é que os mesmos necessitam de uma certa espessura de camada polimérica para serem completamente efetivos, conferindo, assim, uma proteção limitada à fibras e filmes (FERNANDES *et alii*, 1987).

Segundo DEXTER (1983), os absorvedores de radiação UV fornecem níveis de estabilidade maiores do que se pode prever apenas pela absorção da radiação, o que pode ser explicado por sua ação como supressor de cromóforos fotoexcitados ou por inibição do processo de formação de radicais livres.

O comportamento dos absorvedores de radiação UV com respeito à migração é determinado essencialmente por sua solubilidade e taxa de difusão. Estes aditivos são normalmente dissolvidos nas temperaturas usualmente empregadas no processamento, podendo também migrar para a superfície do material plástico durante a etapa de resfriamento. Estes processos são função da natureza do substrato e de sua morfologia (GUGUMUS, 1993). A difusão é primariamente uma consequência do movimento térmico das cadeias poliméricas acima da temperatura de transição vítrea (T_g), e da formação e desaparecimento de volumes livres. Se as cadeias são flexíveis e se movem facilmente, apenas pequena quantidade de energia é necessária para movimentar segmentos de polímeros. Com o aumento da orientação das cadeias poliméricas ou por ligações cruzadas e aumento da cristalinidade, a constante de difusão diminui, diminuindo a possibilidade de migração. Por esta razão, a difusão de aditivos é mais rápida em polietileno de baixa densidade (PEBD) do que em polietileno de alta densidade (PEAD). Assim, a difusão dos absorvedores de radiação UV está mais

relacionada à estrutura e morfologia do polímero ao qual será incorporado, do que à sua estrutura propriamente dita (GUGUMUS, 1993).

1.3- Estabilidade dos alimentos à luz

A proteção contra a luz não é apenas uma necessidade de certos tipos de polímeros, mas também de alguns alimentos. Os efeitos nocivos da luz nos alimentos são verificados pela oxidação de óleos e gorduras, pela formação de sabores e odores estranhos, pela degradação da tiamina e pela perda de vitaminas A e C em leite e derivados, além da perda de cor das mioglobinas em carnes e produtos cárneos (BEKBOLET, 1990).

A maioria dos alimentos industrializados dispostos em supermercados está exposta à algum tipo de luz, e portanto sujeita à fotoxidação. O grau de fotoxidação é influenciado pela emissão espectral do tipo de luz. A transmissão, absorção e reflexão são características das embalagens e dos alimentos.

Óleos vegetais e alimentos gordurosos sofrem oxidação acelerada quando expostos à luz do sol ou luz artificial. Essa oxidação é influenciada pelo efeito catalítico de impurezas presentes nos mesmos.

Na fotoxidação de lipídeos, a reação aparentemente não é autocatalítica. A quantidade de hidroperóxidos formada é proporcional à quantidade total de luz absorvida (LUNDBERG, 1962). Quando os hidroperóxidos são formados, eles sofrem oxidação adicional pela luz para formar radicais livres. Pigmentos como a clorofila podem agir como sensibilizadores da fotoxidação transferindo a energia absorvida da luz para o oxigênio molecular ou para um substrato (lipídeo), os quais se tornam intermediários reativos (FARIA, 1983; SOLER *et alii*, 1986).

A deterioração de óleos vegetais pela ação do oxigênio ativado pode ser minimizada pela remoção dos compostos fotossensíveis naturalmente presentes

durante a etapa de refino dos óleos, contudo nesse processo são eliminados juntamente os carotenóides, que agem como sequestradores de oxigênio ativado e têm efeito positivo na estabilidade do óleo. Além disso, a embalagem também pode agir como agente de proteção à fotoxidação. A energia luminosa absorvida pelo alimento é diretamente proporcional à capacidade de transmissão da embalagem. Nos alimentos sólidos a absorção da luz ocorre na superfície, havendo limitada difusão de radicais livres. Nos alimentos líquidos há uma maior penetração da luz e a fotoxidação é maior devido à movimentação interna, ocorrendo migração dos radicais livres produzidos pela luz na superfície. Assim, a embalagem para óleos deve apresentar alta barreira às radiações, o que pode ser alcançado pelo emprego de absorvedores de radiação UV, de pigmentação e de rótulos opacos. Uma boa barreira ao oxigênio ou uso de absorvedores de oxigênio também é condição adicional para a embalagem de óleos comestíveis (FARIA, 1991).

1.4- Embalagem de óleos vegetais

O mercado brasileiro de óleos vegetais tem apresentado forte expansão nos últimos 30 anos, tendo sido estimado em 1,9 milhões de litros, em 1995. O principal tipo de óleo é o de soja, o qual representa 95 % das vendas. O restante fica dividido entre óleo de milho (3,5 %) e outros (1,5 %), incluindo óleo de girassol, óleo de oliva e óleo de algodão. Vários tipos de material são empregados na embalagem de óleos, desde o vidro e folha metálica, até o plástico e o papel cartão laminado (embalagem tetra-brik) (DATAMARK, 1996).

A embalagem padrão para óleos é a lata cilíndrica de 900 ml, feita predominantemente de folha não revestida. A embalagem metálica apresenta boa estabilidade para o produto, uma vez que tem alta barreira à luz e ao oxigênio,

além de ser mecanicamente resistente, o que minimiza problemas relacionados ao manuseio, transporte e estocagem. Entretanto, esse tipo de embalagem tem um alto custo, além da apresentação visual sem grandes atrativos e da impossibilidade de avaliação visual do produto.

As embalagens de vidro, além de alto custo e peso elevado, apresentam baixa barreira à luz, o que pode ser minimizado pelo uso de pigmentação e de rótulos. Na Europa, é bastante comum o emprego de vidro na embalagem de óleos.

A embalagem tipo *tetra-brik* também apresenta alta barreira à luz, apresentando entretanto um alto custo e a impossibilidade do produto ser visualizado na hora da compra.

O plástico apresenta-se como boa alternativa para a embalagem de óleos. Além do baixo custo e peso, apresenta forte apelo mercadológico pela possibilidade de avaliação visual pelo consumidor, como também maior praticidade na sua utilização (ÓLEOS E GRÃOS, 1993). Materiais plásticos que apresentam resistência a óleos e gorduras, boa barreira a gases, transparência, brilho e proteção à luz têm sido introduzidos no mercado nacional de óleos vegetais. Os tipos de material empregados atualmente para embalagem plástica de óleos são o policloreto de vinila (PVC), o polipropileno (PP) e o polietileno tereftalato (PET).

As propriedades apresentadas pelo PVC dependem de sua formulação. Os vários aditivos incorporados à resina são capazes de conferir características desejáveis para o acondicionamento de óleos. A alta estabilidade à luz é conferida pelo emprego de absorvedores de radiação UV (GUGUMUS, 1993). Garrafas de PVC têm sido empregadas para acondicionar água mineral, vinagre e óleo vegetal. Entretanto, nos últimos anos tem-se observado mudanças no

mercado de embalagens plásticas para óleos vegetais relacionadas à substituição das embalagens de PVC pelas de PET.

O PP, muito utilizado como embalagem de água mineral, caracteriza-se pela boa resistência química, boa barreira à gordura e alta permeabilidade a gases. Sua alta susceptibilidade à luz requer o emprego de embalagens com grau de orientação, cristalinidade e espessura adequadas, aliado muitas vezes ao uso de pigmentação ou de estabilizantes contra radiação UV (Gugumus, 1993). A embalagem de PP utilizada no acondicionamento de óleos vegetais são as bombonas de 5,0 L, as quais representam atualmente 0,1% das embalagens plásticas nesse mercado, correspondendo a uma produção de 24,1 toneladas, em 1995 (DATAMARK, 1996).

O PET é um polímero de grande aplicação a nível mundial, sendo usado em larga escala na comercialização de bebidas carbonatadas, devido à sua boa barreira a gases. Além disso, esse polímero também apresenta características desejáveis tais como rigidez, resistência a óleos e gorduras, resistência química e ao impacto, transparência e brilho. Embora o PET, aparentemente, não necessite de estabilizantes contra radiação UV, devido à característica de sua estrutura polimérica de dissipar a energia absorvida, o emprego de absorvedores de radiação UV tem sido objeto de estudo, devido à finalidade de proteção adicional contra a radiação UV para a embalagem e também para o óleo (CIBA-GEIGY, 1993). O consumo mundial de PET foi estimado em 2,7 milhões de toneladas em 1996, sendo a produção nacional estimada em 245 mil toneladas no mesmo período (BNDS, 1996). No Brasil, a partir de 1989 foi iniciada a produção de garrafas de PET para o mercado de refrigerantes (DATAMARK, 1996). O consumo nacional de PET para uso como embalagem de óleos comestíveis movimentou, em 1995, 3.667,5 toneladas (DATAMARK, 1996). O PET apresenta hoje boa penetração no mercado nacional de óleos vegetais,

respondendo por 9,3 % desse mercado, com previsão estimada em 60 % para o ano 2000 (BNDS, 1996), dados que corroboram a tendência mundial de substituição das embalagens tradicionais pelas plásticas.

1.5- Métodos analíticos empregados na determinação de absorvedores de radiação UV em polímeros

Os métodos analíticos utilizados para a dosagem de absorvedores de radiação UV em polímeros geralmente empregam extração por solvente e técnicas cromatográficas para separação e identificação dos absorvedores de radiação UV. Dentre os vários procedimentos de extração descritos na literatura, quatro tipos podem ser considerados como os mais empregados: extração em Soxhlet (LICHTENTHALER & RANFELT, 1978; HANEY & DARK, 1980; PERLSTEIN, 1983; DILETTATO *et alii*, 1991), banho de ultrassom (NIELSON, 1991 e 1993), maceração (VARGO & OSLON, 1986; BUIARELLI *et alii*, 1993) e agitação com solvente por tempo determinado (PERLSTEIN, 1983; MATUSKA *et alii*, 1992). Como agentes extratores têm sido utilizados clorofórmio, diclorometano, éter dietílico e tetrahidrofurano, pelo fato dos absorvedores de radiação UV serem muito solúveis nesses solventes. As metodologias utilizadas na determinação de absorvedores de radiação UV estão apresentadas na **Tabela 2**.

A metodologia analítica empregando a cromatografia líquida por exclusão é considerada uma técnica de análise simples apresentando boa separação para a maioria dos absorvedores de radiação UV. Entretanto, na análise de misturas complexas a eficiência da separação é reduzida (SHEPHERD & GUILBERT, 1979). Nestes casos, o acoplamento de várias colunas tem sido utilizado visando

TABELA 2 - Métodos analíticos empregados na determinação de absorvedores de radiação UV.

MÉTODO	MATERIAL	PROCEDIMENTO	DETECTOR	REFERÊNCIA
CROMAT. POR EXCLUSÃO	PP	Extração em Soxhlet com benzeno (24 h), n-heptano (24 h) e acetona (8 h). Separação em colunas S-GEL-832 (9 colunas em série) usando THF como eluente; última coluna conectada a detector.	IR/UV	COUPEK <i>et alii</i> , 1972
	PE e PVC	Extração em Soxhlet com acetona (4 h); precipitação com MeOH. Separação em colunas ST-DVB n.º IX, usando THF como eluente; última coluna conectada a detector.	IR/UV	PROTIVOVÁ <i>et alii</i> , 1973
	PVC	2% PVC + aditivos aplicados em coluna Sephadex LH-60, usando THF como eluente. A fração colhida de aditivo é analisada no UV.	UV	SHEPHERD & GILBERT, 1979
CROMAT. POR EXCLUSÃO-CLAE	PS	Mistura de PS + aditivo injetada em coluna PL gel (100 Å e/ou 50 Å), usando THF como FM.	UV/IR	SHEPHERD & GILBERT, 1981
	PP	Extração por refluxo com tolueno (40 min)/precipitação com MeOH. Separação em colunas Lichrogel (PS4 e SP1) conectadas em série usando THF como FM.	UV	MATUSKA <i>et alii</i> , 1992
	PEBD e EVA	Extração com MeCl ₂ (maceração + ultrassom) por 7 h. Separação em coluna PL gel (50 Å), com eluição isocrática, usando 45% MeCl ₂ em hexano como FM.	UV	NERÍN <i>et alii</i> , 1996

PEAD - Polietileno de Alta Densidade
 PEBD - Polietileno de Baixa Densidade
 ST-DBV - estireno divinilbenzeno
 MSA - Mistura sintética de aditivos
 CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
 CFS - Cromatografia de Fluido Supercrítico
 DIC - Detector de Ionização de chama
 EM - Espectrometria de Massa
 CG - Cromatografia Gasosa

PE - Polietileno
 PP - Polipropileno
 PS - Poliestireno
 PVC - Policloreto de vinila
 CV - Cloreto de vinila
 AV - Acetato de Vinila
 PC - Policarbonato
 EVA - Etileno vinil acetato
 IQ - Ionização química

IE - Impacto eletrônico
 IR - índice de Refração
 UV - Ultra violeta
 FN - Fase Normal
 FR - Fase Reserva
 FM - Fase Móvel
 MeOH - metanol
 MeCN - acetonitrila
 HIBA - hidróxido de tetrabutil amônia

EtOH - etanol
 AI - álcool isopropílico
 HA - ácido acético
 IP - isopropanol
 CH₄ - metano
 THF - tetrahidrofurano
 BuCl₂ - Cloreto de n-butila
 CH₂Cl₂ - Clorofórmio
 MeCl₂ - diclorometano

TABELA 2 -Continuação.

MÉTODO	MATERIAL	PROCEDIMENTO	DETETOR	REFERÊNCIA
CROMAT. POR EXCLUSÃO-CLAE-FN	PS	Mistura de PS + aditivo injetada em coluna PL gel (50 Å), conectada a coluna FN (Nucleosil 100-7 OH), com eluição isocrática usando n-hexano: MeCl ₂ como FM. Uma válvula de descarga disposta entre as 2 colunas drenava o polímero enviando a fração de aditivos à coluna FN.	UV	NÉRIN <i>et alii</i> , 1995
CLAE-FN	PVC e copolímero PVC/CV/AV	Extração em Soxhlet com éter dietílico (16 h) extração com THF e precipitação com n-hexano. Separação em coluna FN (µ Porasil) com eluição isocrática usando n-hexano: CHCl ₃ (90:10), e com CHCl ₃ .	UV	PERLSTEIN, 1983
	PP	Extração com CHCl ₃ por agitação (2h). Separação em coluna FN (5µm Spherisorb) com eluição isocrática, usando 0,1 % IP em CHCl ₃ .	UV	HODGEMAN, 1981
	PEBD e PEAD	Extração por refluxo com tolueno/precipitação com HTBA. Separação em coluna Nucleosil-NH ₂ , com eluição isocrática e por gradiente, usando n-hexano: EtOH: tolueno (88:11:1) como FM.	UV	FREITAG <i>et alii</i> , 1988
	MSA	Separação em coluna FN (Nucleosil 50) com eluição isocrática e por gradiente usando n-hexano: MeCl ₂ como FM.	UV	ARPINO <i>et alii</i> , 1990

PEAD - Polietileno de Alta Densidade
 PEBD - Polietileno de Baixa Densidade
 ST-DBV - estireno divinilbenzeno
 MSA - Mistura sintética de aditivos
 CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
 CFS - Cromatografia de Fluido Supercrítico
 DIC - Detetor de Ionização de chama
 EM - Espectrometria de Massa
 CG - Cromatografia Gasosa

PE - Polietileno
 PP - Polipropileno
 PS - Poliestireno
 PVC - Policloreto de vinila
 CV - Cloreto de vinila
 AV - Acetato de Vinila
 PC - Policarbonato
 EVA - Etileno vinil acetato
 IQ - Ionização química

IE - Impacto eletrônico
 IR - índice de Refração
 UV - Ultra violeta
 FN - Fase Normal
 FR - Fase Reserva
 FM - Fase Móvel
 MeOH - metanol
 MeCN - acetonitrila
 HTBA - hidróxido de tetrabutil amônio

EtOH - etanol
 AI - álcool isopropílico
 HA - ácido acético
 IP - isopropanol
 CH₄ - metano
 THF - tetrahydrofurano
 BuCl₂ - Cloreto de n-butila
 CH₂Cl - Clorofórmio
 MeCl₂ - diclorometano

TABELA 2 -Continuação.

MÉTODO	MATERIAL	PROCEDIMENTO	DETETOR	REFERÊNCIA
CLAE-FN	PE	Extração em Soxhlet com CHCl ₃ (6 h). Separação em coluna FN (Partisil-Chrompax) com eluição isocrática usando n-hexano e por gradiente, usando n-hexano: MeCl ₂ como FM.	UV	LICHTENTHALER & RANFELT, 1978
	PP	Foram comparadas extrações em Soxhlet, ultrassom e microondas usando 4 sistemas de solvente (ciclohexano: AI, 90:10 e 50: 50; CH ₃ Cl: ciclohexano 75:25 e ; CH ₃ Cl : AI 98: 2). Separação em coluna FN (Waters Nova-Pak e Resolve) com eluição isocrática, usando BuCl ₂ : CH ₃ Cl (70: 30).	UV	NIELSON, 1991
CLAE -FR	PP	Extração em Soxhlet com MeCl ₂ (48 h). Separação em coluna FR (Bondapak C ₁₈) com eluição isocrática, usando MeCN: THF : HA (83 : 15 : 2) como FM.	IR/UV	HANEY & DARK, 1980
	PVC	Extração em Soxhlet com éter dietílico (16h)/extração com THF e precipitação com n-hexano. Separação em coluna FR (μ Bondapak-C18) com eluição isocrática e por gradiente usando THF: H ₂ O como FM.	UV	PERLSTEIN, 1983

PEAD - Polietileno de Alta Densidade
 PEHD - Polietileno de Baixa Densidade
 ST-DBV - estireno divinilbenzeno
 MSA - Mistura sintética de aditivos
 CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
 CFS - Cromatografia de Fluido Supercrítico
 DIC - Detector de Ionização de chama
 EM - Espectrometria de Massa
 CG - Cromatografia Gasosa

PE - Polietileno
 PP - Polipropileno
 PS - Poliestireno
 PVC - Policloreto de vinila
 CV - Cloreto de vinila
 AV - Acetato de Vinila
 PC - Policarbonato
 EVA - Etileno vinil acetato
 IQ - Ionização química

IE - Impacto eletrônico
 IR - índice de Refração
 UV - Ultra violeta
 FN - Fase Normal
 FR - Fase Reserva
 FM - Fase Móvel
 MeOH - metanol
 MeCN - acetonitrila
 HTBA - hidróxido de tetrabutil amônia

EtOH - etanol
 AI - álcool isopropílico
 HA - ácido acético
 IP - isopropanol
 CH₄ - metano
 THF - tetrahydrofurano
 BuCl₂ - Cloreto de n-butila
 CH₂Cl - Clorofórmio
 MeCl₂ - diclorometano

TABELA 2 -Continuação.

MÉTODO	MATERIAL	PROCEDIMENTO	DETETOR	REFERÊNCIA
CLAE - FR	MSA	Separação em coluna FR (Lichrosorb RP-18) com eluição isocrática usando 3 sistemas de solvente (MeCN 100%; MeCN : H ₂ O 90:100 e 80 :20) como FM.	UV/IR	MUNTEANU <i>et alii</i> , 1987
	MSA	Separação em coluna FR (C ₁₈ Spherisorb ODS ₂) usando MeCN como FM.	UV	YAGOUBI <i>et alii</i> , 1990
	MSA	Separação em coluna FR (Capcell Pak-C ₁₈) com eluição por gradiente usando MeOH : H ₂ O como FM.	UV	JINNO & YOKOYAMA, 1991
	PEAD, PEBD e PP	Extração em Soxhlet, por ultrassom e microondas foram comparadas em 4 sistemas de solvente (ciclo-hexano: AI 90:10 e 50:50; CH ₃ Cl:ciclohexano 75:25 e; CH ₃ Cl : AI 98: 2). Separação em coluna FR (Waters Nova-Pak C ₁₈) com eluição por gradiente, usando MeCN : H ₂ O como FM.	UV	NIELSON, 1991
CLAE/EM	PP	Extração com MeCN. Separação em coluna FR (ODS) com eluição por gradiente, usando MeCN : H ₂ O (75 : 25) / THF : MeCN (50 : 50) como FM.	UV/EM (IQ com CH ₄)	VARGO & OSDON, 1985

PEAD - Polietileno de Alta Densidade
PEBD - Polietileno de Baixa Densidade
ST-DBV - estireno divinilbenzeno
MSA - Mistura sintética de aditivos
CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
CFS - Cromatografia de Fluido Supercritico
DIC - Detector de Ionização de chama
EM - Espectrometria de Massa
CG - Cromatografia Gasosa

PE - Polietileno
PP - Polipropileno
PS - Poliestireno
PVC - Policloreto de vinila
CV - Cloreto de vinila
AV - Acetato de Vinila
PC - Policarbonato
EVA - Etileno vinil acetato
IQ - Ionização química

IE - Impacto eletrônico
IR - índice de Refração
UV - Ultra violeta
FN - Fase Normal
FR - Fase Reserva
FM - Fase Móvel
MeOH - metanol
MeCN - acetonitrila
HTBA - hidróxido de tetrabutil amonia

EtOH - etanol
AI - álcool isopropílico
HA - ácido acético
IP - isopropanol
CH₄ - metano
THF - tetrahydrofurano
BuCl₂ - Cloreto de n-butila
CH₂Cl - Clorofórmio
MeCl₂ - diclorometano

TABELA 2 -Continuação.

MÉTODO	MATERIAL	PROCEDIMENTO	DETETOR	REFERÊNCIA
CLAE/EM	MSA, PC e PP	Extração com MeCN. Separação em coluna FR (ODS) com eluição por gradiente, usando MeCN : H ₂ O (75 : 25) / THF : MeCN (50: 50) como FM.	UV/EM (IQ com CH ₄)	VARGO & OSLON, 1986
CG	MSA	Separação em coluna capilar PS-089 (95% metil, 5% fenil) com superfície modificada (condensação de OH-terminais e grupos silanóis) e imobilizada (condensação para promoção de ligações cruzadas adicionais dos OH-terminais). Programação de temperatura: 8° c/min até 160° C e 4° c/min até 420° C°. Gás de arraste H ₂ ; injeção "on column".	DIC	BLUM & DAMASCENO, 1987
	MSA	MSA em tolueno. Separação em coluna capilar PS-089 (Petrarch Systems). Programação de temperatura=90 a 150° C com 10° C/min e 150 a 380° C com 4° C/min. Gás de arraste He.	DIC	FREITAG, 1993
CFS	MSA	Separação em coluna capilar J & W (5% fenil-polimetilsiloxano). Temperatura da coluna=140° C e programação de pressão de 15 MPa a 35 MPa. Eluição com CO ₂ líquido.	DIC	ARPINO <i>et alii</i> , 1990

PEAD - Polietileno de Alta Densidade
PEBD - Polietileno de Baixa Densidade
ST-DBV - estireno divinilbenzeno
MSA - Mistura sintética de aditivos
CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
CFS - Cromatografia de Fluido Supercrítico
DIC - Detecção de Ionização de chama
EM - Espectrometria de Massa
CG - Cromatografia Gasosa

PE - Polietileno
PP - Polipropileno
PS - Poliestireno
PVC - Policloreto de vinila
CV - Cloreto de vinila
AV - Acetato de Vinila
PC - Policarbonato
EVA - Etileno vinil acetato
IQ - Ionização química

IE - Impacto eletrônico
IR - índice de Refração
UV - Ultra violeta
FN - Fase Normal
FR - Fase Reserva
FM - Fase Móvel
MeOH - metanol
MeCN - acetonitrila
HTBA - hidróxido de tetrabutil amônia

EtOH - etanol
AI - álcool isopropílico
HA - ácido acético
IP - isopropanol
CH₄ - metano
THF - tetrahydrofurano
BuCl₂ - Cloreto de n-butila
CH₂Cl - Clorofórmio
MeCl₂ - diclorometano

TABELA 2 -Continuação.

MÉTODO	MATERIAL	PROCEDIMENTO	DETETOR	REFERÊNCIA
CFS	PE	Extração com CO ₂ supercrítico a 2000psi/30 min a 50° C, temperatura de desorção = 50° C, separação em coluna capilar Deltabond 300 octil. Temperatura da coluna = 150° C e programação de pressão = 150 psi/ 15 min e 200 psi a 600 psi. Eluição com CO ₂ líquido.	DIC	RYAN <i>et alii</i> , 1990
CSF/EM	MSA	Separação em coluna capilar SGE com fase ligada de polimetilsiloxano. Temperatura da coluna=120° C. Eluição com CO ₂ líquido a 18 MPa.	EM (IE)	ARPINO <i>et alii</i> , 1990
	MSA	Separação em coluna capilar SB-Bifenil-30. Temperatura da coluna=120° C e programação de pressão=150 bar/5 min e 350 bar a 10 bar/min. Eluição com CO ₂ líquido.	EM (IE)	LEUKEN <i>et alii</i> , 1994

PEAD - Polietileno de Alta Densidade
 PEBD - Polietileno de Baixa Densidade
 ST-DBV - estireno divinilbenzeno
 MSA - Mistura sintética de aditivos
 CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência
 CFS - Cromatografia de Fluido Supercrítico
 DIC - Detetor de Ionização de chama
 EM - Espectrometria de Massa
 CG - Cromatografia Gasosa

PE - Polietileno
 PP - Polipropileno
 PS - Poliestireno
 PVC - Policloreto de vinila
 CV - Cloreto de vinila
 AV - Acetato de Vinila
 PC - Policarbonato
 EVA - Etileno vinil acetato
 IQ - Ionização química

IE - Impacto eletrônico
 IR - índice de Refração
 UV - Ultra violeta
 FN - Fase Normal
 FR - Fase Reserva
 FM - Fase Móvel
 MeOH - metanol
 MeCN - acetonitrila
 HIBA - hidróxido de tetrabutil amônia

EtOH - etanol
 AI - álcool isopropílico
 HA - ácido acético
 IP - isopropanol
 CH₄ - metano
 THF - tetrahidrofurano
 BuCl₂ - Cloreto de n-butila
 CH₂Cl - Clorofórmio
 MeCl₂ - diclorometano

aumentar a resolução (PROTIVOVÁ *et alii*, 1973; COUPEK *et alii*, 1972) o que, por outro lado, prolonga o tempo de análise.

A CLAE por exclusão é indicada para a separação de compostos de baixa massa molecular (aditivos de polímeros) daqueles de alta massa molecular (polímeros) tendo sido por isso utilizada como método de limpeza para extratos de matrizes complexas (MATUSKA *et alii*, 1992; SHEPHERD & GUILBERT, 1981). Destaca-se, ainda, a vantagem da análise direta de amostras complexas, uma vez que os interferentes (polímeros, oligômeros) são eluídos antes dos aditivos permitindo a separação e quantificação dos mesmos em apenas uma corrida cromatográfica (NERÍN *et alii*, 1996). A CLAE por exclusão, semelhantemente à cromatografia líquida, também apresenta limitação quanto à análise de misturas complexas, podendo ocorrer sobreposição de picos em função do tamanho da amostra. Baixos volumes de injeção ($\leq 20 \mu\text{L}$) e a escolha adequada da fase estacionária minimizam, entre outros fatores, a sobreposição de picos, permitindo boa separação da mistura de aditivos e polímero. Foi verificado que o acoplamento de coluna de fase normal à coluna de exclusão-CLAE, não foi capaz de melhorar a separação dos absorvedores de radiação UV (NERÍN *et alii*, 1995).

A CLAE, por fase normal e por fase reversa, tem sido a metodologia mais empregada para a determinação de absorvedores de radiação UV, permitindo a análise de aditivos polares e não-voláteis. O uso da fase normal em CLAE demonstrou que os tempos de retenção e o formato dos picos dependem do grau de ativação da sílica e da presença de modificadores polares na fase móvel (PERLSTEIN, 1983; HODGEMAN, 1981). A análise de hidroxibenzofenonas e hidroxifenilbenzotriazóis por CLAE em fase normal, com eluição isocrática, apesar da boa resolução, resultou em picos alargados e tempos de retenção elevados, embora tenha sido verificada uma melhora no formato dos picos e na

reprodutibilidade dos tempos de retenção com o aumento da proporção de solvente polar na fase móvel. Resultados semelhantes foram também obtidos após acetilação dos absorvedores de radiação UV (HODGEMAN, 1981; PERLSTEIN, 1983). A CLAE em fase normal tem sido indicada para a separação de misturas simples, contendo poucos aditivos (ARPINO *et alii*, 1990; NIELSON, 1991).

A fase normal em CLAE é recomendada quando ésteres de fosfito estão presentes na mistura de aditivos, uma vez que a separação por fase reversa, quando aquosa, pode resultar em hidrólise destes compostos (NIELSON, 1991). O emprego da fase reversa em CLAE, comparativamente à fase normal, apresenta tempos de retenção reprodutíveis e melhor resolução. Tem sido relatada a separação de misturas com grande número de compostos, sendo que a separação é mais seletiva do que por fase normal, embora os tempos de retenção sejam mais longos (NIELSON, 1991; PERLSTEIN, 1983; MUNTEANU *et alii*, 1987). O aquecimento da coluna (40-55°) proporciona, ainda, melhora do formato dos picos (JINNO, 1981; NIELSON, 1991).

A metodologia de análise empregando a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (CLAE/EM) tem sido pouco utilizada para a determinação de aditivos em polímeros. Sua vantagem é a identificação e/ou confirmação da identidade dos compostos podendo ser empregada na determinação de aditivos com ampla faixa de massa molecular. A limitação desta técnica está relacionada à interface entre o cromatógrafo líquido e o detector de espectrometria de massa, capaz de gerar alargamento de banda. (VARGO & OSLO, 1985 e 1986).

A cromatografia gasosa (CG), muito utilizada na determinação de compostos voláteis, é pouco empregada para determinar absorvedores de radiação UV, devido à baixa estabilidade térmica e volatilidade, e alta massa

molecular apresentada pela maioria destes compostos. Entretanto, o emprego da CG a alta temperatura mostrou-se eficiente na determinação de alguns antioxidantes e absorvedores de radiação UV, devido aos mesmos terem apresentado estabilidade térmica maior do que aquela previamente assumida (BLUM & DAMASCENO, 1987).

A cromatografia de fluido supercrítico (CFS), tem sido recentemente utilizada na determinação de aditivos de polímeros. Esta metodologia permite analisar compostos de polaridade intermediária, os quais são muito solúveis em fluidos supercríticos podendo ser extraídos muito mais rapidamente do que pelas técnicas de extração convencionais. A vantagem da CFS reside no fato de se poder extrair e separar, em apenas uma etapa, misturas complexas de aditivos, usando CO₂ como fase móvel. Sua limitação está relacionada ao uso do “restritor” (*restrictor*) de pressão, capaz de influenciar a sensibilidade e a performance do sistema de CFS. O inconveniente apresentado pelo “restritor” de pressão relaciona-se à possibilidade de flutuação nas taxas de fluxo e tempos de análise, assim como à possibilidade de fechamento do “restritor” quando amostras com moléculas de alta massa molecular (acima de 1200 daltons) são empregadas. Como não é possível obter ou fazer “restritores” de pressão com propriedades de fluxo reprodutíveis, os parâmetros de retenção podem sofrer variações da ordem de 20% (ARPINO *et alii*, 1990). ARPINO *et alii* (1990) verificaram que embora o tempo da corrida cromatográfica por CFS tenha sido maior do que por eluição por gradiente em CLAE, ao levar em conta o tempo de análise desde a etapa de extração, a CFS mostrou-se um método de análise mais rápido (ARPINO *et alii*, 1990).

A metodologia de análise empregando a Cromatografia de Fluido Supercrítico acoplada à Espectrometria de Massa (CFS/EM) também vem sendo recentemente introduzida para determinar aditivos em polímeros. Compara-

tivamente à CLAE/EM, a CFS/EM é considerada mais simples, além de produzir espectros de massa com menos interferentes de fundo em baixos valores de m/z . Contudo, a interface entre a CFS e a EM também é um fator limitante nesta técnica analítica (LEUKEN *et alii*, 1994).

1.6- Uso de simulantes de alimentos nos estudos de migração

O emprego de simulantes de alimentos na avaliação da migração de componentes de embalagens plásticas visa solucionar as dificuldades analíticas encontradas quando se trabalha com alimentos, devido à complexidade química dos mesmos (SHEPHERD, 1982). Simulantes de alimentos apresentam composição química simples com menos interferentes, permitindo um estudo mais rápido, além de minimizar o custo analítico (FREIRE & REYES, 1993). Entretanto, os simulantes devem apresentar comportamento semelhante ao do alimento que está substituindo (SHEPHERD, 1982). Segundo FIGGE (1980) e LEIMGRUBER (1993), o ideal é utilizar tempos e temperaturas equivalentes àqueles empregados no preparo de alimentos. Contudo, para longos períodos de estocagem de alimentos, são utilizadas condições aceleradas de tempo e temperatura (FREIRE, 1992). As recomendações adotadas no Brasil quanto ao tempo e à temperatura para o controle da migração de compostos de embalagens plásticas para alimentos gordurosos estão apresentadas na **Tabela 3**.

TABELA 3- Condições para os ensaios de migração de compostos de embalagens plásticas para alimentos gordurosos

Condições de Contato no Uso Real	Heptano ^a	Óleo de Oliva
Contato Prolongado (t > 24h)		
T < 5 °C	5 °C/30 min.	5 °C/10 dias
5 °C < T < 40 °C	20 °C/30 min.	40 °C/10 dias
Contato Momentâneo		
Contato momentâneo à temperatura ambiente (t < 2h)	20 °C/15 min.	40 °C/2 h
Contato momentâneo à temperatura ambiente (2h ≤ t ≤ 24h)	20°C/15 min.	40 °C/24 h
40 °C ≤ T ≤ 80 °C	40 °C/15 min.	80 °C/2 h
80 °C ≤ T ≤ 100 °C	50 °C/15 min.	100 °C/30 min.
T > 100 °C	60 °C/15 min.	120 °C/30 min.

(a) Os resultados com heptano devem ser divididos por 5.

t= tempo; min.= minutos; h=horas; T=temperatura

Fonte: BRASIL, 1996

MERCOSUL, 1995

A diferença de natureza química entre os alimentos torna seus comportamentos diferenciados em relação ao componente que migra do material plástico. FIGGE (1980) classifica os alimentos em aquosos não ácidos, aquosos ácidos, alcoólicos e gordurosos. Os simulantes recomendados segundo diversas legislações para os alimentos gordurosos estão apresentados na **Tabela 4**.

TABELA 4- Simulantes de alimentos gordurosos empregados nos estudos de migração

Simulante	País de utilização
Óleo de oliva Óleo de girassol	Bélgica
Óleo de oliva	Itália
Óleo de oliva Óleo de girassol Mistura sintética de triglicerídeos	Holanda
Óleo de oliva refinado Mistura sintética de triglicerídeos	União Européia
n-heptano ^(c) Mistura sintética de triglicerídeos ^(c)	Estados Unidos
Mistura sintética de triglicerídeos Gorduras naturais Óleos	Alemanha
n-heptano Óleo de oliva	Brasil

(c) Simulantes empregados para alimentos contendo mais que 5% de gordura

Fontes: LEIMGRUBER, 1993

KATAN, 1984

MERCOSUL, 1995

BRASIL, 1996

Existe uma grande polêmica em relação à escolha do simulante gorduroso. Segundo FIGGE (1980), em alimentos gordurosos a fase de gordura pode estar protegida por uma barreira de água ou de proteínas, deste modo não ocorrendo interação direta entre o alimento e o material de embalagem. Nestes casos, uma análise com simulantes aquosos pode fornecer resultados mais próximos dos reais.

A maioria dos monômeros e dos aditivos é lipofílica, assim como os materiais plásticos, e as situações mais críticas do ponto de vista analítico usualmente envolvem o contato com alimentos gordurosos. Os simulantes

gordurosos são aqueles em que a detecção da substância é mais difícil e em que os limites de detecção são mais altos (FEIGENBAUM *et alii*, 1994). Esta situação é devida à natureza dos simulantes, os quais são, de modo geral, misturas de triglicerídeos. Simulantes alternativos conhecidos como simulantes gordurosos de baixa massa molecular (LMWFFS-*Low Molecular Weight Fatty Food Simulants*), têm sido bastante empregados (FEIGENBAUM *et alii*, 1994). Estes simulantes podem ser classificados de acordo com o comportamento dos migrantes, os quais são também classificados segundo sua massa molecular (Tabela 5).

TABELA 5 - Comportamento dos migrantes de acordo com seu peso molecular

Faixa de massa molecular (M) dos migrantes	Tipo de Migrante	Característica da Migração
M < 250	Maioria dos monômeros, aditivos, produtos de degradação de aditivos e polímeros	Migração muito rápida para o simulante
250 < M < 1000	Alguns monômeros, a maioria dos aditivos, produtos de reação	Migração rápida para os simulantes LMWFFS
Alta massa molecular	Aditivos, oligômeros, produtos de condensação e aditivos poliméricos	Migração lenta para o alimento e simulante

Fonte: FEIGENBAUM *et alii*, 1994.

Ensaio de migração usando solventes orgânicos como simulantes gordurosos de baixa massa molecular são mais simples do que com triglicerídeos, sendo alcançados limites de detecção mais baixos (FEIGENBAUM *et alii*, 1994). A escolha de solventes orgânicos deve, entretanto, ser cuidadosa, pois solventes como o n-heptano e n-hexano não afetam todos os polímeros da mesma maneira,

podendo levar a resultados de migração errôneos (LEIMGRUBER, 1993). FIGGE (1980) considera que solventes orgânicos como n-heptano, éter dietílico, e outros possuem estrutura química diferente de óleos comestíveis, o que acarreta propriedades de interação distintas em relação aos materiais plásticos. O autor (FIGGE, 1980) considera ainda que estes compostos não são adequados como simulantes de alimentos gordurosos.

A utilização de óleos comestíveis como óleo de oliva, óleo de girassol, óleo de côco e outros leva a grandes dificuldades analíticas devido às impurezas naturalmente presentes. O emprego de triglicerídeos sintéticos puros apresenta, em alguns casos, alto poder extrativo. Assim, Figge desenvolveu uma mistura sintética de triglicerídeos de composição semelhante ao óleo de côco. Esta gordura, denominada HB307, possui várias vantagens em relação aos óleos comestíveis, tais como: composição química constante, ausência de impurezas interferentes, melhor transmissão óptica, além de poder ser estocada por longos períodos de tempo sem perda de qualidade (FREIRE, 1992).

Recentemente, foram iniciados estudos de migração com o solvente orgânico isooctano. Pouca informação existe sobre sua utilização como simulante gorduroso para estudos de migração específica de aditivos de materiais de embalagem (DE KRUIJF & RIJK, 1988; FREIRE & REYES, 1993).

Apesar das restrições existentes, o uso de solventes orgânicos como o n-heptano é aceito nos Estados Unidos (*Food and Drug Administration-FDA*) e no Brasil (LEIMGRUBER, 1993; MERCOSUL, 1995; BRASIL, 1996).

1.7- Aspectos toxicológicos dos absorvedores de radiação UV

Existe atualmente uma crescente preocupação com possíveis danos à saúde associados à utilização de substâncias químicas. Isto se aplica a qualquer

tipo de substância quimicamente ativa e, conseqüentemente, a aditivos de plásticos. Muitas substâncias de diferentes classes químicas e com estrutura bastante variada são usadas como aditivos de plásticos, e apresentam propriedades biológicas diferentes, as quais lhe conferem diferentes graus de toxicidade.

O risco à saúde associado ao uso de substâncias químicas depende, entre outros fatores, da dose de exposição e de como as mesmas são metabolizadas pelo organismo humano. Para se avaliar a extensão deste risco é necessário conhecer as propriedades físico-químicas da substância e seus efeitos tóxicos a curto, médio e longo prazo, para o qual têm sido realizados estudos com animais. A partir desses dados é possível caracterizar os efeitos adversos potenciais da exposição humana a estas substâncias.

A exposição humana a compostos tóxicos presentes no ambiente ocorre por ingestão, inalação ou absorção pela pele. No caso de aditivos de plásticos, a exposição está relacionada com a ingestão desses aditivos que migram das embalagens para os alimentos.

1.7.1- Toxicidade aguda

Os ensaios de toxicidade aguda têm por objetivo obter dados sobre os efeitos produzidos no animal após uma única exposição à substância em estudo, ou após exposição a várias doses em um período de tempo, geralmente de 24 h. Os resultados do ensaio permitem estabelecer uma relação entre dose e mortalidade, a partir da qual se pode calcular estatisticamente o valor da dose letal 50 (DL₅₀). A DL₅₀ representa a dose da substância em estudo capaz de matar 50 % da população teste sob condições específicas de experimentação, e é expressa em mg da substância por kg de peso corpóreo do animal teste (mg/kg).

Os valores obtidos, inerentes a cada substância, são usados para comparar a toxicidade aguda de diferentes substâncias. Na **Tabela 6** estão apresentados os valores de DL₅₀ para aditivos de plásticos, de acordo com LEIMGRUBER (1993) e UHDE *et alii* (1969).

TABELA 6 - Toxicidade aguda (DL₅₀) em ratos de diferentes aditivos de plásticos

ESTRUTURA QUÍMICA	USO	DL ₅₀ em ratos
Dimetoxietilftalato	plastificante	2750 mg/kg
2,6-Di-terc-butil-4-metilfenol	antioxidante	1700 mg/kg
2-(2'-Hidroxi-5'-metilfenil)benzotriazol	absorvedor de radiação UV	2500 mg/kg
2-(2'-Hidroxi-3',5'-di-terc-butilfenil)benzotriazol	absorvedor de radiação UV	>5000 mg/kg
2-(2'-Hidroxi-3'-terc-butil-5-metilfenil)-5-clorobenzotriazol	absorvedor de radiação UV	>5000 mg/kg
Complexo de níquel de 3,5-di-terc-butil-4-hidroxi-benzilmonoetil fosfonato	estabilizante de radiação UV	2000 mg/kg
n-Octadecil-β-(4'-hidroxi-3'-5'-di-terc-butilfenil)propionato	antioxidante	>10000 mg/kg

Fonte: LEIMGRUBER, 1993
UHDE *et alii*, 1969

Para estimar o grau de toxicidade de uma substância baseado em seu valor de DL₅₀, várias classificações foram propostas, as quais são baseadas em diversos parâmetros como origem da substância, composição química, uso tecnológico, órgão afetado, efeito tóxico, mecanismo de ação, etc (REYES & TOLEDO, 1988). Um dos sistemas de classificação bastante empregados leva em

consideração as propriedades químicas e biológicas das substâncias. A **Tabela 7** apresenta a classificação dos valores de DL_{50} para seres humanos proposta por DORELL *et alii* (1980) e, a proposta de GERARDE (1960) para ratos.

TABELA 7 - Classificação da DL_{50} em humanos e em ratos

DL_{50} provável para seres humanos (mg/kg peso corpóreo)	DL_{50} para ratos (mg/kg peso corpóreo)	Grau de Toxicidade
	>15000	relativamente inofensivo
15000	5000-15000	praticamente não tóxico
5000-15000	500-5000	ligeiramente tóxico
500-5000	50-500	moderadamente tóxico
50-500	1-50	muito tóxico
5-50	1 ou menos	extremamente tóxico
5		supertóxico

Fonte: DORELL *et alii*, 1980
 GERARD, 1960
 LEIMGRUBER, 1993

Embora os aditivos de plástico apresentados na **Tabela 6** possam ser classificados entre ligeiramente tóxicos e praticamente não tóxicos (**Tabela 7**), segundo REYES & TOLEDO (1988), as classificações de toxicidade baseadas em valores de DL_{50} são apenas guias grosseiros de toxicidade relativa que aportam pouca ou nenhuma informação quanto aos aspectos de toxicidade crônica associados à ingestão de pequenas doses durante longo período de tempo.

Os ensaios de toxicidade aguda podem, entretanto, proporcionar informações adicionais sobre os efeitos com respeito à sintomatologia tóxica associada à mortalidade, e sobre os tecidos dos animais mortos e/ou sobreviventes, além de diferenças entre espécie e sexo em relação à substância

em estudo, as quais poderão ajudar no planejamento de estudos toxicológicos de longa duração.

1.7.2- Toxicidade subcrônica

Quando materiais plásticos são usados como embalagem de alimentos, existe a possibilidade de que os aditivos incorporados possam migrar em pequenas quantidades à superfície do plástico e desta para o alimento que será ingerido. Isto poderá resultar numa exposição subcrônica ou crônica do homem a pequenas doses dessas substâncias.

Os estudos de toxicidade subcrônica são realizados pela exposição do animal à substância em estudo, em geral durante 10% de sua vida média. Os animais mais usados neste tipo de estudo são ratos e, ocasionalmente, camundongos, por um período tipicamente de 90 dias. Estes estudos visam identificar e caracterizar efeitos que possam surgir de uma exposição repetida à substância em estudo, incluindo a possibilidade de efeitos acumulativos, de forma a determinar os níveis aproximados das doses associadas aos efeitos, para serem usadas no planejamento de estudos de longa duração. Durante os ensaios de curta duração as substâncias são ministradas em 3 a 4 níveis de dose, desde aquelas que não produzem efeito observável até aquelas que produzem algum efeito.

Não foi possível encontrar na literatura dados disponíveis de estudos de toxicidade subcrônica que tenham sido realizados para avaliar o uso seguro de absorvedores de radiação UV.

1.7.3- Toxicidade crônica

Nos estudos de toxicidade crônica, a substância em estudo é ministrada aos animais durante toda a vida média da espécie utilizada, com o objetivo de

detectar efeitos tóxicos produzidos por exposições prolongadas. Estes estudos incluem também os efeitos carcinogênicos. Os ensaios de toxicidade crônica são realizados geralmente em duas espécies de roedores e têm duração mínima de 2 anos.

Não foi possível encontrar na literatura dados disponíveis de estudos de toxicidade subcrônica que tenham sido realizados para avaliar o uso seguro de absorvedores de radiação UV.

1.7.4- Situação atual e tendências da avaliação do uso seguro de aditivos para material de embalagem

Por diversas razões, que incluem desde a diversidade das substâncias usadas como aditivos de plásticos, a falta de capacidade dos laboratórios à nível mundial em atender à demanda dos produtores desses aditivos, e o alto custo dos testes toxicológicos, principalmente os de longa duração, é, na prática, impossível realizar testes de toxicidade adequados com todos os aditivos para embalagem de alimentos. Assim, instituições da área de saúde como o *Food and Drug Administration* (FDA) nos Estados Unidos e o *Department of Health and Social Security* (DHSS) na Inglaterra, o *FAO/WHO/Joint Expert Committee on Food Additives and Contaminants* (JECFA) e o *Scientific Committee for Food* (SCF) da União Européia (UE), estão encarregadas de estabelecer critérios para avaliação toxicológica de aditivos de plásticos em contato com alimentos. A duração e abrangência dos estudos toxicológicos dependem principalmente da quantidade do aditivo que migra para o alimento. De uma maneira geral, os testes requeridos são bastante similares na maioria dos países (LEIMGRUBER, 1993). Segundo LEIMGRUBER (1993), FEIGENBAUM *et alii* (1994) e ROSSI (1994), quando a quantidade de aditivo migrada para o alimento está na faixa de

concentração de até 50 µg/kg, o teste requerido é o de toxicidade aguda. Na Europa é exigido adicionalmente, o teste de mutagenicidade. Para concentrações na faixa de 50 µg/kg a 1 mg/kg, nos Estados Unidos, e de 50 µg/kg a 5 mg/kg, na Europa, são exigidos ensaios de toxicidade subcrônica em uma espécie (geralmente ratos), sendo que nos Estados Unidos o uso de uma segunda espécie é obrigatória e, na Europa, são requeridos estudos adicionais de mutagenicidade e de bioacumulação. Na faixa de concentração acima de 1 mg/kg, nos Estados Unidos, os aditivos de plásticos são tratados da mesma maneira que os aditivos intencionais (aditivos alimentares) e assim, além do ensaio de toxicidade a curto prazo (90 dias) também são exigidos um ou dois testes de toxicidade crônica. Na Europa, para a faixa de 5 a 60 mg/kg são exigidos além dos testes de multigerações, testes de bioacumulação, absorção, excreção e metabolismo. Além disso, um estudo adequado da estrutura química de uma nova substância pode revelar características comuns a outras substâncias, cujas atividades biológicas já sejam conhecidas.

Deve-se ressaltar, entretanto, que mais de 90% dos aditivos aprovados para uso em plásticos em contato com alimentos pertencem às duas primeiras categorias (LEIMGRUBER, 1993), isto é, migram para o alimento em quantidades baixas (50 µg/kg - 5 mg/kg).

As recomendações do JECFA estão vinculadas à definição da ingestão diária aceitável (IDA). A IDA é definida por este Comitê como a quantidade de aditivo, expressa com base no peso corpóreo, que pode ser ingerida diariamente durante toda a vida sem oferecer risco apreciável à saúde (WHO, 1987). Esta IDA é atribuída somente àquelas substâncias para as quais os dados toxicológicos disponíveis incluem os resultados de estudo de toxicidade a curto e longo prazo e/ou informações bioquímicas satisfatórias e metabolismo do composto. A IDA é calculada com base na dose sem efeito observado (NOEL) obtida em estudos de

toxicidade crônica e subcrônica. O valor do NOEL é a dose máxima da substância que, ministrada aos animais, não produz qualquer efeito tóxico, e é expresso em mg/kg de peso corpóreo por dia. A IDA é obtida dividindo-se o valor do NOEL por um fator de segurança, geralmente de valor 100, o qual considera a extrapolação de dados dos animais de experimentação para o homem (x 10), assim como a variabilidade individual na espécie humana (x 10).

O JECFA recomenda que a exposição humana aos aditivos seja restrita ao mais baixo nível tecnológico possível e que sejam implementados programas de monitoramento da presença de migrantes da embalagem, visando complementar os dados existentes, assim como demonstrar se está ocorrendo redução da exposição com a introdução de novas técnicas de processamento. Nestes programas de monitoramento, o JECFA também recomenda que sejam priorizadas as substâncias que apresentem maior potencial para afetar adversamente a saúde humana (REYES, 1995).

Os valores de IDA são atribuídos a aditivos alimentares. A expressão PADI¹ (*Packaging Acceptable Daily Intake*), segundo LEIMGRUBER (1993), foi criada especialmente para aditivos que migram das embalagens para os alimentos. Este valor é obtido a partir de ensaios de toxicidade subcrônica e o fator de segurança aplicado é da ordem de 100 a 200. Quando o valor calculado de PADI é maior do que a quantidade de substância migrada, considera-se que o aditivo do plástico é adequado para uso em embalagem de alimentos, e a substância é aprovada para uso. Este valor pressupõe uma quantidade de alimento consumida pelo homem de, no máximo, 1 kg por dia.

¹ Ingestão diária aceitável para o homem, de uma substância que migra da embalagem para o alimento, sendo estabelecida em estudo de 90 dias com animais de laboratório, e expressa em mg/pessoa/dia.

Deve-se ainda considerar que, embora o uso de aditivos em plásticos seja um processo antigo, o rápido desenvolvimento da área de polímeros após os anos 50 trouxe consigo o aumento do emprego deste tipo de embalagem no acondicionamento de alimentos, juntamente com o surgimento de uma grande quantidade de novas substâncias (aditivos de plásticos) acarretando uma lacuna entre as recomendações dos Comitês e a realidade existente. Assim, estes indicadores toxicológicos (NOEL, IDA, PADI) ainda não foram estimados para a maioria dos aditivos em uso, e as legislações em vigor utilizam como parâmetro de controle as chamadas listas positivas ou as restrições vinculadas às suas leis.

Entretanto, segundo LEIMGRUBER (1993), existe uma tendência de que os aditivos passem a ser registrados de acordo com seus valores de PADI, os quais estarão relacionados à quantidade máxima migrada para 1 kg de alimento consumido por dia.

1.8- Aspectos da legislação dos estabilizantes contra radiação UV

O controle e regulamentação dos aditivos usados em embalagens de alimentos é realizado pela legislação vigente em cada país. Devido aos diferentes sistemas de regulamentação adotados entre os diferentes países, assim como aos diferentes hábitos de consumo de alimentos, dentre outros fatores, as legislações apresentam grandes variações. Neste sentido, as autoridades da área de saúde reunidas em organizações nacionais como o *Food and Drug Administration* (FDA) nos Estados Unidos, regionais como o MERCOSUL e o *Scientific Committee for Food* (SCF) da União Européia e internacionais como a *World Health Organization* (WHO), a *Food Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) e o Codex Alimentarius, vêm empreendendo esforços no sentido

de harmonizar as legislações existentes visando facilitar o intercâmbio comercial entre os países.

Nos Estados Unidos os estabilizantes contra radiação UV para uso em polímeros em contato com alimentos são regulamentados pelo FDA. As restrições do FDA estão baseadas nos limites máximos de aditivos para uso na formulação de determinado material polimérico. A permissão para o emprego destes aditivos é determinada através de testes toxicológicos e pela exposição esperada através da ingestão diária baseada em estudos de migração. Com base nesses testes, apenas os materiais que apresentam risco aceitável ao consumidor são permitidos pelo FDA. A **Tabela 8** apresenta os estabilizante contra radiação UV permitidos pelo FDA para uso em material plástico em contato com alimentos, de acordo com o Código de Regulamentação Federal dos Estados Unidos (CRF 21 parte 178) (DEXTER, 1983; IFT, 1988). Recentemente, o FDA propôs estabelecer a concentração máxima permitida de 0,5 µg de aditivo/kg de alimento (CRF 21, parágrafo 179.39 (a) (2) (i)), como o limiar (*threshold*) de regulamentação, para substâncias usadas em embalagens em contato com alimentos (RULIS, 1992).

A legislação da União Européia para embalagens em contato com alimentos se baseia em listas positivas estabelecidas pelas Diretrizes da União Européia (**Tabela 9**). O controle e regulamentação das substâncias se dá em três níveis de restrições: tipo de substância, quantidade máxima que pode estar presente nos polímeros e quantidade máxima que pode estar presente nos alimentos. A Diretriz 90/128/CEE, chamada Diretriz dos Plásticos, estabelece o conceito de migração global e fixa os monômeros e substâncias de partida que podem ser usados na fabricação de plásticos em contato com alimentos. A migração global leva em conta todas as substâncias, conhecidas ou não, que migram das embalagens para os alimentos, para as quais dados qualitativos e

TABELA 8- Estabilizantes de radiação UV listados pelo FDA.

COMPOSTOS	NOME COMERCIAL	EMPRESA PRODUTORA	POLÍMEROS
2 HIDROXIBENZOFENONAS			
2,4-Dihidroxi-benzofenona	Syntase 100 Uvinil 400	Neville-Synthèse Organics, Inc. BASF Wyandotte Corp.	AC, CE, EP, PES, SC, ST
2-Hidroxi-4-metoxibenzofenona	Cyasorb UV9 Syntase 62 UV Absorber 325 Acetorb A Uvinul M-40	American Cyanamid Co. Neville-Synthèse Organics, Inc. Mobay Chemical Corp. Aceto Chemical Co., Inc. BASF Wyandotte Corp.	AC, CE, PES, PU, PVC, SC, ST
2-Hidroxi-4-n-octiloxibenzofenona ^d	Carstab 700 Carstab 705 Cyasorb UV531 Mark 1413 Syntase 800,805 UV Check AM300 Uvinul 408	Carstab Corp. Carstab Corp. American Cyanamid Co. Argus Chemical Corp. Neville-Synthèse Organics, Inc. Ferro Corp., Chemical Div. BASF Wyandotte Corp.	AC, CE, PES, PO, PU, PVC, SC, ST
2-Hidroxi-4-isoctiloxibenzofenona ^d	Carstab 701,702	Carstab Corp.	CE, PES, PO, PVC, SC, ST
2-Didroxi-4-dodeciloxibenzofenona	Eastmen Inhibitor DOBP UV Check AM320 Syntase 1200	Eastman Chemical Products, Inc. Ferro Corp., Chemical Div. Neville-Synthèse Organics, Inc.	CE, PES, PO, PVC, SC, ST
2,2'-Dihidroxi-4-metoxibenzofenona	Cyasorb UV24	American Cyanamid Co.	AC, CE, PU, PVC, SC, ST
2,2',4,4'-Tetrahidroxibenzofenona	Uvinul D50	BASF Wyandotte Corp.	PES, PU, SC
2,2-Dihidroxi-4,4'-dimetoxibenzofenona	Uvinul D49	BASF Wyandotte Corp.	AC, CE, EP, PU, PVC, SC

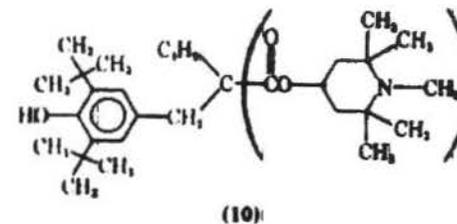
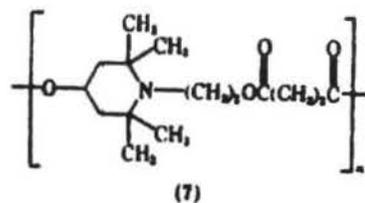
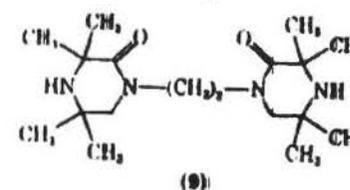
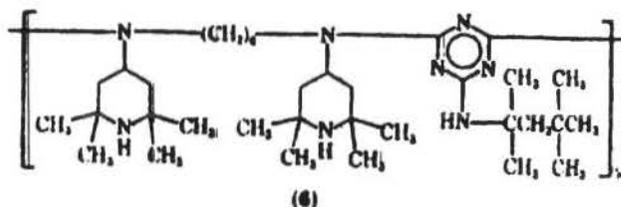
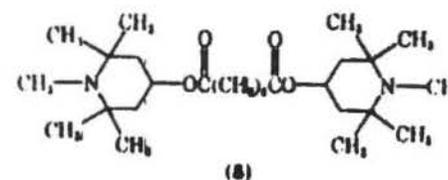
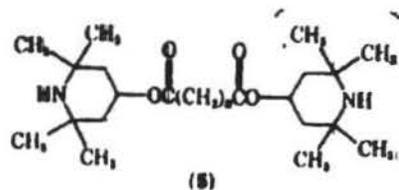
TABELA 8- Continuação.

COMPOSTOS	NOME COMERCIAL	EMPRESA PRODUTORA	POLÍMEROS
2-Hidroxi-4-metoxi-5-sulfobenzofenona	Cyasorb UV284 Uvinul MS-40	American Cyanamid Co. BASF Wyandotte Corp.	SC
2,2'-Dihidroxi-4,4'-dimetoxi-5-sulfobenzofenona de sodio	Uvinul DS-49	BASF Wyandotte Corp.	SC
Polímero do 2-hidroxi-4-(acriloxietoxi)-benzofenona	Cyasorb UV2126	American Cyanamid Co.	SC
2-(2'-HIDROXIFENIL) BENZOTRIAZÓIS			
2-(2'-Hidroxi-5-metilfenil) benzotriazol ^b	Tinuvin P	Ciba-Geigy Corp.	AC, EP, PES, PVC, ST
2-(2'-Hidroxi-5'-t-octilfenil) benzotriazol ^b	Cyasorb UV5411	American Cyanamid Co.	AC, PES, PVC, SC, ST
2-[2'-Hidroxi-3,5'-(di-t-butil) fenil] benzotriazol ^b	Tinuvin 320	Ciba-Geigy Corp.	AC, CE, PES, PU, PVC, SC, ST
2-[2'-Hidroxi-3,5'-(di-t-amil) fenil] benzotriazol	Tinuvin 328	Ciba-Geigy Corp.	AC, EP, PES, PO, PU, PVC, SC, ST
2-[2'-hidroxi-3,5'-di-(α,α -dimetilbenzil)fenil] benzotriazol	Tinuvin 900	Ciba-Geigy Corp.	SC
2-(3'-t-Butil-2'-hidroxi-5'-metilfenil)-5-clorobenzotriazol ^b	Tinuvin 326	Ciba-Geigy Corp.	PES, PO, PVC, SC
2-(2'-Hidroxi-3,5'-di-t-butil) 5-clorobenzotriazol	Tinuvin 327	Ciba-Geigy Corp.	PES, PO, SC
2-CIANO-3,3-DIFENILACRILATOS			
Etil-2-ciano-3,3-difenilacrilato	Uvinul N-35	BASF Wyandotte Corp.	AC, CE, EP, PU, PVC, SC
2-Etilhexil-2 ciano-3,3-difenilacrilato	Uvinul N-539	BASF Wyandotte Corp.	AC, CE, EP, PES, PVC, SC
OXALANILÍDEOS			
2-Etil-2'-etoxioxalanilídeo	Sanduvor VSU	Sandoz Color and Chemicals	AC, CE, PES, PU, PVC, SC, ST
2-Etil-2'-etoxi-5'-t-butiloxalanilídeo	Sanduvor EPU	Sandoz Color and Chemicals	PO, PU, SC

TABELA 8-Continuação.

COMPOSTOS	NOME COMERCIAL	EMPRESA PRODUTORA	POLÍMEROS
ÉSTERES ARÍLICOS			
Salicilato de fenila	Salol	Dow Chemical Co.	CE, PES, PO, PVC, SC
Salicilato de p (t-butil) fenila	Anti UVK	Aceto Chemical Co.	CE, PES, PO, ST
Monobenzoato de resorcinol	Eastman RMB	Eastman Chemical Products	CE, PVC, ST
3,5-DI-T-BUTIL-4-HIDROXIBENZOATOS			
2,4-di-t-Dutilfenil-3,5-di-t-butil-4-hidroxibenzoato	UV Check AM340	Ferro Corp. Chemical Div.	PO
n-Hexadecil-3,5-di-t-butil-4-hidroxibenzoato	Cyasorb UV2908	American Cyanamid Co.	PES, PO, ST
QUELATOS DE NÍQUEL			
2,2'-Tiobis (4-t-octilfenolato)-n-butilaminaníquel	Cyasorb UV1084	American Cianamid Co.	PO
Bis[O-etil(3,5-di-t-butil-4-hidroxibenzil)]fosfonato de níquel	Irgastab 2002	Ciba-Geigy Corp.	PO
Dibutilditiocarbamato de níquel	Rylex NBC Vanox NBC	E.I. du Pont de Nemours & Co., Inc. R.T. Vanderbilt Co.	PO
AMINAS ESTERICAMENTE IMPEDIDAS			
Estrutura 5	Tinuvin 770	Ciba-Geigy Corp.	PO, PU, SP
Estrutura 6	Chimassorb 944	Ciba-Geigy Corp.	PO
Estrutura 7	Tinuvin 622 ^b	Ciba-Geigy Corp.	PO
Estrutura 8	Tinuvin 292	Ciba-Geigy Corp.	SC
Estrutura 9	Good-rite UV3032	BFGoodrich	PO
Estrutura 10	Tinuvin 144	Ciba-Geigy Corp.	PO, PU, SC, ST

TABELA 8- Continuação.



50

^a AC = polímeros acrílicos; CE = polímeros celulósicos; EP = polímeros epoxi; PES = poliéster; PO = poliolefinas;

PU = poluretano; PVC = policloreto de vinila; SC = recobridor de superfície; ST = estirênicos

^b Aprovados pelo FDA como aditivo alimentar em abril de 1981. O título 21 do Código Federal de Regulamentos dá detalhes.

Fonte: DEXTER, 1983.

TABELA 9- Diretrizes da União Européia para embalagens em contato com alimentos:

DIRETRIZ	REFERENTE
78/142/CEE	materiais e artigos que contenham cloreto de vinila
80/590/CEE	símbolo que deve acompanhar embalagens em contato com alimentos
80/766/CEE	determinação de cloreto de vinila em materiais e artigos de PVC
81/432/CEE	determinação de cloreto de vinila em alimentos
82/711/CEE	regras básicas para testes de migração em simulantes (simulantes e condições de ensaio: tempo e temperatura)
83/229/CEE	materiais de celulose regenerada em contato com alimentos; definições e restrições (somente sólidos e semi-sólidos)
84/500/CEE	objetos de cerâmica em contato com alimentos; determinação da migração de chumbo e cádmio (método e normas)
85/572/CEE	lista de simulantes para prova de migração
86/363/CEE	conteúdos máximos de resíduos de praguicidas em alimentos de origem animal
89/109/CEE	materiais e artigos em contato com alimentos; modificação da Diretriz 76/893/CEE
89/397/CEE	controle de produtos alimentícios
90/128/CEE	limites e teste de migração; lista positiva de monômeros e substâncias de partida; retifica L349/26; amplia 89/109/CEE
90/128/CEE	limites e testes de migração; lista positiva de monômeros e substâncias de partida; retifica L75/90; amplia 89/109/CEE
92/39/CEE	modificação Diretriz 90/128/CEE
92/C263/01/CEE	embalagens: definições, reciclagem, requisitos para chumbo, cádmio, mercúrio e cromo (VI); revogação da Diretriz 85/339/CEE
92/8/CEE	modificação da Diretriz 82/711/CEE
93/9/CEE	modificação da Diretriz 90/128/CEE
95/3/CEE	modificação da Diretriz 90/128/CEE

Fonte: NERÍN, 1995

quantitativos com respeito à suas propriedades toxicológicas não estão disponíveis. O limite de migração global adotado pela União Européia é de 60 mg/kg de alimento ou simulante, ou 10 mg/dm² de área de contato. As listas positivas contém dois anexos: o anexo A, constituído pelos compostos autorizados para a produção de plásticos em contato com alimentos e os limites de migração específica, segundo o tipo de substância (alguns monômeros têm também restrições quanto à quantidade máxima permitida no produto final) e o anexo B, contendo substâncias que estão autorizadas em alguns países membros e que poderão ser eliminadas no futuro. A União Européia tem como objetivo incluir todas as substâncias no anexo A, requerendo para tanto que a indústria de plásticos forneça dados a respeito de sua migração específica, da quantidade de monômero residual, testes de hidrólise e testes de toxicidade. Os critérios de inclusão e exclusão nas listas positivas de monômeros e aditivos da União Européia seguem categorias provisórias listadas pelo SCF (PASCUET, 1996).

LISTA 0- Alimentos

LISTA 1- Aditivos alimentares com IDA conhecida

LISTA 2- Aditivos com ingestão diária tolerável (TDI) estabelecida pelo SCF

LISTA 3- Aditivos sem IDA e sem TDI, mas com uso aceitável

LISTA 4- Aditivos sem IDA e sem TDI, mas sem migração detectável

LISTA 5- Substâncias que não devem ser usadas

LISTA 6- Substâncias suspeitas de toxicidade devido à sua estrutura

LISTA 7- Substâncias que necessitam de dados adicionais para o estabelecimento de uma TDI

LISTA 8- Substâncias sem dados significativos disponíveis

LISTA 9- Substâncias sem especificação ou descrição adequadas.

Contudo, as listas de 0 a 9 possuem aproximadamente 1900 substâncias, sendo que apenas 600 estão incluídas entre as listas 0 e 4. Além disso, vários tipos de substâncias ainda não foram incorporadas nas Diretrizes da União

Européia como corantes, auxiliares de polimerização e muitos aditivos. Nesse sentido, cabe destacar que, a maioria dos compostos usados como absorvedores de radiação UV não foi até o momento listada pela União Européia.

No Brasil, o uso de materiais plásticos na elaboração de embalagens destinadas ao contato com alimentos foi recentemente regulamentado, a partir da criação do MERCOSUL. As resoluções do MERCOSUL estabeleceram a lista positiva dos polímeros e resinas para embalagens e equipamentos em contato com alimentos (GMC/Res 87/93), nas quais o PET é permitido para uso. Foi também estabelecida a lista positiva de aditivos para materiais plásticos (GMC/Res 56/92 e 95/94) que dispõe sobre as restrições de uso, especificações e limites de composição e migração das substâncias descritas (MERCOSUL, 1995). As resoluções do MERCOSUL foram implementadas no país através da Portaria nº 26 da Secretaria de Vigilância Sanitária (BRASIL, 1996). Esta Portaria apresenta o regulamento técnico sobre as disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos, no qual estão incluídos os anexos correspondentes às resoluções do MERCOSUL (**Tabela 10**).

Na **Tabela 11** estão apresentados os absorvedores de radiação UV da classe dos hidroxifenilbenzotriazóis e hidroxibenzofenonas e suas restrições de uso, aprovados para embalagens destinadas ao contato com alimentos, de acordo com a Portaria nº 26 da Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde (BRASIL 1996).

TABELA 10 - Legislação brasileira para embalagens plásticas em contato com alimentos

MERCOSUL GMC/Res. Nº	SVS/MS (Portaria Nº 26)	REFERENTE
56/92	Regulamento Técnico	Disposições gerais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos
87/93	Anexo I	Lista positiva de polímeros e resinas para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos
95/94	Anexo II	Lista positiva de aditivos para materiais plásticos destinados à elaboração de embalagens e equipamentos em contato com alimentos
30/92	Anexo III	Embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. Classificação dos alimentos e simulantes
16/93	Anexo IV	Disposições para embalagens plásticas retornáveis para bebidas não alcoólicas carbonatadas
36/92	Anexo V	Ensaio de migração total de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos
10/95	Anexo VI	Determinação da migração total de materiais plásticos utilizando óleo de oliva como simulante gorduroso
28/93	Anexo VII	Corantes e pigmentos para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos
47/93	Anexo VIII	Determinação de monômero de cloreto de vinila residual
86/93	Anexo IX	Determinação de monômero de estireno residual
11/95	Anexo X	Determinação da migração específica de mono e dietilenoglicol
94/94	Anexo XI	Determinação da migração específica de ácido terftálico

SVS/MS- Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde
 Fonte: MERCOSUL, 1995
 BRASIL, 1996

TABELA 11 - Hidroxifenilenzotriazóis e hidroxibenzofenonas aprovados, no Brasil, para uso em embalagens destinadas ao contato com alimentos e bebidas

Compostos	Concentrações de uso
2-(2-hidroxi-3,5-bis(1,1-dimetilbenzil)fenil)-benzotriazol	p/ PET e seus copolímeros em quantidade não superior a 0,5 % da MP. Para PC em quantidade não superior a 0,3 % da MP
2-(2'-hidroxi-3',5' di-terc-butilfenil)-5-cloro-benzotriazol (TINUVIN 327) [®]	p/ PE e PP em quantidade não superior a 0,5% da MP; em outros casos em quantidade não superior a 0,2% da MP
2-(2'-hidroxi-3'-terc-butil-5'-metilfenil)-5-cloro-benzotriazol (TINUVIN 326) [®]	p/ PE e PP em quantidade não superior a 0,5% da MP; em outros casos em quantidade não superior a 0,2% da MP
2-(2'-hidroxi-5-metilfenil)-benzotriazol (TINUVIN P) [®]	p/ PVC, PS, poliéster e seus copolímeros em quantidade não superior a 0,5 %. Para PC em quantidade não superior a 0,5 %
2-hidroxi-4-metoxibenzofenona	em quantidade não superior a 0,3 % da MP
2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona (CYASORB UV 24) [®]	em quantidade não superior a 0,3 % da MP
2-hidroxi-4-n-octiloxibenzofenona	em quantidade não superior a 3 % da MP

PE-polietileno PP-polipropileno PS-poliestireno PC-policarbonato MP-matéria plástica
 PVC-policloreto de vinila PET-polietileno tereftalato

Fonte: BRASIL, 1996

1.9-Referências bibliográficas

- DATAMARK Ltda. A indústria brasileira de embalagens/The brasilian packaging industry. São Paulo, DATAMARK Consultores, 1996. p. 213-214.
- ARPINO, P. J.; DILETTATO, D. Investigation of antioxidants and UV stabilizers from plastics.Part I: Comparison of HPLC and SFC; Preliminary SFC/MS study. **Journal of High Resolution Chromatography**, West Germany, v. 13, p. 5-12, 1990.
- BNDS. **Resina PET para recipientes**. AO1/GESET 4. Brasília, DF. BNDS, 1996. p.9.
- BEKBOLET, M. Light effects on foods. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 5, p.430-440, 1990.
- BLUM, W.; DAMASCENO, L. High temperature glass capillary gas chromatography using OH-terminated polysiloxane stationary phases. Separation of antioxidants and UV stabilizers. **Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communication**, West Germany, v. 10, p. 472-476, 1987.
- BRASIL. Portaria nº 26, de 25 de março de 1996, da Secretaria de Vigilância Sanitária/ Ministério da Saúde. Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 25 de março. 1996. Seção I, p. 4936 a 4948.
- BUIARELLI, F.; CARTONI, G.; COCCIOLI, F. HLPC and GC/MS detection of compounds released to mineral water stored in plastic bottles of PET and

- PVC. **Annali di Chimica**, Italy, v. 83, p. 93-104, 1993.
- CARLSSON, D. J.; SUPRUNCHUK, T.; WILES, D. M. Photo-oxidation of polypropilene films. VI. Possible UV-stabilization mechanisms. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 16, p. 615-626, 1972.
- CIBA-GEIGY, 1993. (Comunicação pessoal).
- COUPEK, J.; POKORNY, S.; PROTIVOVA, J.; HOLCIK, J., KARVAS, M.; POSPISIL, J. Antioxidants and stabilizers. XXXIII. Analysis of stabilizers of isotatic polypropylene: Application of gel permeation chromatography. **Journal of Chromatography**, Netherlands, v.65, p. 279-286, 1972.
- DE KRUIJF, N.; RIJK, A. H. Iso-octane as fatty food simulant: possibilities and limitations. **Food Additives and Contaminants**, London, v.5, suppl. 1, p. 467-483, 1988.
- DEXTER, M. **UV stabilizers**. **Encyclopedia of chemical technology**, New York: Wiley - Interscience. 1983, p.615-627.
- DILETTATO, D.; ARPINO, P. J.; NGUYEN, K.; BRUCHET, A. Investigation of low mass oligomer and polymer additives from plastics. Part II: Application to polyolefin soxhlet extracts. **Journal of High Resolution Chromatography**, Germany, v. 14, p. 335-342, 1991.
- DORELL, J.; KLVASEN, C. R., ADMUR, M. O. ed. **Casarett and Doull's Toxicology: the basic science of poisons**. New York: Macmillan, 1980, 778p.
- DOMENE, O.L. Migração de aditivos de embalagens flexíveis para alimentos. **Boletim da SBCTA**, Campinas, v.16, n.1, p.17-27, jan/mar, 1982.

- FARIA, J. A. F. Use of a gas chromatographic reactor to study lipid photooxidation. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 1, p. 1-5, 1983.
- FARIA, J. A. F. A função da embalagem na estabilidade de óleos vegetais. **Óleos e Grãos**, São Paulo, v. 6, p. 50-52, 1991.
- FEIGENBAUM, A. E.; BOUQUANT, J.; DUCRET, V. J.; EHRET-HENRY, J.; MARQUÉ, D. C.; RIQUET, A. M.; SCHOLLER, D.; WITTMANN, J. C. Guidelines of the Commission of the European Communities: a challenge for the control of packaging. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 11, n. 2, p. 141-154, 1994.
- FERNANDES, M. H. C., GARCIA, E. E. C., PADULA, M. **Migração de componentes de embalagens plásticas para alimentos**. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem de Alimentos-CETEA, ITAL/SBCTA. 1987. 175p.
- FIGGE, K. **Migration of components from plastics-packaging materials into packed goods - test methods and diffusion models**. Pergamon, 1980. p.187-252. (Progr. Polym. Sci., v. 6).
- FREIRE, M. T. A. **Avaliação do potencial do isooctano como simulante de alimento gorduroso no estudo de migração de plastificantes**. Campinas, 1992. 78 p. Tese (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos-UNICAMP.
- FREIRE, M. T. A.; REYES, F. G. G. Avaliação do isooctano como simulante de alimento gorduroso no estudo de migração de plastificante. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, p. 21-24, jul.set. 1993.

- FREITAG, W.; WURSTER, R. F.; MADY, N. Determination of polymeric light stabilizer Tinuvin 622 in polyolefins. **Journal of Chromatography**, v. 450, p. 426-429, 1988.
- FREITAG, W. Analysis of additives. In: GACHTER, R., MULLER, H. ed. **Plastics additives handbook**. 2. ed. Munich: Hanser, 1993. p. 908-946.
- GERARDE, H. W. **Toxicological and biochemistry of aromatic hydrocarbons**. Amsterdam: Elsevier, 1960. p.128
- GUGUMUS, F. Light stabilizers for thermoplastics. In: GACHTER R.; MULLER, H. ed. **Plastics additives handbook**. 2. ed. Munich: Hanser, 1993. p. 129-262.
- HANEY, M. A.; DARK, W. A. A reversed-phase high pressure liquid chromatographic method for analysis of additives in polyolefins. **Journal of Chromatographic Science**, v. 18, p. 655-659, 1980.
- HELLER, H. J. & BLATTMANN. Some aspects of the light protection of polymers. **Pure Applied Chemistry**, v. 30, p. 145, 1972.
- HELLER, H.J.; BLATTMANN. Some aspects of stabilization of polymers against light. **Pure Applied Chemistry**, v. 36, p. 141, 1973.
- HODGEMAN, D. K. C. Analysis of 2-hidroxibenzophenone and 2'-hidroxyphenylbenzotriazols UV stabilizer by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 214, p. 237-242, 1981.
- IFT Migration of Toxicants, flavors, and odor-active substances from flexible packaging material to food. A Scientific Status Summary by the Expert Panel

- on Food Safety and Nutrition, Inst. of Food Technologists. **Food Technology**, Chicago, v.42, n.7, p.95-102, july, 1988.
- JINNO, K., YOKOYAMA, Y. Retention prediction for polymer additives in reversed phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v.550, p. 325-334, 1991.
- KATAN, L. L., ed. **Food packaging legislation**. Oxford: Elsevier, Amsterdam, 1984. 168p.
- LEIMGRUBER, R. Aspects of plastics additives relative to industrial hygiene, the environment and articles in contact with food. In: GATCHER, R.: MULLER, H. **Plastic additives handbook**. 2. ed. New York: Hansen, 1993. p. 877-908.
- LEUKEN, R.; MERTENS, M.; JANSSEN, H. G.; SANDRA, P.; KWAKKENBOS, G.; DEELDER, R. Optimization of capillary SFC-MS for the determination of additives in polymers. **Journal of High Resolution Chromatography**, Germany, v. 17, p. 573-576, 1994.
- LICHTENTHALER, R. G.; RANFELT, F. Determination of antioxidants and their transformation products in polyethylene by high performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 149, p. 553-560, 1978.
- LUNDENBERG, W. O. Lipids and their oxidations. In: SYMPOSIUM ON FOODS, 1962. Westport: AVI, 1962. p.31.
- MATUSKA, R.; PREISLER, L.; SEDLAR, J. Determination of the polymeric light stabilizer Chimassorb 944 in polyolefins by isocratic high performance

liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 606, p. 136-140, 1992.

MERCOSUL, GMC/Res. n° 56/92: Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Montevideo: Mercosul, 1995.

MERCOSUL, GMC/Res. n° 87/93: Lista positiva de polímeros e resinas para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Montevideo: Mercosul, 1995.

MERCOSUL, GMC/Res. n° 95/94: Lista positiva de aditivos para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Montevideo: Mercosul, 1995.

MERCOSUL, GMC/Res. n° 30/92: Embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos: Classificação de alimentos e simulantes. Montevideo: Mercosul, 1995.

MERCOSUL, GMC/Res. n° 16/93: Disposições gerais sobre embalagens plásticas retornáveis para bebidas carbonatadas. Montevideo: Mercosul, 1995.

MERCOSUL, GMC/Res. n° 36/92: Ensaio de migração global de embalagens e equipamentos em contato com alimentos. Montevideo: Mercosul, 1995.

MERCOSUL, GMC/Res. n° 10/95: Determinação da migração global de materiais plásticos utilizando óleo de oliva como simulante gorduroso. Montevideo: Mercosul, 1995.

- MERCOSUL, GMC/Res. nº 28/93: Corantes e pigmentos para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. Montevideo: Mercosul, 1995.
- MERCOSUL, GMC/Res. nº 47/93: Determinação de monômero de cloreto de vinila residual. Montevideo: Mercosul, 1995.
- MERCOSUL, GMC/Res. nº 86/93: Determinação de monômero de estireno residual. Montevideo: Mercosul, 1995.
- MERCOSUL, GMC/Res. nº 11/95: Determinação da migração específica de mono e etilenoglicol. Montevideo: Mercosul, 1995.
- MERCOSUL, GMC/Res. nº 94/94: Determinação da migração específica de ácido tereftálico. Montevideo: Mercosul, 1995.
- MILES, D. C.; BRISTON, J. H. **Tecnologia dos polímeros**. São Paulo: Polígono, 1975. 573 p.
- MUNTEANU, D.; ISFAN, A.; ISFAN, C.; TINCUL, I. High performance liquid chromatographic separation of polyolefin antioxidants and light stabilizers. **Chromatographia**, v. 23, n. 1, p. 7-14, 1987.
- NERÍN, C. Aspectos da Legislação na Comunidade Européia. In: Materiais plásticos em contato com alimentos, apostila de curso. UNICAMP/ILSI Brasil. Campinas: CETEA/ITAL, 1995. p. 1-8.
- NERÍN, C.; SALAFRANCA, J.; CACHO, J. Behaviour of Chimassorb 81 in the recycling process of agricultural films used as soil covers. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 13, n. 2, p. 243-250, 1996.

NERÍN, C., SALAFRANCA, J.; CACHO, J.; RUBIO, C. Separation of polymer and on-line determination of several antioxidants and UV stabilizers by coupling size-exclusion and normal-phase high-performance liquid chromatography columns. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 690, n. 2, p. 230-236, 1995.

NIELSON, R. Extraction and quantitation of polyolefin additives. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 14, n. 3, p. 503-519, 1991.

NIELSON, R. C. Recent advances in polyolefin additive analysis. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 16, p. 1625-1638, 1993.

ÓLEOS E GRÃOS. São Paulo, v. 12, p. 34-35, maio/junho. 1993.

PASCUET, N. Legislação Européia e FDA com respeito a contaminantes provenientes de embalagem e sua implantação nos países membros. In: WORKSHOP SOBRE CRITÉRIOS PARA ESTABELECIMENTO DE LIMITES MÁXIMOS PERMISSÍVEIS PARA CONTAMINANTES, ADITIVOS E RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS, 1996. Fortaleza. Anais. p. 1-28.

PERLSTEIN, P. The determination of light stabilizers in plastics by high-performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, p. 21-27, 1983.

PROTIVOVÁ, J.; POSPIŠIL, J.; ZIKMUND, L. Antioxidants and stabilizers. XXXIX. GPC Analyses of the additives for polyolefins and PVC used as food wrappings. **Journal of Polymer Science: Symposium** n. 40, p. 233-243, 1973.

- REYES, F. G. R.; TOLEDO, M. C. F. **Toxicologia de alimentos**. Campinas, FEA/UNICAMP, 1988. 163 p. (Apostila).
- REYES, F. G. R. Aspectos toxicológicos específicos. In: **Materiais plásticos em contato com alimentos**. UNICAMP/ILSI Brasil. Campinas: CETEA/ITAL, 1995. p. 1-7. (Apostila).
- ROSSI, L. Future european community directives and petition procedures. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 11, n. 2, p. 123-129, 1994.
- RULIS, A. Threshold of regulation: options for handling minimal risk situations. In: FINLEY, J. W.; ROBINSON, S. F.; ARMSTRONG, D. J. Food safety assessment. Washington: ACS, 1992. p. 132-139. (**American Chemical Society Symposium Series**, v. 484).
- RYAN, T. W.; YOCKLOVICH, S. G.; WATKINS, J. C.; LEVY, E. J. Quantitative analysis of additives in polymers using coupled supercritical fluid extraction-supercritical fluid chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 505, p. 273-282, 1990.
- SHEPHERD, M. J. Trace contamination of foods by migration from plastics packaging-a review. **Food Chemistry**, v. 8, p. 129-145, 1982.
- SHEPHERD, M. J.; GILBERT, J. Simple and inexpensive application of steric exclusion chromatography for the isolations of low-molecular-weight additives from polymer systems. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 178, p. 435-441, 1979.
- SHEPHERD, M. J.; GILBERT, J. Analysis of additives in plastics by high performance size-exclusion chromatography. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 218, p. 703-713, 1979

SOLER, R. M.; FARIA, E. V.; GUEDES, L. B. R.; ANJOS, V. D. A.; DANTAS, S. T.; PADULA, M.; TANGO, J. S.; CAMPOS, S. D. S. Embalagens alternativas para óleo de soja. **Coletânea ITAL**, Campinas, v. 16, p. 201-27, 1986.

UHDE, W. J.; WOGGON, H.; ZYDEK, G.; KÖHLER, V. Migration of UV absorbents from food packaging materials. **Deutsche-Lebensmittel-Rundschau**, Stuttgart, v. 65, n. 9, p. 271-278, 1969.

VARGO, J. D.; OSLON, K. L. Identification of antioxidant and ultraviolet light stabilizing additives in plastics by liquid chromatography/mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 57, n. 3, p. 672-675, 1985.

VARGO, J. D.; OSLON, K. L. Characterization of additives in plastics by liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 353, p. 215-224, 1986.

WHO. **Principals for the safety assessment of food additives and contaminants in food**. Geneve, 1987. 174 p. (Environmental Health Criteria 70).

YAGOUBI, N; BAILLET, A. E.; PELLERIN, F.; BAYLOCQ, D. Étude par chromatographie liquid haute performance des antioxydants phénoliques dans les matériaux plastiques. Comparaison de trois méthodes de détection: spectrophotométrique dans l' ultra-violet, eletrochimique, et évaporative à diffusion de la lumière. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 522, p. 131-141, 1991.

CAPÍTULO 2

DETERMINATION OF UV STABILIZERS IN PET BOTTLES BY HIGH PERFORMANCE-SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY

Trabalho publicado na revista Food Additives and Contaminants,

v. 13, nº 9, p. 575-586, 1996

Determination of UV stabilizers in PET bottles by high performance-size exclusion chromatography

M. MONTEIRO, C. NERÍN† and F. G. R. REYES

Ciencia de Alimentos/FEA, UNICAMP, CP 6121, CEP 13081-970, Campinas, São Paulo, Brazil

†Department Química Analítica, C.P.S. Universidad de Zaragoza, M de Luna 3 50 015 Zaragoza, Spain

(Received 24 March 1995; revised 5 September 1995; accepted 17 October 1995)

A Size Exclusion Chromatography-High Performance Liquid Chromatography (SEC-HPLC) method to determine antioxidants and UV stabilizers in PET bottles has been developed. In only a single run a synthetic mixture of the stabilizers was separated and quantified. The detection limit obtained for BHT, Tinuvin 326, Cyasorb UV 5411, and Tinuvin P was about 0.1 µg/g and for Irgafos 168 it was 1.0 µg. RSD values were lower than 3%. Tinuvin P was identified and quantified in PET bottle extracts. Olive oil, soybean oil and sunflower oil showed well defined separation from Tinuvin P at the same conditions of analysis. Cyclic dimers were identified in the PET extracts.

Keywords: UV stabilizer, SEC-HPLC, PET

Introduction

Plastic bottles and films are widely used as food packaging. Most of the plastic packaging has small amounts of additives which provide functional characteristics such as stability and plasticity. These trace substances include antioxidants, stabilizers and plasticizers; they have low molecular weights, are physically dispersed into the polymer matrix and have a potential to migrate into foods. Furthermore, monomeric and oligomeric constituents are also usually present in the polymeric matrix (Shepherd 1982).

Several methods have been developed for the determination of additives in plastics: thin-layer chromatography (TLC) (Coupek *et al.* 1972, Miles 1974), gas chromatography (GC) (Perlstein and Orme 1985, Gugumus 1987, Dilettato *et al.* 1991) and liquid chromatography (HPLC) (Shepherd and Gilbert 1979, Haney and Dark 1980, Perlstein 1983, Vargo and Oslon 1986, Arpino *et al.* 1990). The one most frequently used is HPLC which permits the analysis of polar and non-volatile additives.

The determination of polymer stabilizers by Size Exclusion Chromatography-High Performance Liquid Chromatography (SEC-HPLC) has the advantage of direct analysis of the complex samples, thus minimizing the clean-up step. Coupek *et al.* (1972) and Matuska *et al.* (1992) reported SEC-HPLC as a clean-up method for complex matrix extracts. The interferents (polymers, oligomers) are eluted before the target additives which have lower molecular weights.

†To whom correspondence should be addressed.

This paper presents an SEC-HPLC method to determine antioxidants and UV stabilizers in PET bottles as well as in vegetable oils such as soybean oil, sunflower oil and olive oil.

Experimental

Materials

2-(2'-Hydroxy-5-methylphenyl)benzotriazole (Tinuvin P), 2-(2'-hydroxy-5'-*tert*-octylphenyl) benzotriazole (Cyasorb UV5411), 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-*tert*-butyl)-5-chlorobenzotriazole (Tinuvin 327), 2-(2'-dihydroxy-4-methoxybenzophenone (Cyasorb UV24) and tria(2,4-di-*tert*-butylphenyl)phosphite (Irgafos 168) were generously supplied by Ciba Geigy (Basle, Switzerland); 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT) was from Fluka (Buchs, Switzerland), pure quality.

Polyethyleneterephthalate (PET) bottles (with and without stabilizers) were supplied by Engepack (São Paulo, Brazil), and the soybean oil was obtained from Cargill (São Paulo, Brazil). Sunflower oil and olive oil were purchased at the retail market in Zaragoza, Spain.

Dichloromethane and *n*-hexane were obtained from Calo Erba (Milan, Italy), HPLC quality. Tetrahydrofuran (THF), without stabilizer, was from Merck (Darmstadt, Germany), HPLC quality.

Preparation of samples for analysis

The individual stabilizers were not purified prior to the analysis. Standard solutions of these stabilizers dissolved in the mobile phase were used to optimize the analytical procedure.

PET bottles ($n = 7$) were manually cut and separated into top, body and bottom parts. Each part was ground in a Margarit knife mill (Barcelona, Spain). Samples (1 g) from each part were placed in contact with 10 ml of a Tinuvin 327 standard solution (40 g/g) which was used as first internal standard (IS₁). After that, samples were extracted with 20 ml of dichloromethane (maceration for 6 h and ultrasonic bath for 1 h). The extracts were filtered (1PS Whatman paper) from the polymeric material, concentrated in a rotary evaporator and filtered through PTFE (0.45 μ m) filters before use. The volumes of the PET extracts were adjusted to 10 ml with dichloromethane and then analysed by HPLC. Cyasorb UV24 was added to the final extract as the second internal standard (IS₂) for quantification purposes.

High performance-size exclusion chromatography

Chromatographic analysis was performed on a Hewlett Packard (Palo Alto, CA, USA) 1050 Series Liquid Chromatograph, equipped with quaternary pump, auto-sampler, dual UV-VIS detector and a Kontron Electronic Data System 450 PCIP (version 3.92). The column was a PL-GEL 50 Å from Polymer Laboratory (UK), with 300 \times 7.5 mm i.d. An oven controller (Kontron Instruments, 480) held the column temperature at 30°C. The mobile phase was *n*-hexane:dichloromethane (75:25 v/v) at a flow-rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 280 nm (0.4 AUFS) and injection volume, 5 μ l. Solvents were degassed under a helium stream (10 min) before use.

Gas chromatography/mass spectrometry

A GC/MS Hewlett Packard (Palo Alto, CA, USA) 5890 Series II with a 5971-A Mass Selective Detector were used. A DB 1701 capillary column of 60 m

length \times 0.25 mm i.d. \times 0.25 μ m film thickness was used. The column temperature was held for 2 min at 100°C then programmed at 20°C/min to 280°C and held for 24 min. The carrier gas was helium at 110 kPa head pressure. Injections (1 μ l) were made at 280°C. Detection temperature was 280°C using scan mode. The injection temperature was 280°C.

Quantitative evaluation

Peak heights were measured and the concentrations were obtained from standard graphs obtained by analysing pure stabilizer samples by comparison with the internal standard (IS₂) peak height (calibration plot).

Recovery studies

Standard solutions containing 7, 25 and 80 μ g/g of the stabilizers in mobile phase were placed in contact for 12 h with ground samples (1 g) of PET without stabilizers (PET blank) and then the extraction step described for the PET samples with stabilizers was followed.

Results and discussion

Behaviour of the SEC column

The behaviour of the SEC column in the separation of a compound mixture is related to its molecular size. The SEC column stationary phase is made up of a gel which has porous particles with controlled pore size. The mobile phase swells these porous particles which acquire the correct size to separate solutes in a given molecular size range. The choice of an appropriate gel improves the separation in low molecular weight portions up to relatively high ones. Although it is expected that organic solvents perform similarly in the SEC column, their polarities exert a strong influence in the separation mechanism. This can be explained by the specific retentions (adsorption effects) shown for polystyrene gels (Cases and Hens 1988). Adsorption effects in SEC columns have also been reported by Lafleur and Plummer (1991) and Wesslen and Wesslen (1992). Recently, Nerín *et al.* (1995) have described this adsorption effect using dichloromethane and *n*-hexane as mobile phase to separate a styrene and benzophenone mixture. The authors have observed that when the percentage of *n*-hexane was lower than 70%, the predominant mechanism was size-exclusion, and the styrene was eluted first. As the *n*-hexane percentage was increased the elution order changed, and both adsorption and size-exclusion mechanisms took place.

SEC columns have been used for the analysis of antioxidants and UV stabilizers (Coupek *et al.* 1972, Protvova *et al.* 1973, Matuska *et al.* 1992). Their advantage is that they allow separation and clean-up in only one step.

Overview of analytical methodology

SEC-HPLC under isocratic elution is effective for the separation of the additives in a single run. Figure 1 shows a typical chromatogram of the calibration curve of the antioxidants and UV stabilizers at 20 μ g/g. Satisfactory separation was obtained for the standard mixture in only 20 min. In order to get quantitative results height peak integration was carried out. The height peak differences verified are related to the stabilizers sensitivity at 280 nm.

The results of the optimum method are shown in table 1. Detection limits, expressed as the concentration corresponding to three times the background noise

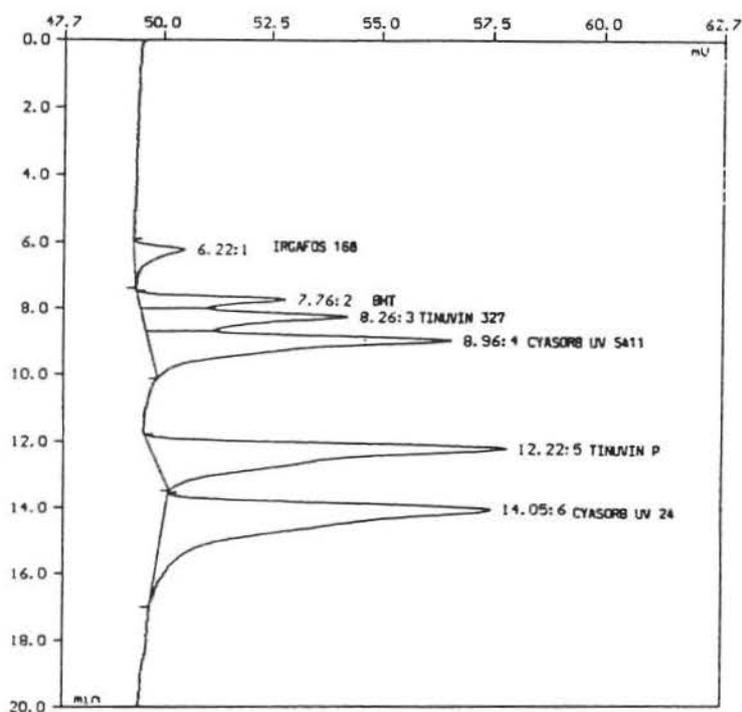


Figure 1. Chromatogram obtained from the calibration curve of the UV stabilizers and antioxidants (concentration = 20 $\mu\text{g/g}$ each) by SEC-HPLC. Conditions: flow rate = 1.0 ml/min, mobile phase: *n*-hexane: dichloromethane (75:25 v/v), column temperature = 30°C.

Table 1. Analytical conditions for the determination of UV stabilizer polymer additives by high performance-size exclusion chromatography.

UV stabilizers (trade name)	Retention time ^b (min)	Detection limit ($\mu\text{g/g}$)	Reproducibility (RSD) ^c	Linear range ($\mu\text{g/g}$)	Accuracy ^d
BHT ^a	7.76 \pm 0.02	0.1	3.02%	0.1–79.9	20.40 \pm 0.62 (19.98)
Irgafos 168	6.22 \pm 0.02	1.0	2.40%	3.1–150.1	18.21 \pm 0.44 (19.96)
Cyasorb UV 5411	9.00 \pm 0.06	0.1	1.79%	0.2–100.3	19.74 \pm 0.35 (19.93)
Tinuvin P	12.27 \pm 0.09	0.1	1.78%	0.4–100.2	19.89 \pm 0.35 (19.91)
Tinuvin 327	8.28 \pm 0.06	0.1	2.48%	0.2–100.8	20.31 \pm 0.50 (20.03)

^a Many other trade names.

^b Confidence interval = 99%.

^c RSD, relative standard deviation, $n = 10$, UV stabilizer concentration = 20 $\mu\text{g/g}$.

^d $n = 10$, confidence interval = 99%, real value in parentheses.

peak height, were 0.1 $\mu\text{g/g}$ for almost all the compounds. Only Irgafos 168 had a detection limit at 1.0 $\mu\text{g/g}$; this was related to its low sensitivity at the wavelength used. The RSD values were below 3% and showed a good reproducibility. A large linear range was obtained for all the compounds and the linear correlation coefficients were always within the range 0.998 to 1. Also, good accuracy was attained and quantitative results were obtained, even for the peaks with incomplete

separation. The results indicate that direct determination of the stabilizers in the plastic is feasible.

Characterization of additives in PET bottles

The method established in the present paper was used for the analysis of the unknown UV stabilization system in PET bottles.

At the start of the experiments the solubilities of the UV stabilizers under study were measured using several solvents which are used for polymer additive extraction (Coupek *et al.* 1972, Perlstein 1983, Vargo and Oslon 1985). It was found that THF and dichloromethane readily dissolved all of them. However, THF showed absorption at 280 nm and also, dichloromethane was already employed as mobile phase. The UV stabilizer could, therefore, be easily extracted from ground PET bottles by dichloromethane and its character and amount were determined accurately using a standard calibration curve. It should be noted that the dichloromethane does not dissolve the PET. The polymer itself was discarded after filtration.

Only three peaks appeared in the chromatogram corresponding to the extract of PET bottles. One of them was identified as Tinuvin P. Figure 2 shows a chromatogram overlay plot from extracts of the PET bottles with and without (PET blank) stabilizer in comparison with a Tinuvin P standard plot. As can be seen in Figure 2, two more peaks appear in the chromatogram of both PET extracts. In order to identify them, fractions corresponding to the retention time of these peaks (peaks 2 and 3, figure 2) were independently collected from the SEC-HPLC system, concentrated under a nitrogen stream and identified by GC/MS. Several compounds were identified from the GC/MS chromatograms

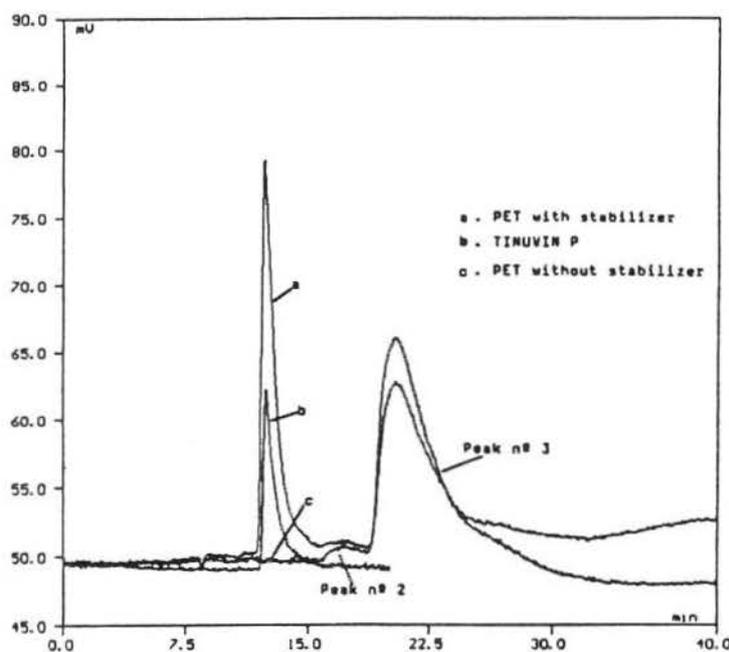
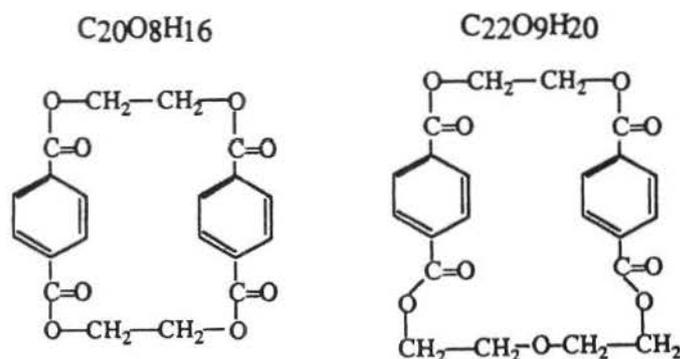


Figure 2. Chromatogram overlay plot obtained by SEC-HPLC for the identification of Tinuvin P from the extracts of PET bottles. The same conditions as figure 1.

(figure 3). Siloxan compounds and hydrocarbons, that probably came from the column, plasticizers such as adipates and phthalates, BHA and BHT were found in both collected fractions. Also, a compound called Brucamide ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{CONH}_2$) was identified in the first fraction (peak 24). Reidel (1987) described Erucamide as a lubricant for general use in plastic manufacturing. The Erucamide mass spectrum is shown in figure 4. Working with PET extracts, Buiarelli *et al.* (1993) have confirmed the Erucamide molecular ion ($m/z = 337$). According to these authors the base peak $m/z = 59$ ($\text{C}_2\text{H}_5\text{ON}$) is due to a McLafferty rearrangement and the ion $m/z = 320$ is a $\text{M}^+ - \text{NH}_3$. Another peak found in the first fraction (figure 3(a), peak 23) and a peak from the second fraction (figure 3(b), peak 9), which have very similar mass spectra (figure 5), can also be compared with those obtained by Buiarelli *et al.* (1993). Peak 23 (figure 5(a)) showed a molecular weight of 428 and peak 9 (figure 5(b)) showed a molecular weight of 385. The molecular weights of these peaks have also been confirmed by Buiarelli *et al.* (1993) who reported that the ion $\text{M}-43$ was due to a $\text{M}-(\text{CH}_2\text{CHO})$ and that the ion $m/z = 296$ ($\text{CO}[-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2]_2$) was characteristic of PET extracts. The authors have suggested that these peaks correspond to cyclic oligomers of PET, as follows:



According to these studies peak 9 from second fraction (figure 5(a)) could be attributed to a cyclic dimer ($\text{C}_{20}\text{O}_8\text{H}_{16}$) and peak 23 from the first fraction (figure 5(a)), to the same dimer with an extra ethylene glycol unit ($\text{C}_{22}\text{O}_9\text{H}_{20}$).

As Tinuvin P has a small molecular size, it is expected that it could be transferred to the food in contact with PET bottles. PET bottles used for olive oil, soybean oil and sunflower oil are in direct contact with the polymer. Figure 6 shows the chromatogram obtained when a solution of Tinuvin P in soybean oil, in olive oil and in sunflower oil was analysed by the SEC-HPLC system. As can be seen, the separation between the oil and the UV stabilizer is good enough for the quantitative analysis.

Quantification of UV stabilizer in PET bottles

By using an internal standard (Cyasorb UV 24) and UV detection the amount of Tinuvin P in PET bottles was determined. Tinuvin 327 was also used, as first internal standard, to allow the observation of losses during the extraction step. Figure 7 shows a typical chromatogram obtained for the quantification of Tinuvin P from PET bottles. As can be seen in table 2 the amount of Tinuvin P in PET

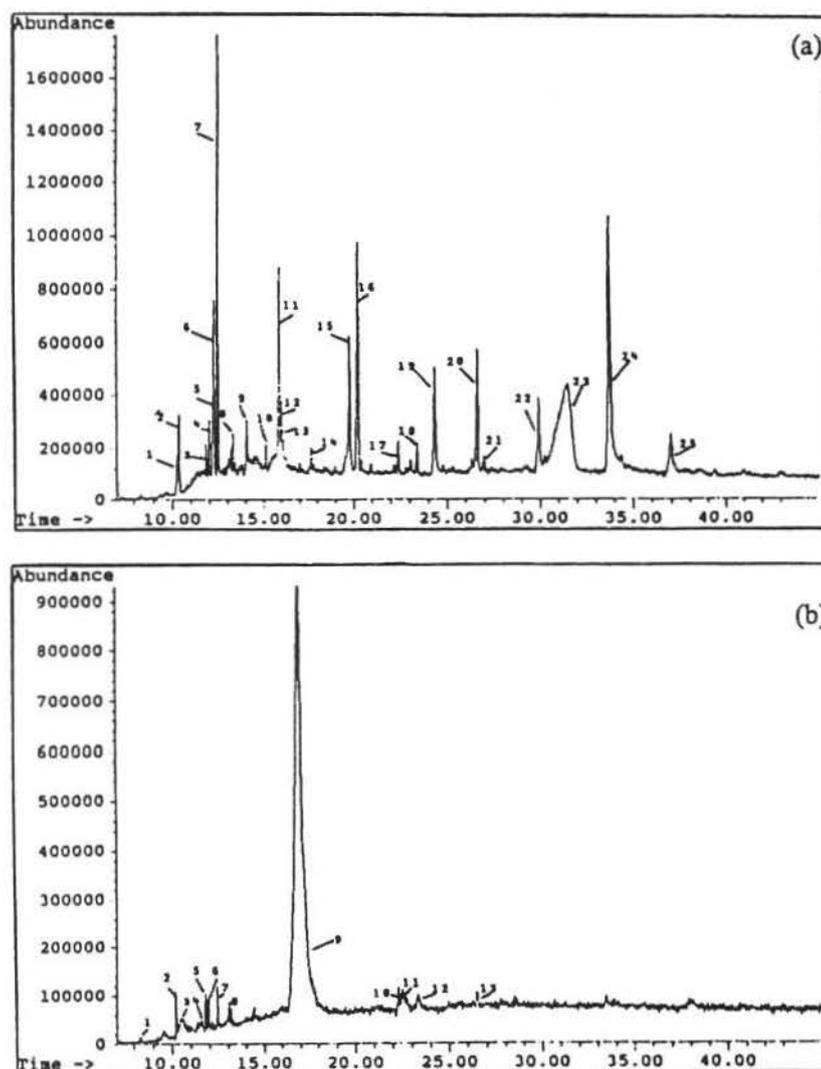


Figure 3. GC/MS chromatogram of collected fractions (SEC-HPLC system) of PET extracts. (a) First fraction, peak 1, hydrocarbon; 2, adipate; 3, hydrocarbon; 4, BHT; 5, *tert*-BHA; 6, siloxan derivative; 7, BHA; 8, phthalate; 9, benzamine, 4-chloro, 2,5-dimethoxy; 10, phthalate; 11, siloxan derivative; 12, siloxan derivative; 13, hydrocarbon; 14, hydrocarbon; 15, siloxan derivative; 16, hydrocarbon; 17, siloxan derivative; 18, phthalate; 19, siloxan derivative; 20, hydrocarbon; 21, hydrocarbon; 22, siloxan derivative; 23, cyclic dimer ($C_{22}O_9H_{20}$); 24, Erucamide; 25, siloxan derivative. (b) Second fraction, peak 1, hydrocarbon; 2, hydrocarbon; 3, siloxan derivative; 4, hydrocarbon; 5, hydrocarbon; 6, BHT; 7, BHA; 8, hydrocarbon; 9, cyclic dimer ($C_{20}O_8H_{16}$) from PET extract; 10, hydrocarbon; 11, siloxan derivative; 12, not identified; 13, hydrocarbon.

bottles ranged from 0.0122 to 0.0124 g per 100 g of PET. This suggests that there is no difference in the amounts of Tinuvin P from the different parts of the bottle. The amount of Tinuvin P in PET bottles is in agreement with those levels established from the Brazilian legislation (ABIA 1985) as well as from the FDA (FDA 1992) Mercosul, (Mercosul, 1995) and the legislation for food contact packaging.

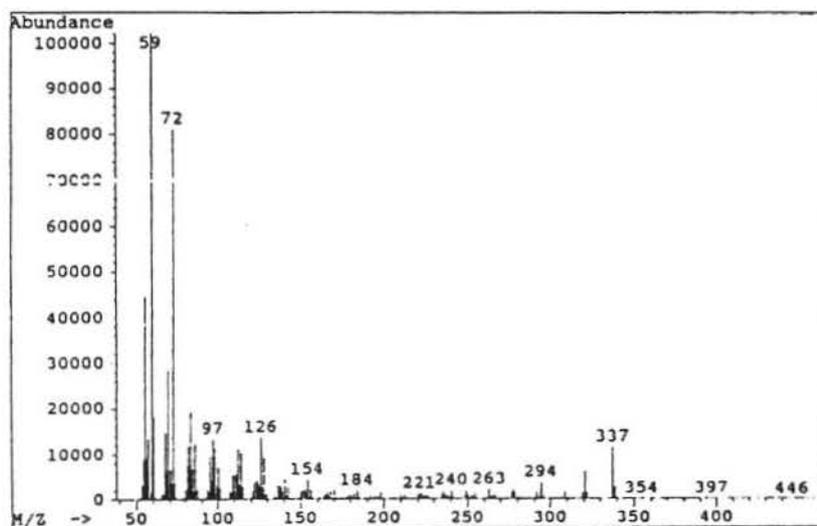


Figure 4. Mass spectrum of peak 24 from first fraction of PET extract, identified as Erucamide.

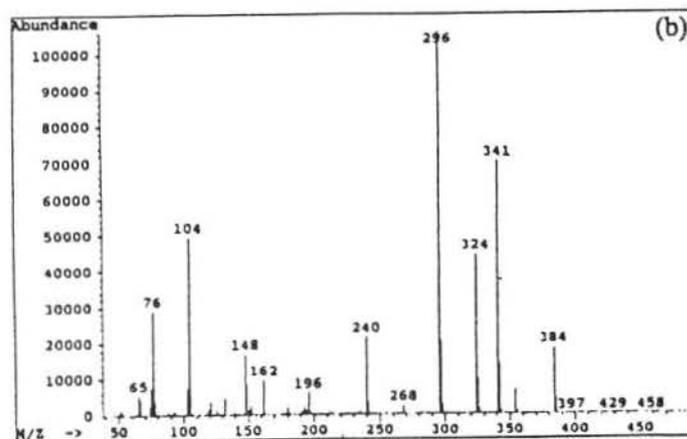
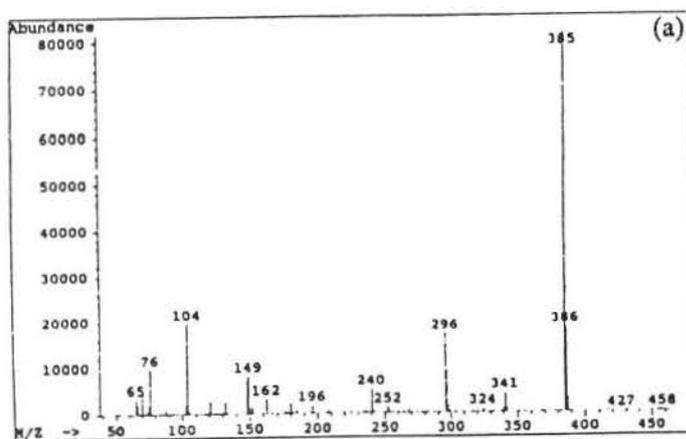


Figure 5. Mass spectra of PET extract. (a) Peak 23 from first fraction, (b) peak 9 from second fraction.

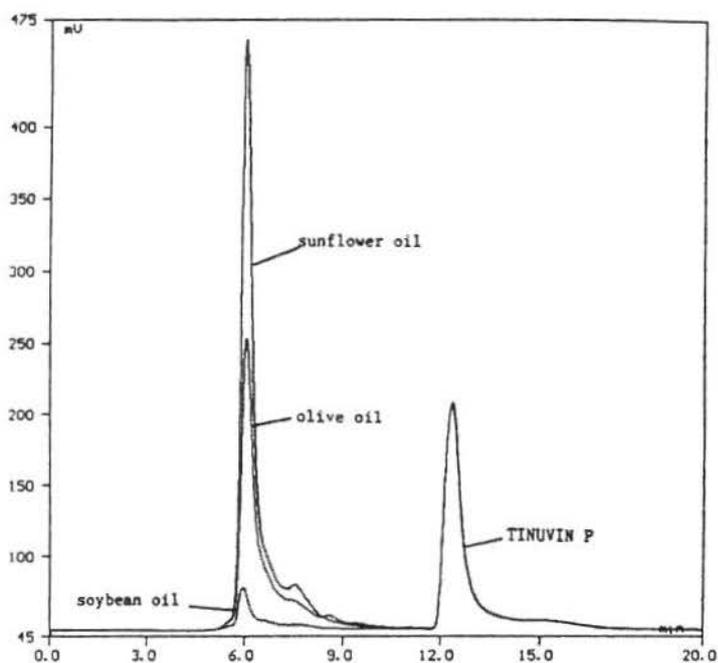


Figure 6. Chromatogram overlay plot obtained by SEC-HPLC for the separation of Tinuvin P and olive oil, soybean oil and sunflower oil. The same conditions as figure 1.

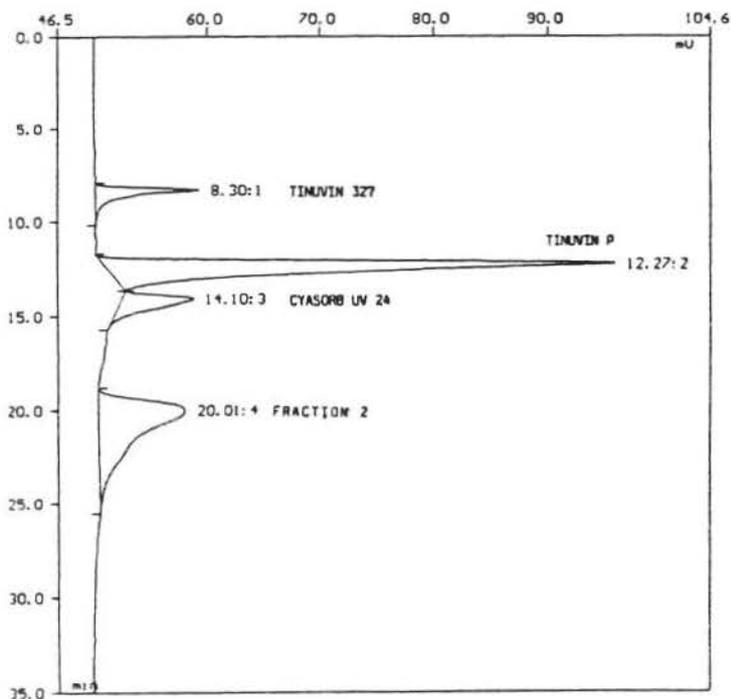


Figure 7. Chromatogram obtained for the quantification of Tinuvin P from extracts of PET bottles by SEC-HPLC. The same conditions as figure 1.

Table 2. Tinuvin P (mg/100 g) percentage in PET bottles.

	PET		
	Top	Body	Bottom
Tinuvin P	12.3	12.2	12.4
SD	1.4	0.1	0.4
RSD (%)	11.2	0.7	3.1

$n = 3$, confidence interval = 99%.

Table 3. Recovery (%) for the UV stabilizers from extraction.

	Mean of recovery (%)	RSD
Irgafos 168	82.87	6.04
BHT	104.20	1.95
Tinuvin 327	113.67	4.36
Tinuvin P	79.87	4.80
Cyasorb UV 5411	69.30	5.32

RSD, relative standard deviation, $n = 9$.

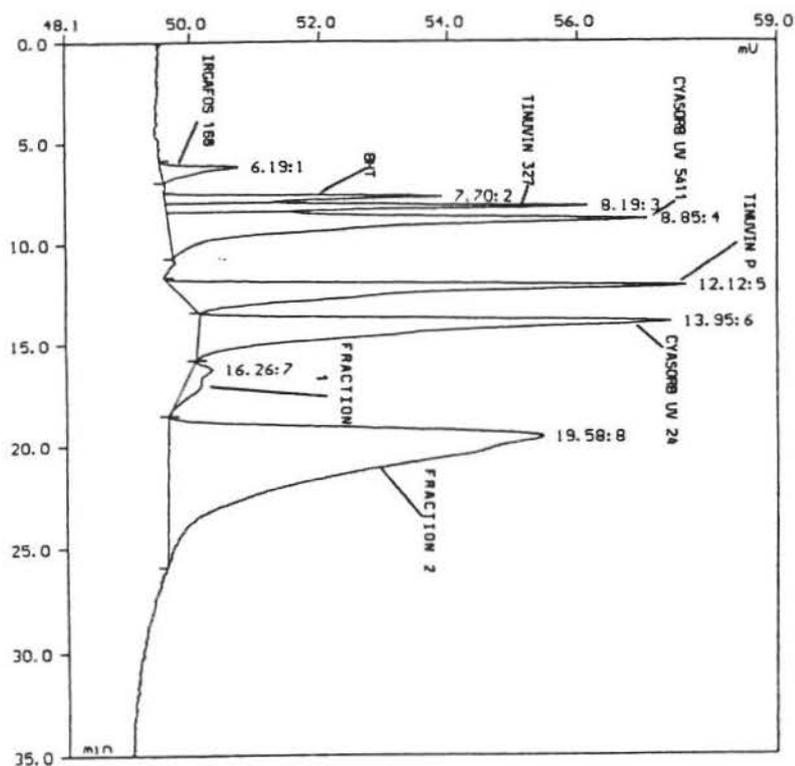


Figure 8. Chromatogram obtained from the recovery studies (concentration = 25 µg/g) for the extraction step, by SEV-HPLC. The same conditions as figure 1.

Recovery studies

Results from the recovery studies are shown in table 3. Recovery was expressed as the slope of the straight line obtained when the concentration found was plotted against the concentration added at several concentration values. According to table 3, good recoveries were attained for all the compounds. The Tinuvin P recovery results were used to adjust its amount in the quantification step. Figure 8 shows the chromatogram obtained from the recovery studies.

Conclusions

The advantage of the SEC-HPLC analysis for UV stabilizer determination is that the separation and quantification are carried out in only one run. There is no further handling. On the other hand, SEC-HPLC analysis allows the separation of the UV stabilizer from both PET and oil under the same analysis conditions. It has also been demonstrated that this method is effective in the quantification of Tinuvin P in PET bottles.

Acknowledgements

One of the authors (M. Monteiro) thanks CNPq (Brazil) and Programa Mutis-ICI (Spain) for providing a scholarship and especially thanks to ILSI-Brazil for the travel grant. The experimental work has been financed by CYCIT, Project ALI 92-0637.

References

- ABIA (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTAÇÃO), 1985, *Compendio da Legislação de Alimentos*, Volume 1 (São Paulo: Atos do Ministério da Saúde).
- ARPINO, P. J., DILETTATO, D., NGUYEN, K., and BRUCHET, A., 1990, Investigation of antioxidants and UV stabilizers from plastics. Part I: Comparison of HPLC and SFC; Preliminary SFC/MS study. *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 5-12.
- BUIARELLI, F., CARTONI, G., and COCCIOLI, F., 1993, HPLC and GC/MS detection of compounds released to mineral waters stored in plastic bottle of PET and PVC. *Annali di Chimica*, **83**, 93-104.
- CASES, M. C., and HENS, A. G., 1988, Cromatografía líquida en columna (IV). Exclusion. *Técnicas Analíticas de Separación* (Barcelona: Reverté), pp. 573-593.
- COUPEK, J., POKORNY, S., PROTIVOVÁ, J., HOLCÍK, J., KARVAS, M., and POSPÍŠIL, J., 1972, *Journal of Chromatography*, **65**, 279-286.
- DILETTATO, D., ARPINO, P. J., NGUYEN, K., and BRUCHET, A., 1991, Investigation of low molecular mass oligomers and polymer additives from plastics. Part II: Application to polyolefin soxhlet extracts. *Journal of High Resolution Chromatography*, **44**, 335-342.
- FDA, HHS, 21 CFR. ch. 1, 4/1/1992 Edition, paragraph 178.2010.
- GUGUMUS, F., 1987, Light stabilizers for thermoplastics. *Plastic Additives*, edited by R. Gatcher and H. Muller, 2nd edition (Munich: Hanser), pp. 97-192.
- HANEY, M. A., and DARK, W. A., 1980, A reversed-phase high pressure liquid chromatographic method for analysis of additives in polyolefins. *Journal of Chromatographic Science*, **18**, 655-659.
- LAFLEUR, A. L., and PLUMMER, E. F., 1991, Effect of column and mobile phase modifications on retention behaviour in size exclusion chromatography of polycyclic aromatic-hydrocarbons on poly(divinylbenzene). *Journal of Chromatographic Science*, **29**, 532-537.
- MATUSKA, R., PREISLER, L., and SEDLAR, J., 1992, Determination of the polymeric light stabilizer chimassorb 944 in polyolefin by isocratic high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, **606**, 136-140.
- MERCOSUL, 1995. GMC/DEC.n 87/93, 95/94.
- MILES, D. T., 1974, Antioxidants analysis incorporating a thin-layer chromatographic separation procedure. *Analyst*, **99**, 724-728.
- NERÍN, C., SALAFRANCA, J., CACHO, J., and RUBIO, C., 1995, Separation of polymer and on-line determination of several antioxidants and UV-stabilizers by coupling size-exclusion and normal-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, **690**, 230-236.
- PERLSTEIN, P., 1983, The determination of light stabilizers in plastics by high performance liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, **149**, 21-27.

- PERLSTEIN, P., and ORME, P., 1985, Determination of polymeric hindered-amine light stabilizers in plastics by pyrolysis-gas chromatography. *Journal of Chromatography*, **325**, 87-93.
- PROTIVOVA, J., POSPISIL, J., and ZIKMUND, L., 1973, Antioxidants and stabilizers: XXXIX. GPC analysis of the additives for polyolefins and PVC used as food wrappings. *Journal of Polymer Science: Symposium No. 40*, 233-243.
- RIEDEL, T., 1987, Lubricants and related additives. *Plastic Additives*, edited by R. Gatcher and H. Muller, 2nd edition (Munich: Hanser), pp. 423-480.
- SHEPHERD, M. J., 1982, Trace contamination of foods by migration from plastics packaging—a review. *Food Chemistry*, **8**, 129-145.
- SHEPHERD, M. J., and GILBERT, J., 1979, Simple and inexpensive application of the steric exclusion chromatography for the isolation of low molecular weight additives from polymer systems. *Journal of Chromatography*, **178**, 435-441.
- VARGO, J. D., and OSLOM, K. B., 1985, Identification of antioxidant and ultraviolet light stabilizing additives in plastics by liquid chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry*, **57**, 672-675.
- VARGO, J. D., and OSLOM, K. L., 1986, Characterization of additives in plastics by liquid chromatography—mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, **353**, 215-224.
- WESSLEN, B., and WESSLEN, K. B., 1992, Chromatography of amphiphilic graft-copolymers. *Journal of Polymer Science A*, **30**, 355-362.

ERRATA

Determination of UV stabilizers in PET bottles by high performance-size exclusion chromatography

M. MONTEIRO¹, C. NERÍN[†] and F.G.R. REYES²

The published article contained a number of errors as follows.

Page 575, The author's address should be:

¹Departamento de Alimentos e Nutrição/FCF, UNESP, CP 502, CEP 14801-902, Araraquara, São Paulo, Brazil.

[†]Departamento de Química Analítica, C.P.S., Universidad de Zaragoza, María de Luna 3, 50015, Zaragoza, Spain.

²Departamento de Ciências de Alimentos/FEA, UNICAMP, CP 6121, CEP 13081-970, Campinas, São Paulo, Brazil.

Page 576, Introduction, line 21: replace 'an SEC-HPLC' by 'a SEC-HPLC'.

Page 576, Materials, line 4: replace 'tria(2,4-di-*tert*-butylphenyl)phosphite' by 'tris(2,4-di-*tert*-butylphenyl)phosphite'.

Page 576, Materials, line 11: replace 'Calo Erba' by 'Carlo Erba'.

Page 576, Preparation of sample for analysis, line 7: replace '(40 g/g)' by '(40 µg/g)'.

Page 580, Characterization of additives in PET bottles, line 24: replace 'Brucamide' by 'Erucamide'.

Page 581, Quantification of UV stabilizer in PET bottles, line 6: replace '0.0122 to 0.0124 g' by '12.2 to 12.4 mg'.

Page 581, Quantification of UV stabilizer in PET bottles, lines 9 and 10: replace 'FDA (FDA 1992) Mercosul, (Mercosul 1995) and the legislation for' by 'FDA (FDA 1992) and Mercosul (Mercosul 1995) legislation for'.

Page 584, Figure 8, line 2: replace 'SEV-HPLC' by 'SEC-HPLC'.

CAPÍTULO 3

A GC/MS METHOD TO DETERMINE UV STABILIZERS IN PET BOTTLES

Trabalho aceito para publicação na revista
Journal of High Resolution Chromatography, 1997

A GC/MS method to determine UV stabilizers in PET bottles

M. Monteiro*

*Depto. de Alimentos e Nutrição/FCF/UNESP, C.P. 502, Araraquara-SP, CEP 14800-902,
Brazil

C. Nerín and C. Rubio

Depto. de Química Analítica/CPS/Universidad de Zaragoza. Maria de Luna, 3. Zaragoza-
50015, Spain

F. G. R. Reyes

Depto. de Ciência de Alimentos/FEA/UNICAMP, C.P. 6121, Campinas-SP, CEP 13081-970,
Brazil.

Key Words:

GC/MS analysis

SIM mode

UV stabilizers

PET

1 Introduction

Polyethyleneterephthalate (PET) polymer is increasingly being used for food packaging. Typical applications are in film, foil and bottle forms. Bottles are nowadays one of the main use of PET in direct contact with foods. They are widely used for carbonated soft drinks, mineral waters, edible oils, wines, fruit juices and spirits.

Plastic additives are necessary to get the required properties for plastics packaging. This is specially true in the field of food packaging, in which some additives play a critical role in the interaction between packaging material and food. Among additives, UV stabilizers can be mentioned as those necessary to prevent degradation of both food and plastic. As PET is stable enough for food packaging, the presence of UV stabilizers has the purpose to avoid the degradation of food contained in the PET bottle. However, it has been demonstrated that additives can interact with food through migration process [1-10]. Consequently the knowledge of the type and amount of these additives are important in order to assess the potential health hazard to the consumers due to the exposure to these substances.

In order to verify both the migration of UV stabilizers and the content of such additives in plastics, sensitive and accurate analytical methods are required. Chromatographic analysis of polymer extracts has been the main approach. The most widely used method for non volatile additives is High Performance Liquid Chromatography (HPLC) in both Reversed-phase [11-14] and Normal-phase [15-16]. Size Exclusion Chromatography (SEC) has been reported as a clean-up procedure [17-18] although some authors [19-20] have described SEC as a rapid and efficient technique to separate and quantify polymer additives. Thin Layer Chromatography (TLC) [18,21] has been used as a qualitative technique. For volatile

additives, Gas Chromatography (GC) is considered as the standard technique [22-23] and high temperature GC has been used to determine high molecular weight additives [22,24]. The use of capillary columns and specific detectors have improved the field of the GC analysis to analyse more and more complex mixtures. It should be noted that UV stabilizers are more stable to GC high temperatures than it has been previously assumed [25]. Capillary Supercritical Fluid Chromatography (cSFC) with carbon dioxide as mobile phase was also applied to analyse UV stabilizers [25-27]. Coupled techniques such as Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) [27-28], Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC/MS) [29-30] and Supercritical Fluid Chromatography/Mass Spectrometry (SFC/MS) [25, 31-32] have been developed to analyse polymer additives depending on the range of molecular weight, polarity and volatility of the additives. All of them use mass spectrometry as a fingerprint to identify and to quantify additives obtained by chromatographic separation.

This paper reports a GC/MS method which was developed to determine UV stabilizers in PET bottles. The method fulfills the requirements of high specificity, high quantitative precision and accuracy to be applied in migration studies.

2 Experimental

2.1 Standards and Bottles

2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT), pure quality, was from Fluka (Buchs, Switzerland) and benzophenone, analytical reagent quality, was from Sigma (St. Louis, MO, USA); 2-hydroxy-4-n-octyloxybenzophenone (Chimassorb 81), 2,2'-dihydroxy-4-methoxybenzophenone (Cyasorb UV 24), 2-(2'-hydroxy-5'-*tert*-octylphenil)benzotriazole

(Cyasorb UV 5411), 2-(2'-hydroxy-5-methylphenyl)benzotriazole (Tinuvin P), 2-(3'-*tert*-butyl-2'-hydroxy-5'-methylphenyl)-5-chlorobenzotriazole (Tinuvin 326) and 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)-5-chlorobenzotriazole (Tinuvin 327) were supplied by Ciba Geigy (Basel, Switzerland). None of them was purified before the analysis. Standard solutions were prepared in dichloromethane.

Dichloromethane was obtained from Carlo Erba (Milan, Italy), HPLC grade.

Polyethylenterephtalate (PET) bottles (with and without stabilizers) were supplied by Engepack (São Paulo, Brazil).

2.2 Extraction and Clean-up

PET bottles (n=7) were manually cut and separated into top, body and bottom parts. Each part was ground in a Margarit knife mill (Barcelona, Spain). Grounded samples (1g) from each part were individually placed in contact overnight with 10 ml of Tinuvin 327 standard solution (30 µg/ml) which was used as first internal standard (IS₁). Extraction was then carried out as shown in **Figure 1**. The volumes of PET extracts were adjusted to 10 ml with dichloromethane and then analysed by GC/MS. For quantitation purposes benzophenone was added to the final extract as the second internal standard (IS₂).

2.3 Gas Chromatography/Mass spectrometry

The GC/MS system consisted of a Hewlett-Packard (Palo Alto, CA, USA) 5890 Series II with a 5971-A Mass Selective Detector. A DB 1701 capillary column of 60 m length x 0,25

mm i.d. x 0,25 μm film thickness, and a guard column of 2 m length x 0,32 mm i. d. were used. The chromatographic conditions are included in **Table 1**.

2.4 Procedure

Initially, each stabilizer standard solution was injected in the GC/MS system, SCAN mode (m/z range from 50 to 500) to obtain the correspondent mass spectra. The standard solutions were used to optimize the analytical procedure using GC/MS-SIM mode.

For quantitation peak area was measured. The concentration values were obtained in each case from standard graphs constructed by analysing pure stabilizer samples. The internal standard procedure was used for both calibration and real sample analysis.

For the recovery studies standard mixture solutions containing 5, 20 and 60 $\mu\text{g/ml}$ of the stabilizers in dichloromethane were separately placed in contact overnight with ground PET samples (1g) without stabilizers (PET blank) and then the extraction step described in **Figure 1** was followed.

3 Results and Discussion

3.1 Method Development

A GC/MS procedure for the determination of UV stabilizer (BHT, Chimassorb 81, Cyasorb UV 24, Cyasorb UV 5411, Tinuvin P, Tinuvin 326 and Tinuvin 327) in PET bottles was developed. A typical chromatogram for the separation of the compounds is presented in **Figure 2**, which shows that an excellent resolution was obtained. It was also verified that the analysis of only one mass fragmentation peak, the base peak, of the mass spectrum was

sufficient to identify and to determine each compound. **Table 1** presents the chosen m/z values. With this procedure, SIM mode GC/MS, the sensibility of the method was improved from 2 to 10 times in comparison with the SCAN mode.

The linear range of the calibration curve, using the internal standard method, was in the range of 0.4 to 100 pg for all UV stabilizers (**Table 2**). The correlation coefficient was greater than 0.998. The detection limits, expressed as the concentration corresponding to three times the background noise peak area, at the retention time to each compound, are shown in **Table 2**. The relative standard deviation for 7 replicates, at an amount of 7.5 ng was below 5.5%. The method showed to be greatly specific and accurate.

In order to evaluate the extraction efficiency, recovery studies were carried out with all UV stabilizers. Recovery was expressed as the slope of the straight line obtained when concentration quantified was plotted against concentration added (5, 20 and 60 $\mu\text{g/ml}$). The mean recovery rates, for nine replicates, ranged from 78 to 99 %. The method showed an adequate reproducibility (relative standard deviation lower than 6.0, except for Cyasorb UV 24 with a value of 10.6 %) (**Table 3**).

3.2 PET Bottle Analysis

Once the method was established it was used to analyze an unknown UV stabilization system in PET bottles ($n=7$). The compounds were extracted with dichloromethane from grounded PET. The use of dichloromethane as an additive polymer extractant has already been reported [19-20, 33]. Polymer additives are usually very soluble in dichloromethane and this solvent does not dissolve PET polymer.

Table 3**Recovery (%) from the UV stabilizers from extraction**

	Mean of Recovery (%)	RSD
BHT	85.0	2.8
CHIMASSORB 81	78.6	6.0
CYASORB UV 24	79.9	10.6
CYASORB UV 5411	83.4	4.0
TINUVIN P	99.0	3.6
TINUVIN 326	86.7	3.3
TINUVIN 327	99.1	3.6

RSD, Relative standard deviation, n=9.

In all samples analyzed Tinuvin P was identified as the only UV stabilizer present in the bottles, according to the mass spectrum showed in **Figure 3**. This spectrum matched those obtained from Tinuvin P standard.

The amount of Tinuvin P found in PET bottles ranged from 12.9 to 13.5 mg/100 g of PET (**Table 4**). As described in previous work, other organic compounds such as packaging additives and cyclic oligomers were also present in the PET bottle extracts [19]. There was no difference ($P < 0.05$) among the Tinuvin P amount in the different sections (top, body and bottom) of the PET bottle (**Table 4**). Tinuvin P levels in the analyzed PET bottles are within those established by legislation [33-34].

In order to validate the proposed GC/MS methodology, the content of UV stabilizers in samples of PET bottles were also determined by SEC-HPLC/UV [19]. There was no difference ($P < 0.05$) between the two methodologies.

Table 4

Levels of Tinuvin P (mg/100 g) in different sections of PET bottles

	Sections of PET bottles		
	TOP	BODY	BOTTOM
Mean value ^a	12.9	12.9	13.5
RSD (%)	22.6	1.1	9.2

^a Mean value of 3 replicates;

RSD, Relative standard deviation.

4 Conclusions

The GC/MS method showed high sensitivity for the UV stabilizer determination in PET bottles. Interferences were avoided by working in SIM mode and the method showed to be specific for these additives under the described conditions. Reproducible and accurate quantitative results were obtained. This method was successfully applied for the determination of an unknown stabilization system in PET bottles.

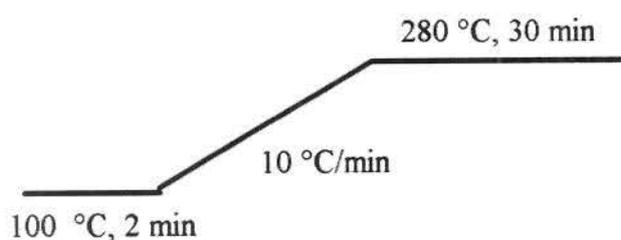
5 References

- [1] M. J. Shepherd, *Food Chem.* **8** (1982) 129.
- [2] B. E. Berg, D. R. Hegna, N. Orlien, and T. Greibrokk, *Chromatographia* **37** (1993) 271.
- [3] I. Cooper and P. A. Tice, *Food Addit. and Contam.* **12** (1995) 235.
- [4] O. G. Piringer, *Food Addit. and Contam.* **11** (1994) 221.
- [5] N. De Kruijf and M. A. H. Rijk, *Food Addit. and Contam.* **5**, suppl. 1 (1988) 467.
- [6] T. H. Begley, J. E. Biles and H. C. Hollifield, *J. Agric. and Food Chem.* **39** (1991) 1944.
- [7] T. H. Begley and H. C. Hollifield, *J. Food Protection* **53** (1990) 1062.
- [8] G. Scott, *Food Addit. and Contam.* **5**, suppl. 1 (1988) 421.
- [9] L. Castle, S. M. Jickells, J. Gilbert and N. Harrison, *Food Addit. and Contam.* **7** (1990) 779.
- [10] F. Buiarelli, G. Cartoni and F. Coccioli, *Annali di Chimica* **83** (1993) 93.
- [11] M. A. Haney and W. A. Dark, *J. Chromatogr. Sci.* **18** (1980) 655.
- [12] P. Perlstein, *Anal. Chim. Acta.* **149** (1983) 21.
- [13] D. Munteanu, A. Isfan, C. Isfan, and I. Tincul, *Chromatographia* **23** (1987) 7.
- [14] W. Freitag, *J. Chromatogr.* **450** (1988) 430.
- [15] R. G. Lichtenthaler and F. Ranfelt, *J. Chromatogr.* **149** (1978) 553.
- [16] D. K. C. Hodgeman, *J. Chromatogr.* **214** (1981) 237.
- [17] R. Matuska, L. Preisler and J. Sedlar, *J. Chromatogr.* **606** (1992) 136.
- [18] J. Coupek, S. Pokorny, J. Protivova, J. Holcik, M. Karvas, and J. Pospisil, *J. Chromatogr.* **65** (1972) 279.
- [19] M. Monteiro, C. Nerin and F. G. R. Reyes, *Food Addit. Contam.* **13** (1996) 575.
- [20] C. Nerin, J. Salafranca and J. Cacho, *Food Addit. Contam.* **13** (1996) 243.

- [21] D.T. Miles, *Analyst* **99** (1974) 724.
- [22] W. Freitag, "Plastic Additives", Hanser, Munich (1993) 4th edn, chap 20.
- [23] T. R. Crompton, "Chemical Analysis of Additives in Plastics", Pergamon Press, Oxford (1977) 2nd edn, chap 3.
- [24] W. Blum and L. Damasceno, *HRC & CC* **10** (1987) 472.
- [25] P. J. Arpino, D. Dilettato, K. Nguyen and A. Bruchet, *HRC* **13** (1990) 5.
- [26] T.W. Ryan, S. G. Yocklovich, J. C. Watkins and E. J. Levy, *J. Chromatogr.* **505** (1990) 273.
- [27] D. Dilettato, P. J. Arpino, K. Nguyen and A. Bruchet, *HRC* **14** (1991) 335.
- [28] J. R. Startin, I. Parker, M. Sharman and J. Gilbert, *J. Chromatogr.* **387** (1987) 509.0
- [29] J. D. Vargo and K.L. Oslon, *Anal. Chem.* **57** (1985) 672.
- [30] J. D. Vargo and K.L. Oslon, *J. Chromatogr.* **353** (1986) 215.
- [31] R. Leuken, M. Mertens, H. J. Janssen, P. Sandra, G. Kwakkenbos and R. Deelder, *HRC* **17** (1994) 573.
- [32] G. A. MacKay and R. M. Smith, *J. Chromatogr.* **32** (1994) 455.
- [33] MERCOSUL, (1995) GMC/DEC 87/93, 95/94
- [34] FDA, HHS, 21 CFR, ch. 1 , 4/1/1992 edn., paragr. 178.2010.

Table 1
Chromatographic conditions

Injection volume 1 μ l
 Injection temperature 280 °C
 Detector temperature 280 °C
 Column program



Splitless time 0,5 min
 Solvent delay 9 min
 Carrier gas Helium: 110 kPa head pressure

	Group	Start time ^a (min)	Retention time (min)	m/z
SIM mode	BHT	12.00	15.30 ± 0.01	205
	BENZOPHENONE	17.00	18.16 ± 0.01	105
	TINUVIN P	22.00	23.39 ± 0.01	225
	CYASORB UV 24	24.50	25.69 ± 0.02	121
	TINUVIN 326	29.50	30.47 ± 0.02	300
	CYASORB UV 5411	29.50	31.37 ± 0.03	252
	TINUVIN 327	29.50	32.49 ± 0.02	342
	CHIMASSORB 81	37.00	38.24 ± 0.06	213

^a Time at which the detector was turned on and began to measure

^b Confidence interval=99 %

Table 2**Analytical conditions for the determination of UV stabilizers by CG/MS.**

UV STABILIZERS (Trade Name)	DETECTION LIMITS (pg)	REPRODUCIBILITY (RSD) ^b	LINEAR RANGE (pg)	ACCURACY^c (pg)
BHT^a	0.05	1.24%	0.4 - 68.7	6.16 ± 0,1 (6.22)
CYASORB UV 24	2225.29	2.20%	4.0 - 101.0	7.01 ± 0,2 (7.14)
CYASORB UV 5411	19.43	4.00%	0.8 - 75.8	7.14 ± 0,4 (6.86)
TINUVIN P	18.43	4.38%	0.6 - 77.7	6.76 ± 0,4 (7.03)
TINUVIN 326	19.79	1.90%	0.6 - 83.5	7.60 ± 0,2 (7.56)
TINUVIN 327	19.43	4.22%	0.8 - 76.1	6.90 ± 0,4 (6.89)
CHIMASORB 81	259.71	5.46%	2.3 - 96.7	6.91 ± 0,5 (6.84)

^a Many other trade names^bRSD, Relative standard deviation, n= 7, UV Stabilizer amount=7.5 pg^c n=7, confidence interval = 99%, real value in parentheses

FIGURE CAPTIONS

Figure 1

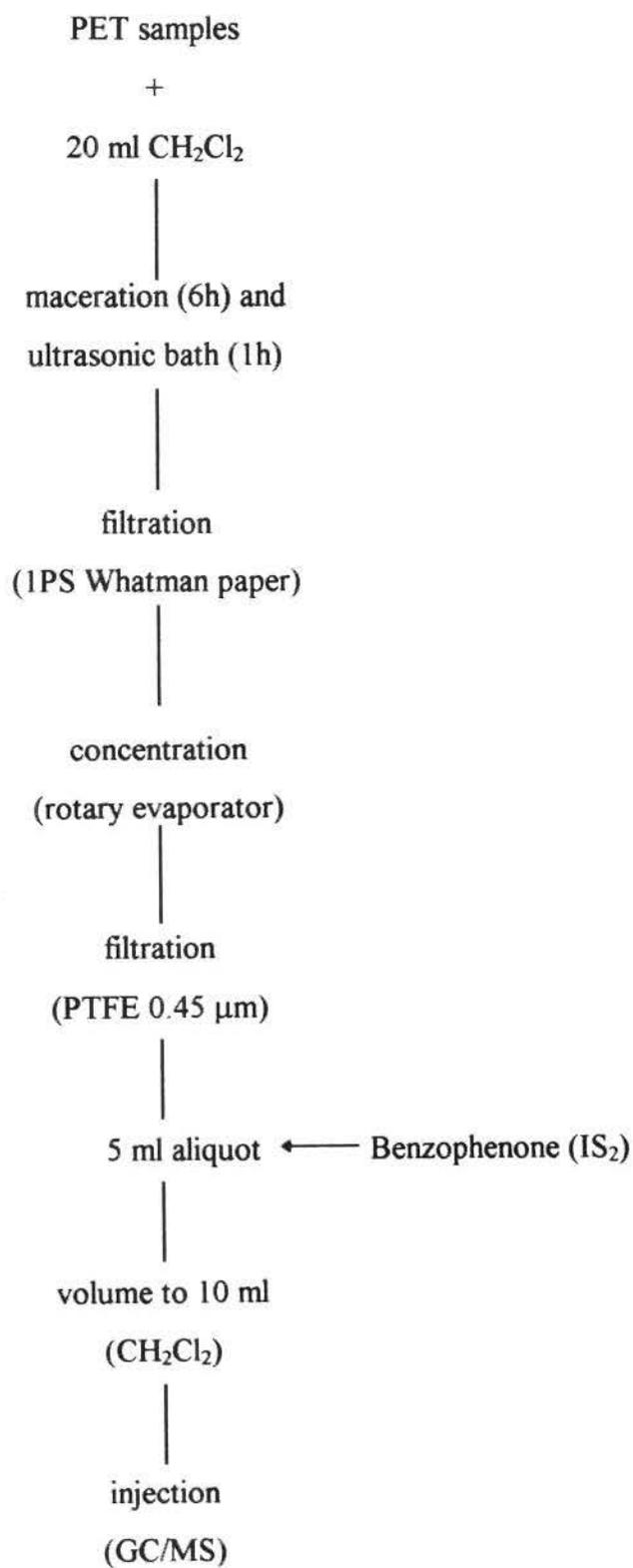
Scheme of the extraction step

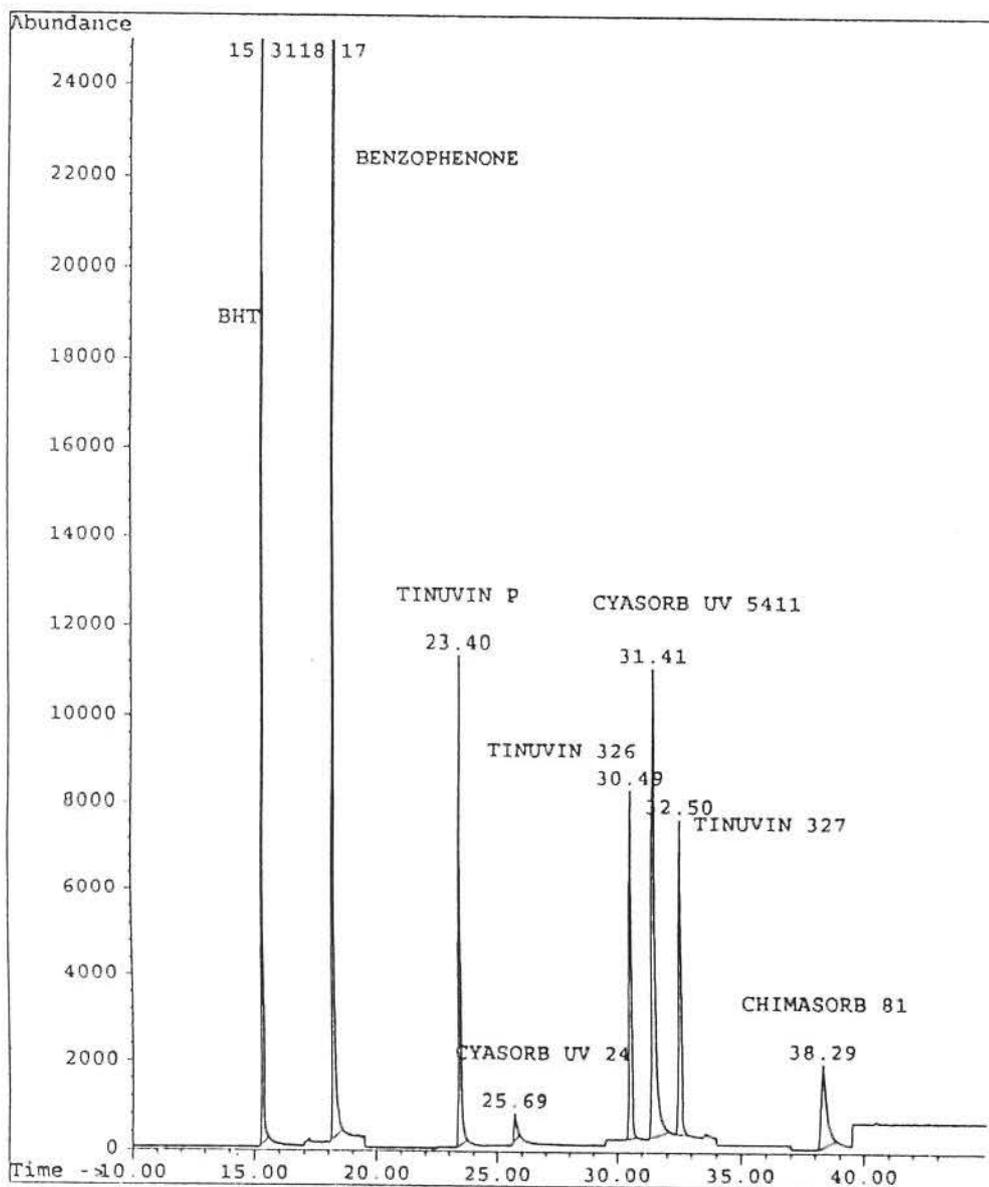
Figure 2

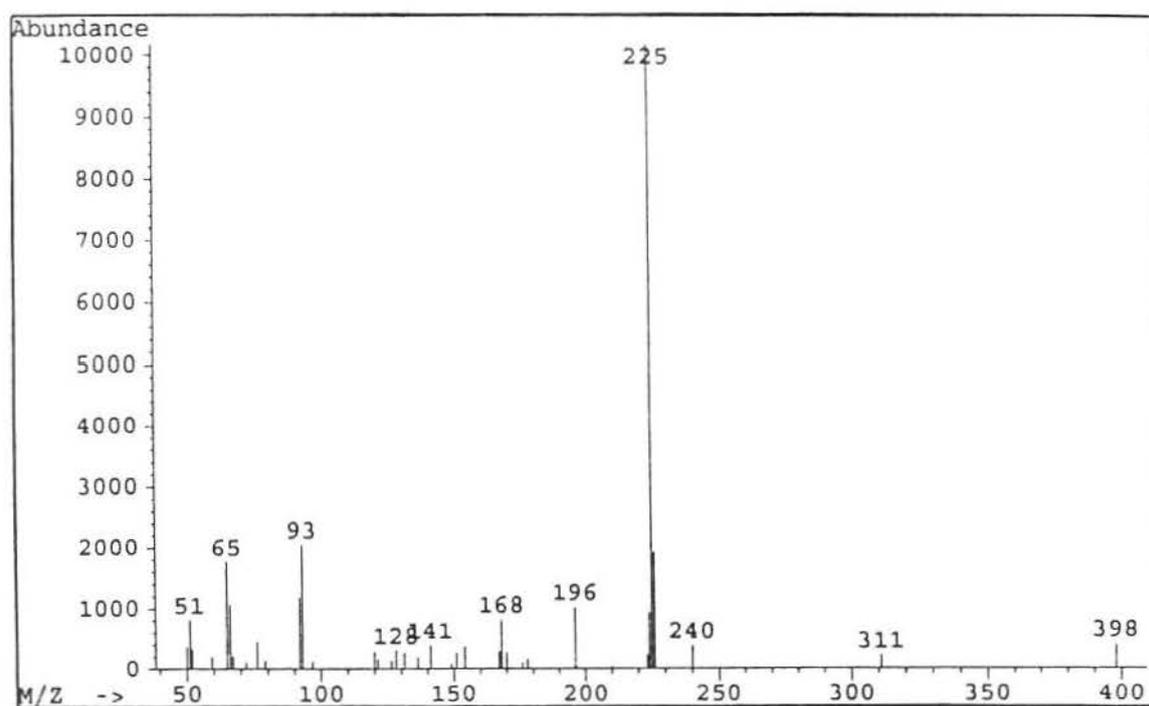
GC/MS chromatogram of the UV stabilizer synthetic mixture used for the calibration curve (UV stabilizer amount= 7.5 pg). Conditions showed in Table 1.

Figure 3

Mass spectrum of Tinuvin P from PET bottle extracts.







CAPÍTULO 4

MIGRATION BEHAVIOUR OF TINUVIN P, AN UV STABILIZER FROM PET BOTTLES, INTO FATTY-FOOD SIMULANTS

Trabalho a ser submetido à revista Journal of AOAC International, 1997

Migration Behaviour of Tinuvin P, an UV Stabilizer from PET Bottles, into Fatty-Food Simulants

MAGALI MONTEIRO¹

Departamento de Alimentos e Nutrição/FCF, UNESP, CP 502, CEP 14801-902, Araraquara, São Paulo, Brazil

CRISTINA NERÍN

Departamento de Química Analítica, C.P.S., Universidad de Zaragoza, Maria de Luna 3, 50015, Zaragoza, Spain

FELIX G.R. REYES

Departamento de Ciência de Alimentos/FEA, UNICAMP, CP 6121, CEP 13081-970, Campinas, São Paulo, Brazil

¹ To whom correspondence should be addressed

ABSTRACT

The migration behaviour of Tinuvin P was investigated by using several fatty-food simulants such as olive oil, soybean oil, n- heptane and isooctane, at exposure conditions of 2 to 10 days at 40 °C (total immersion). The stability of several UV stabilizers (BHT, Cyasorb UV 5411, Tinuvin P, Tinuvin 326 and Tinuvin 327) in n-heptane and isooctane was also studied. Tinuvin P was not stable in the simulants, after 10 days at 40 °C losses of 6 and 10 % in isooctane and n-heptane, were verified respectively. Other UV stabilizers at the same experimental conditions showed higher losses (up to 30 % for Tinuvin 327). This results indicated that when carrying out specific migration studies, the stability of the substance of interest should be established in the food simulant to avoid the underestimation of the real migration behaviour. In order to quantify the UV stabilizer migrated, n- heptane and isooctane solutions were concentrated and directly analyzed by SIM mode GC/MS. For olive and soybean oils, Tinuvin P was isolated by using size-exclusion chromatography and quantified by SIM mode GC/MS. Isooctane showed to be a more suitable fatty-food simulant than n-heptane for the migration study of Tinuvun P from PET. Higher levels of Tinuvin P migrated to olive and soybean oils rather than n-heptane. This result suggest that the recommended official methods for specific migration studies should be revised since the migration levels using n-heptane as fatty-food simulant could be underestimated when compared to edible oils.

Introduction

Polyethyleneterephthalate (PET) polymer, typically applied in film, foil and bottle, is widely used as food packaging. The conditions under which PET is used vary greatly according to time and temperature of use, as well as food type in contact with PET. These conditions strongly affect the probability of migration of components from PET into foods (1).

The potential migrants from PET are initial reactants, including monomers, additives, reaction by-products, polymer degradation products and low molecular weight oligomers (2). Migration of PET components into foods and food simulants have been demonstrated. Kashtock and Breder (3) have reported the migration of ethylene glycol, a reaction by-product, from PET bottles into 3 % acetic acid solution. Ashby (1) has studied the effect of several parameters such as food simulant, temperature, thickness, surface to volume ratio and PET film orientation, in the migration from PET bottles and films. Begley and Hollifield (4) and Castle et al. (5) have described PET oligomers migration from packaging under microwave heating conditions, and Begley and Hollifield (2) have demonstrated the migration of cyclic oligomers from PET microwave susceptor packaging. Studying the migration of additives from PET bottles into mineral water, Buiarelli et al. (6) also found that low molecular weight cyclic dimers migrated into water.

UV stabilizers are used in packaging material for food contact to prevent degradation of food and package. As PET bottles are used in Brazil for vegetable oils and since UV stabilizers are potentially hazardous to human health, it is important to know the migration behaviour of this kind of substances.

Simulants are used in the migration studies to replace food systems due to the difficulties in the analysis of compounds migrated to foods. However, it is important that simulants do

suitably reflect chemical and physical properties of the food and also allow relatively simple analysis for the migrant of interest (7). In particular, fatty-food simulants usually show analytical problems. According to legislations (8-12), the recommended fatty-food simulants are olive and sunflower oils, n-heptane and a trygliceride mixture, HB 307 (13). Many authors (2, 14-17) have reported that migration depends on several parameters, specially the absorption of the simulant by the polymer, and the solubility interactions between the simulant and the migrant.

The aim of this work was to investigate the migration behaviour of Tinuvin P, an UV stabilizer employed in PET bottles, by using different fatty-food simulants. Also, the stability of some UV stabilizers in food simulant was studied under the selected migration conditions.

Experimental

Chemicals and Bottles

2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol (BHT), pure quality, was from Fluka (Buchs, Switzerland) and benzophenone, analytical grade; was from Sigma (St. Louis, MO, USA); 2-(2'-hydroxy-5'-*tert*-octylphenil)benzotriazole (Cyasorb UV 5411), 2-(2'-hydroxy-5-methylphenil)benzotriazole (Tinuvin P), 2-(3'-*tert*-butyl--2'-hydroxy-5'-methylphenyl)-5-chlorobenzotriazole (Tinuvin 326) and 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)-5-chlorobenzotriazole (Tinnuvin 327) were supplied by Ciba Geigy (Basel, Switzerland). None of them was purified prior to analysis. Standard solutions were made up in dichloromethane.

Dichloromethane, HPLC grade, was obtained from Carlo Erba (Milan, Italy) and cyclohexane, trace analysis quality grade, was from Merck (Darmstadt, Germany).

Polyethyleneterephthalate (PET) bottles (with and without stabilizers) were supplied by Engepack (São Paulo, Brazil).

Fatty-Food Simulants

Isooctane, trace analysis quality grade, was from Merck (Darmstadt, Germany) and n-heptane, HPLC grade, was from PANREAC (Barcelona, Spain).

Soybean oil was from Cargill (São Paulo, Brazil) and olive oil was purchased at the retail market in Zaragoza, Spain.

Test Samples and Contact

PET bottles (with and without stabilizers) were cut into pieces of 6 cm² (2 x 3 cm²) of surface area, which weighed 0.2-0.3g each. Each piece was placed in a 20 ml glass vial, 10 ml of simulant was added (total immersion) and the vials were hermetically capped. These vials were stored in an oven thermostatically controlled at 40±1 °C. The olive and soybean oil simulants were kept in the oven for 10 days, and then taken out for analysis. The isooctane and n-heptane simulants were taken out for analysis after 2, 5, 7 and 10 day period. Triplicate samples were analyzed at each time. A blank prepared only with simulant and another with PET without stabilizer, were used as reference, and exposed and analyzed according to the same conditions described.

Sample Treatment and Analysis

Isooctane and n-heptane simulants were concentrated in a rotary evaporator almost dryness, and a benzophenone standard solution (300 ng/g), used as internal standard, was added. These solutions were filtered through PTFE (0.45 µm) filters before injection in the GC/MS system. Olive and soybean oil simulants were passed through a Bio-Beads S-X3 column (200-400 mesh, 400 mm x 20 mm i. d.). The outlet of the chromatographic column

was connected to a UV/VIS Spectrophotometer (Perkin-Elmer, Lambda 3-UV/VIS Spectrophotometer). The absorbance was measured at 280 nm. The oil simulant (0.5 g) was injected (two injections for each sample) in the Bio-Beads S-X3 column and a cyclohexane:dichloromethane (70:30 v/v) solution was used as mobile phase. The flow rate was kept at 2.5 ml/min by a low pressure pump (Kontron Instruments, LC T-414). Fractions containing the UV stabilizer were collected, combined and concentrated in a rotary evaporator almost dryness. A benzophenone standard solution (300 ng/g) was added, and the final solution was filtered (PTFE) and injected in the GC/MS system.

Gas Chromatography/Mass Spectrometry

The GC/MS system consisted of a Hewlett-Packard (Palo Alto, CA, USA) 5890 Series II with a 5971-A Mass Selective Detector. A DB 1701 capillary column of 60 m length x 0,25 mm i.d. x 0,25 μ m film thickness, and a guard column of 2m length x 0,32 mm i. d. were used. The column temperature was held for 2 min at 100 °C then programmed at 10 °C/min to 280 °C and held for 30 min. Helium was the carrier gas at 110 kPa head pressure. Injections (1 μ l) were made at 280 °C. Detection temperature was 280 °C, using SIM mode (18).

Stability Studies

Stability studies were carried out with isooctane and n-heptane. Standard solutions of BHT, Cyasorb UV 5411, Tinuvin P, Tinuvin 326 and Tinuvin 327, prepared in dichlorometane were added to each simulant, so that UV stabilizers concentration in the simulant were known. A 10 ml aliquot of UV stabilizer standard solution in the simulant was placed in a 20 ml glass vial, which was hermetically capped and stored in an oven thermostatically

controlled at 40 ± 1 °C. The UV stabilizers were determined at 0, 2, 5, 7 and 10 days. Triplicate samples were analyzed at each time, and furthermore, a blank containing only the simulant was analyzed at the same conditions used for the samples. After incubation, suitable aliquots of simulants were taken, diluted with dichloromethane and a benzophenone solution was added. These simulant solutions were filtered (PTFE) and injected in the GC/MS system.

Quantitation

Peak areas were measured and the internal standard procedure was used for both calibration and real sample analysis.

Results and Discussion

Fatty-Food Simulants

The aim of this migration study was to compare several simulants: olive oil, soybean oil, n-heptane and isooctane. The reason for choosing soybean oil was because PET bottles with UV stabilizers are utilized in Brazil for this edible oil, the most consumed vegetable oil in this country. Moreover, isooctane was used as an alternative simulant (15, 19).

Sample Treatment and Analysis

When working with volatile solvents such as n-heptane and isooctane, the determination of the UV stabilizers is simple and no laborious efforts are usually necessary. However, the use of oils as simulant required a time consuming clean-up step in order to separate the UV stabilizer from the simulant. The Bio-Beads S-X3 column, connected to a low pressure pump, allowed the separation of the UV stabilizer from the oil in 2 hours. The use of a UV Spectrophotometer easily enabled monitoring the separation and allowed the collecting of the

fractions containing the Tinuvin P (Figure 1). Comparing with some separation and clean-up steps described in the literature (15-16, 20) for the same purpose, our procedure could be considered more simple.

Migration and Stability Results

Tinuvin P has been reported as an UV stabilizer present in PET bottles (18). Consequently, Tinuvin P was the UV stabilizer chosen for the migration studies.

Previous to the migration study, the stability of the Tinuvin P in n-heptane and isooctane was evaluated under the same conditions as the migration study. In addition, other UV stabilizers commercially available (Tinuvin 326, Tinuvin 327, Cyasorb UV 5411) and BHT were also evaluated (Figures 2 and 3). As it can be seen from the figures, the UV stabilizers have a similar stability behaviour. In general, after 10 days the UV stabilizers showed a higher stability in isooctane (losses of 6 to 15 %) rather than in n-heptane (losses of 6 to 30 %). Among the UV stabilizers, Tinuvin P showed good stability in both simulants, with losses of 6 and 10 %, at 10 days, for n-heptane and isooctane, respectively. These results suggest that when conducting specific migration studies, the stability of the substance of interest must always be determined at the same experimental conditions as the migration study. This is reinforced by the fact that UV stabilizer losses are significant after 7 days and, in general, the official recommendation for migration studies is a 10 day period (10, 12, 21-23).

Migration studies were performed using different fatty-food simulants. In order to compare the migration behaviour as a function of the simulant and time, Tinuvin P migration into n-heptane and isooctane was carried out (Figure 4). As it can be noticed, the UV stabilizer migration increased after 7 days in both simulants, although the stability study indicated higher losses of Tinuvin P at this time.

Table 1 shows the results obtained from Tinuvin P migration at 10 days/40 °C. It was verified that the amount of UV stabilizer migrated depended on the simulant used (14, 16-17). However, differently from the results reported for low density polyethylene (14) and polypropylene (9), where migration of additives was higher into n-heptane, our results showed a higher migration for olive and soybean oil rather than n-heptane. The higher Tinuvin P migration into olive and soybean oils could be related to the strong penetration of these simulants in PET, as well as to the high solubility of this UV stabilizer in these oils. It should be noted that n-heptane and isooctane, are very different from fats concerning their polarity, their affinity for polymer, and their molecular mass (17). Even though, oils are classified as organic compounds with low polarity, their carbonyl groups impart a polar character when compared to n-heptane. The high affinity between the UV stabilizer and the olive and soybean oils, could be related to this polar character. These results suggest, in accordance with Leimgruber (9), that the recommended official methods for specific migration studies (11-12, 24), should be revised since the migration levels could be underestimated when using n-heptane as fatty-food simulant. In addition to the lower migration level obtained in n-heptane, when compared to olive and soybean oils, according to the official methodology this value should be divided by a factor of 5. For some additives, underestimated migration results for n-heptane could represent a health hazard to the consumers. Differently from n-heptane, the level of Tinuvin P migrated from PET into isooctane was similar to that found in olive and soybean oils, suggesting the suitability of isooctane as fatty-food simulant when compared with n-heptane. Other authors have recommended isooctane as fatty-food simulant (15, 19, 25).

Conclusions

When carrying out specific migration studies it is necessary to evaluate the stability of the compound of interest, at the same experimental conditions employed for the migration study.

Higher migration levels for Tinuvin P from PET bottles were obtained for soybean and olive oils rather than n-heptane, suggesting that the recommended official methods for specific migration studies should be revised.

Isooctane showed to be a more suitable fatty-food simulant than n-heptane for PET bottles.

Acknowledgement

One of the authors (M. Monteiro) thanks CNPq (Brazil) and Programa Mutis-ICI (Spain) for providing a scholarship. The experimental work has been financed by Project ALI 95-0741.

References

- (1) Ashby, R. (1988) *Food Addit. Contam.*, **5** 485-492.
- (2) Begley, T. H. & Hollifield, H. C. (1990) *Food Addit. Contam.* **7**, 797-803.
- (3) Kashtock, M. & Breder, C. V. (1980) *J. Off. Anal. Chem.* **63**, 168-172.
- (4) Begley, T. H., & Hollifield, H. C. (1990) *J. Agric. Food Chem.* **38**, 145-148.
- (5) Castle, L., Mayo, A., Crews, C. & Gilbert, J. (1989) *J. Food Protec* **52**, 337-342.
- (6) Buiarelli, F., Cartoni, G. & Coccioni, F. (1993) *Annali di Chimica* **83**, 93-104.
- (7) Shepherd, M. J. (1982) *Food Chem.* **8**: 129-145.

- (8) Katan, L.L. (1984) *Food Packaging Legislation*. Oxford, Elsevier International Bulletins, 168p.
- (9) Leimgruber, R. (1993) in *Plastic Additives Handbook*, Gachter and Muller (Eds), Hansen, New York, pp. 877-908.
- (10) FDA (1992) HHS, 21 CFR. ch. 1, 4/1/92 Edition, paragraphs 176.170 and 178.2010
- (11) CEC (1985) European Community Council Directive No. 85/572/EEC. *Off. J. Eur. Comm.* **I,372/14**, 31 December.
- (12) MERCOSUL, GMC/Res. nº 36/92 and 95/94, 1995.
- (13) Figge, K. (1980) *Progr. Polym. Sci.*, Pergamon Press Ltd., v. 6, pp 187-252.
- (14) Scott, G. (1988) *Food Addit. Contam.* **5**, suppl. 1, 421-432.
- (15) De Kruijf, N. & Rijk, M. A. H. (1988) *Food Addit. Contam.* **5**, (Suppl. No. 1), 467-483.
- (16) Cooper, Y. & Tice, P. A. (1995) *Food Addit. Contam.* **12**, 235-244.
- (17) Feigenbaum, A. E., Ducruet, V. J., Depal, S. & Wolff, N. (1991) *J. Agric. Food Chem.* **39**, 1927-1932.
- (18) Monteiro, M., Nerin, C., Rubio, C. and Reyes, F. G. R. (1997) *J. High Res.Chromat.* (in press).
- (19) Freire, M. T. A. & Reyes, F. G. R. (1993) *Polimeros: Ciência e Tecnologia jul-set*, 21-24.
- (20) Begley, T. H. & Hollifield, H. C. (1990) *J. Food Protect.* **53**, 1062-1066.
- (21) CEC (1982) European Community Council Directive No. 82/711/EEC *Off. J. Eur. Comm.* **I,297/26**, 23 October.
- (22) CEC (1990) European Community Council Directive No. 90/128/EEC. *Off. J.Eur.Comm.* **L75/19**, 23 February.

- (23) CEC (1992), European Community Council Directive No. 92/39/EEC. *Off. J. Eur. Comm.* **L168/21**, 23 June.
- (24) BRASIL.(1996) Leis , decretos, etc. Portaria nº 26 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Diário Oficial da União, 25 de março. 1996. Seção I, p. 4936 a 4948.
- (25) De Kruijf, N., Rijk, M. A. H., Soetardhi, L. A. & Rossi, L. (1983) *Food Chem. Toxic.* **21**, 187-191.

Table 1. Migration level of TINUVIN P from PET bottles into fatty-food simulants (10 dias/40°C).

SIMULANTS				
	N-HEPTANE	ISOOCTANE	SOYBEAN OIL	OLIVE OIL
TINUVIN P ^a (µg/dm ²)	0.23	1.7	3.1	2.6
SD ^b	0.04	0.2	0.2	0.6

^a mean value for 3 replicates

^b absolute standard deviation (n=3)

FIGURE CAPTIONS

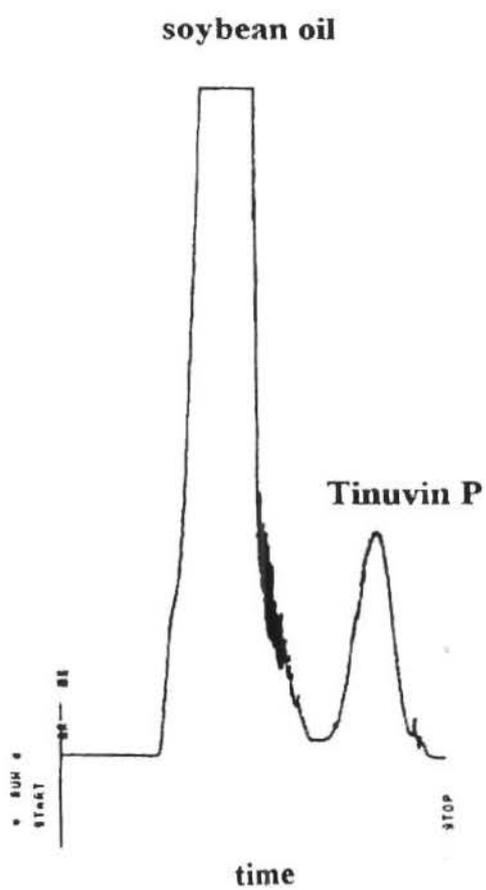
Figure 1. Typical chromatogram obtained for the separation of Tinuvin P from soybean oil by size-exclusion chromatography.

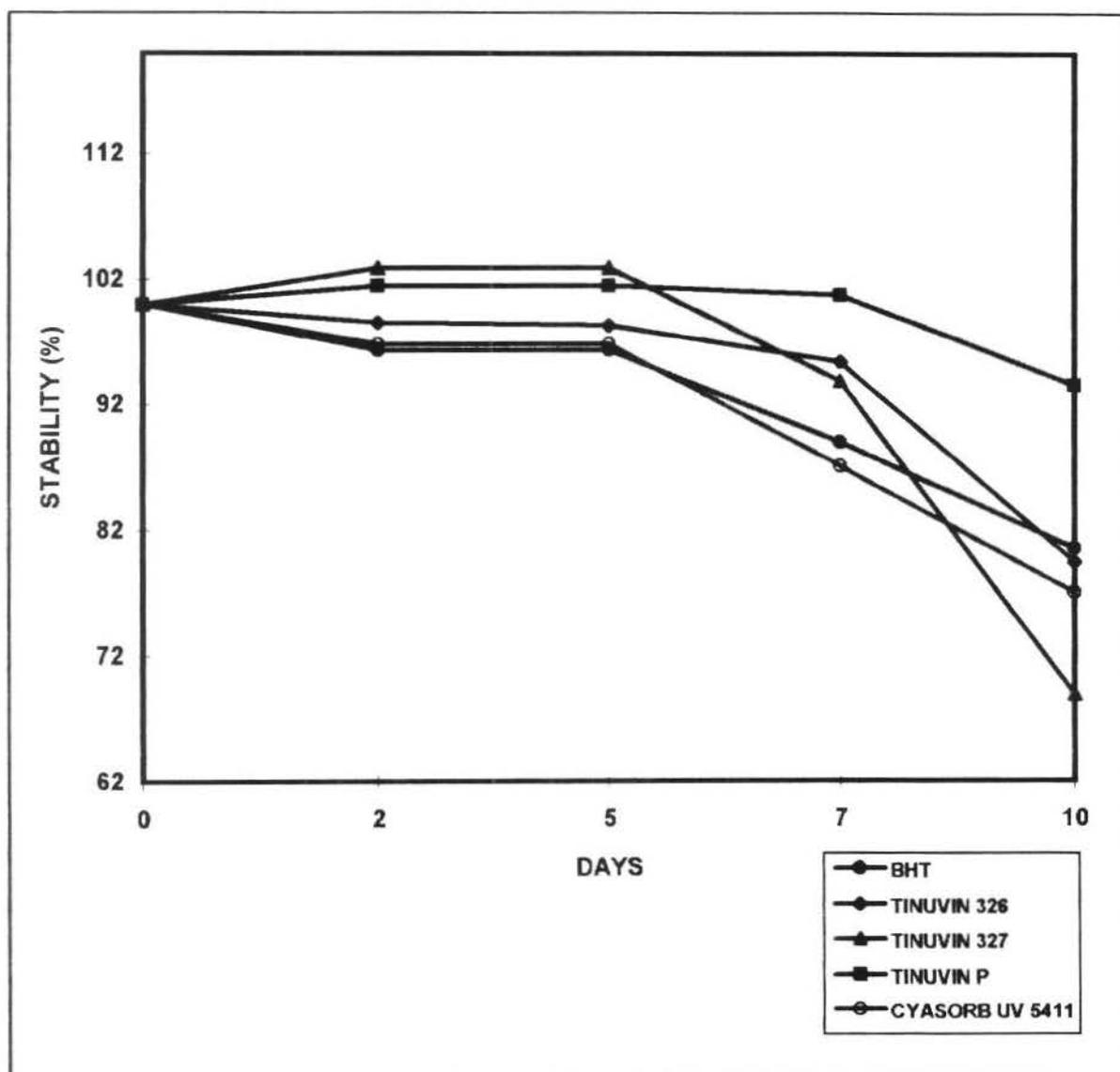
Conditions: Bio-Beads S-X3 column (200-400 mesh, 400 mm x 20 mm i. d.), flow rate: 2,5 ml/min, mobile phase: cyclohexane:dichlorometane (70:30 v/v). Detection: Perkin-Elmer Spectrophotometer, Lambda 3-UV/VIS, at 280 nm.

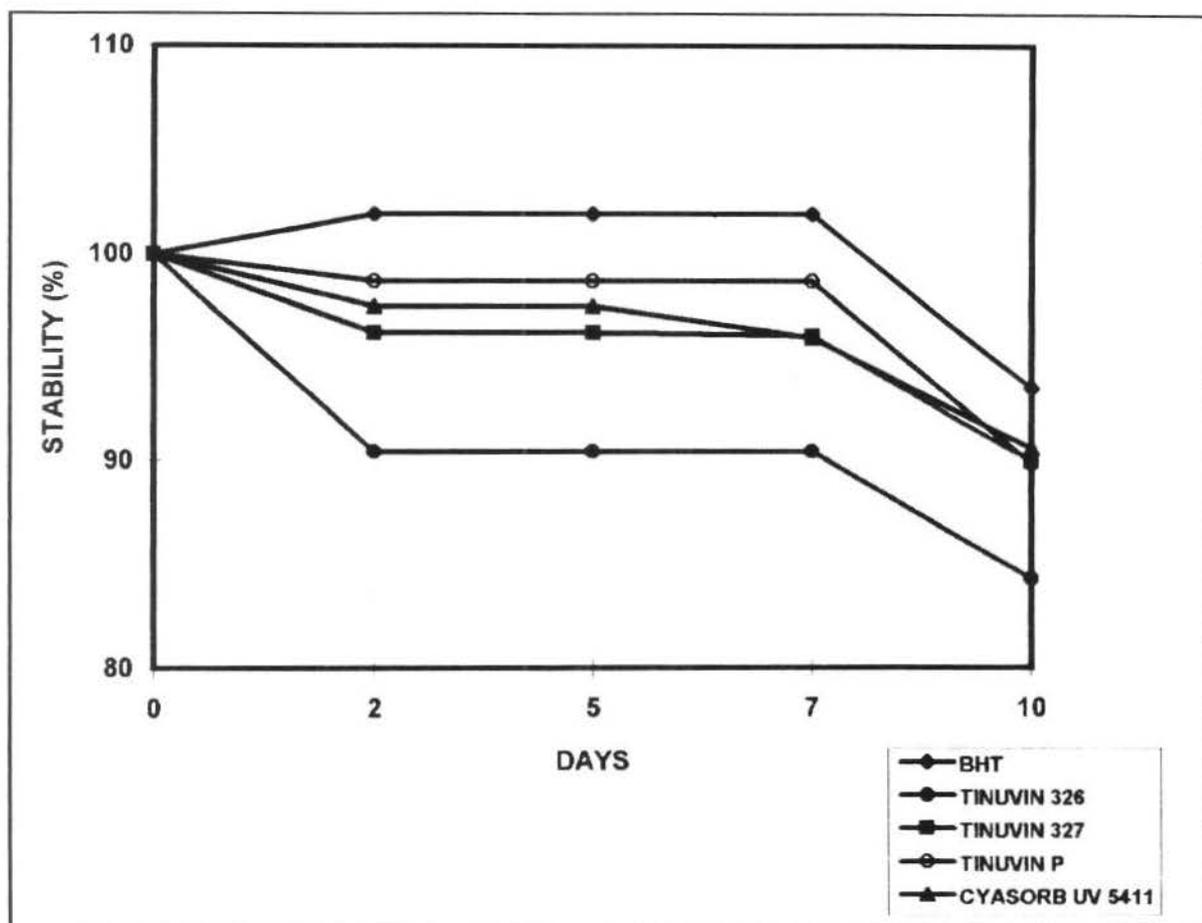
Figure 2. Stability behaviour of UV stabilizers in n-heptane.

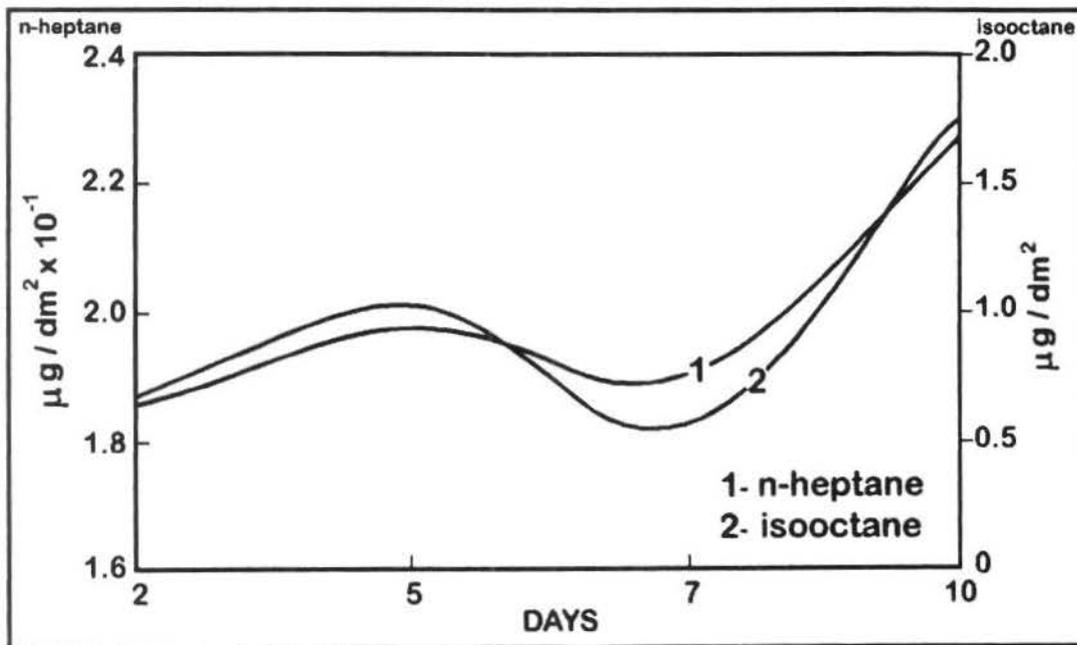
Figure 3. Stability behaviour of UV stabilizers in isooctane.

Figure 4. Tinuvin P migration behaviour into n-heptane and into isooctane.









CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

O conjunto de resultados obtidos indica que:

- 1- A metodologia desenvolvida utilizando Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV para a determinação de absorvedores de radiação UV (Tinuvin P, Tinuvin 327, Cyasorb UV 5411, BHT e Irgafos 168) em garrafas de PET foi efetiva. O limite de detecção para a maioria dos compostos estudados foi da ordem de 0,1 µg/g, tendo sido obtida alta reprodutibilidade (C.V. ≤ 3 %) e exatidão, assim como recuperação na faixa de 69,3 a 113, 7 %. O método apresentou, ainda, a vantagem da separação e quantificação de todos os absorvedores de radiação UV em uma única análise.
- 2- A metodologia desenvolvida utilizando CG/EM para a determinação de absorvedores de radiação UV destacou-se pela alta sensibilidade, reprodutibilidade (C.V. ≤ 5,5 %) e exatidão, além do enorme potencial para a identificação de outras substâncias presentes nas garrafas de PET. Os limites de detecção obtidos por CG/EM foram da ordem de 20 pg para Tinuvin P, Tinuvin 326, Tinuvin 327 e Cyasorb UV 5411, de 0,05 pg para BHT e de 260 e 2225 pg para Chimassorb 81 e Cyasorb UV 24, respectivamente. O uso do modo SIM (monitoração de íons selecionados) permitiu eliminar os interferentes aumentando, assim, a especificidade da análise.
- 3- Tinuvin P foi quantificado nas garrafas de PET por Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV e por CG/EM. Os valores médios desse absorvedor de radiação UV, em 18 determinações realizadas em diferentes partes da garrafa (gargalo, corpo e fundo), foram de 12,3 e 13,1 mg Tinuvin P/100 g PET, por

Cromatografia de Exclusão-CLAE/UV e por CG/EM, respectivamente. As duas metodologias não diferiram significativamente entre si ($P < 0,05$).

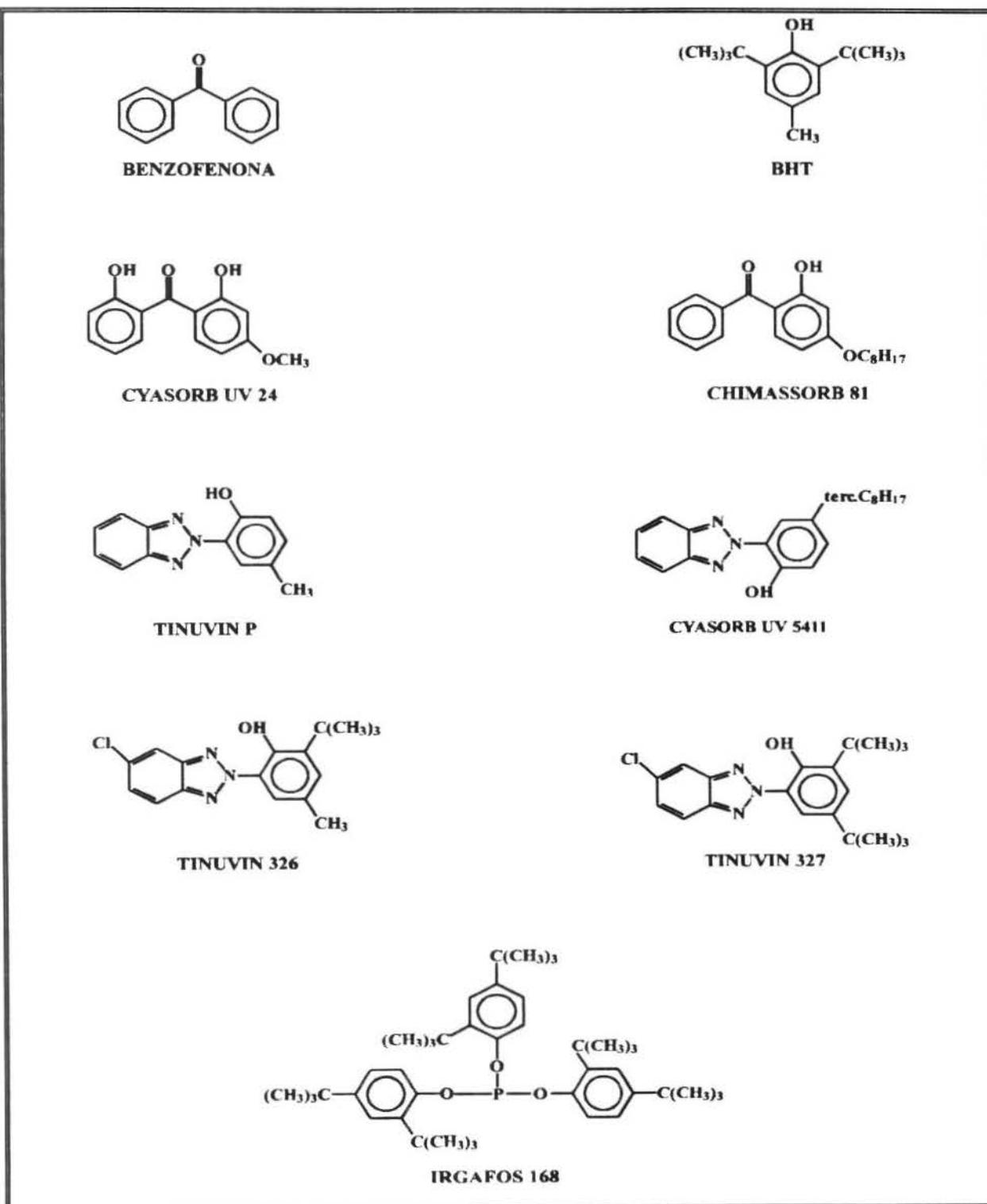
- 4- O nível de Tinuvin P determinado nas garrafas de PET analisadas (n=7) está de acordo com aquele estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 1996) para absorvedores de radiação UV em embalagens plásticas destinadas ao contato com alimentos.
- 5- O estudo da estabilidade dos absorvedores de radiação UV nos simulantes de alimentos (n-heptano e isoctano) indicou uma degradação de até 30 %, nas condições experimentais estabelecidas (até 10 dias, 40 °C), dependendo do absorvedor de radiação UV. Essas perdas devem ser levadas em consideração nos estudos de migração específica.
- 6- Maiores quantidades de Tinuvin P migraram para os óleos de soja e de oliva do que para o simulante n-heptano. Esses resultados indicam a necessidade de revisar a metodologia oficial recomendada para o estabelecimento de níveis de substâncias que migram da embalagem para o alimento, utilizando-se solventes orgânicos como simulantes.
- 7- O isoctano demonstrou ser um simulante gorduroso mais adequado que o n-heptano, para o estudo de migração específica de Tinuvin P presente no PET.
- 8- Para o monitoramento dos níveis de absorvedores de radiação UV em garrafas de PET a metodologia desenvolvida utilizando a Cromatografia por Exclusão-

CLAE/UV é recomendada por apresentar sensibilidade adequada, maior simplicidade e menor custo de análise do que a CG/EM. Para a realização de estudos de migração, recomenda-se, no entanto, o emprego da metodologia utilizando CG/EM devido à alta sensibilidade e especificidade, requerida nesse tipo de estudo.

ANEXOS

ANEXO 1

Estrutura química dos absorvedores de radiação UV estudados no presente trabalho de tese.



ANEXO 2

DETERMINATION OF UV STABILIZERS IN PET BOTTLES BY HIGH PERFORMANCE-SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY

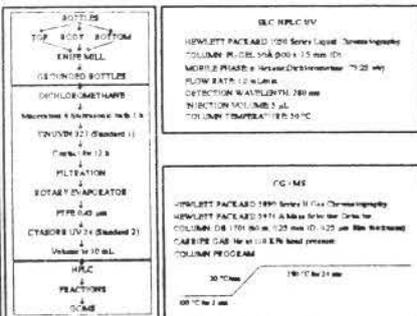
M. MONTEIRO*, C. NERIN**, F. G. R. REYES***

* Dpto. de Alimentos e Nutrição/FCF, UNESP, CP 502, CEP 14800-902, Araraquara, SP, Brasil. ** Dpto. de Química Analítica, CPS, Universidad de Zaragoza, María de Luna, 3, Zaragoza, 50015, España. *** Dpto. de Ciencias de Alimentos/FEA, UNICAMP, CP 6121, CEP 13081-970, Campinas, SP, Brasil.

INTRODUCTION

The UV stabilizers are used in packaging materials for food contact to prevent degradation of both the food and package. PET bottles are used in Brazil for soybean and sunflower oils. As these UV stabilizers can migrate to the oil, it is important to have a good analytical procedure to control their concentration in oil.

A SEC-HPLC method to determine antioxidants and UV stabilizers in PET bottles has been developed. In only a single run a synthetic mixture of the stabilizers was separated and quantified. Detection limits obtained for BHT, TINUVIN 326, CYASORB UV 5411, and TINUVIN P were about 0.1 µg/g and for IRGAFOS 168 was 1.0 µg/g. RSD values were lower than 3%. TINUVIN P was identified and quantified in PET bottle extracts. Olive oil, soybean oil and sunflower oil showed well defined separation from TINUVIN P at the same conditions of analysis. Cyclic dimers were identified in the PET extracts.



RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows a typical chromatogram of the antioxidants and UV stabilizers calibration curve at 20 µg/g. The results of the optimum method are shown in Table 1. The results indicate that direct determination of the stabilizers in the plastic is feasible.

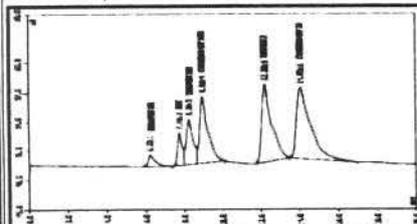


Figure 1 Chromatogram obtained from the calibration curve of the UV stabilizers (concentration: 20µg/g stabilizer) by SEC-HPLC.

Only three peaks appeared in the chromatogram corresponding to the extract of PET bottle. One of them was identified as TINUVIN P. Figure 2 shows a chromatogram overlay plot from the extracts of the PET bottles

TABLE 1 Analytical Characteristics Determination of UV Stabilizers and Antioxidants in These Packaging Materials

UV STABILIZER	RETENTION TIME (min)	DETECTION LIMIT (µg/g)	REPROD. (RSD)	LINEAR RANGE (µg/g)	ACCURACY*
BHT	7.76 ± 0.02	0.1	3.02%	0.1 - 70.0	20.40 ± 0.62 (19.96)
IRGAFOS 168	6.72 ± 0.02	1.0	2.40%	0.1 - 50.0	18.21 ± 0.44 (19.96)
CYASORB UV 541	9.00 ± 0.06	0.1	1.79%	0.2 - 100.0	18.54 ± 0.25 (19.99)
TINUVIN P	13.27 ± 0.08	0.1	1.78%	0.4 - 100.0	19.89 ± 0.25 (19.91)
TINUVIN 27	4.28 ± 0.06	0.1	2.48%	0.2 - 100.0	20.31 ± 0.50 (20.03)

* Mean value ± standard deviation and relative error (%).

RSD: Relative standard deviation, n = 10. UV stabilizer amount: 20 µg/g. n = 10, total extract amount: 20% (v/v) value made per bottle.

with and without (PET blank) stabilizer in comparison with a TINUVIN P standard plot.

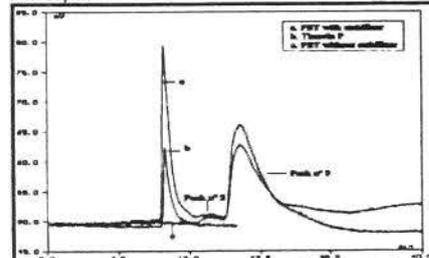
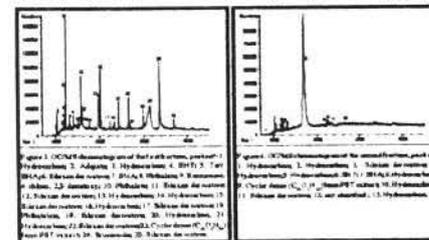


Figure 2 Chromatogram overlay plot obtained by SEC-HPLC for the identification of TINUVIN P from the PET bottles extracts.

Two more peaks appear in the chromatogram of both PET extracts. To identify them, fractions corresponding to the retention time of these peaks (Figure 2, peaks n° 3 and 4) were collected from SEC-HPLC system and identified by GC/MS (Figures 3 and 4). Silicon compounds and hydrocarbons, plasticizers such as adipates and phthalates, BHA and BHT were found in both collected fractions. Also, a compound namely ERUCAMIDE ($CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CONH_2$) was identified in the first fraction (peak n° 24). Another peak found in the first fraction (Figure 3, peak n° 23) and a peak from the second fraction (Figure 4, peak n° 9), can be compared with those obtained by Biarelli et al. 1993.

According to these authors the peak n° 9 from second fraction could be attributed to a cyclic dimer ($C_{20}O_4H_{36}$) and the peak n° 23 from the first fraction, to the same dimer with an extra ethylene glycol unit ($C_{22}O_4H_{38}$).



As TINUVIN P has a small molecular size, it is expected that it could be transferred to the food in contact with PET bottles. Olive oil, soybean oil and sunflower oil can be in direct contact with the polymer.

Figure 5 shows the chromatogram obtained when a solution of TINUVIN P in soybean oil, in olive oil and in sunflower oil was analyzed by the SEC-HPLC system. The separation between the oil and the UV stabilizer is good enough for the quantitative analysis.

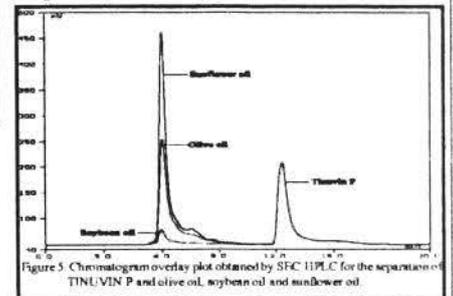


Figure 5 Chromatogram overlay plot obtained by SEC-HPLC for the separation of TINUVIN P and olive oil, soybean oil and sunflower oil.

By using an internal standard (CYASORB UV 24) and UV detection the amount of TINUVIN P in PET bottles was determined. TINUVIN 327 was also used, as first internal standard. Figure 6 shows a typical chromatogram obtained for the quantification of TINUVIN P from PET bottles.

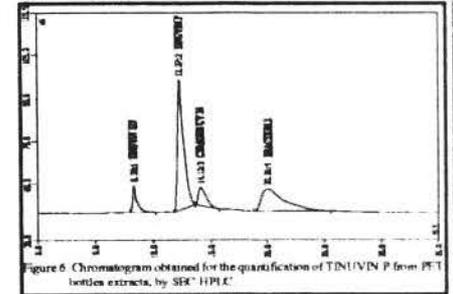


Table 2 shows the amount of TINUVIN P in PET bottles. Results from the recovery studies are in Table 3.

TABLE 2 TINUVIN P (µg/100g) per extract in PET bottles

TINUVIN P	PET			WEIGHT OF RECOVERY: 80%		
	TOP	BODY	BOTTOM	IRGAFOS 168	BHT	
TINUVIN P	0.0120	0.0122	0.0124	82.87	5.04	
BD	9.04	2.45	1.10	174.20	1.96	
END (n)	10.13	5.00	1.22	115.09	4.34	
				TINUVIN P	78.87	4.83
				CYASORB UV 541	89.30	5.32

n = 3, standard error = 0.05%.

RSD: Relative standard deviation, n = 3.

CONCLUSIONS

The feasibility of the SEC-HPLC analysis for the UV stabilizer determination is pointed out by the advantage of the separation and quantification in only one run. There is no further handling. On the other hand, SEC-HPLC analysis allows the separation of the UV stabilizer from both PET and oil at the same analytical conditions. It has also been demonstrated the effectiveness of this method to quantify TINUVIN P in PET bottles.

Trabalho apresentado na "7^{as} Jornadas de Análisis Instrumental", realizada em Madrid/Espanha, de 3 a 6 de abril de 1995.



CERTIFICADO
DE ASISTENCIA

MAGALI C. MONTEIRO DA SILVA TOLEDO

ha participado en las 7^{as} Jornadas de Análisis Instrumental "JAI"
celebradas en el centro de Convenciones del Parque Ferial
Juan Carlos I de Madrid, del 3 al 6 de abril de 1995,
en el marco de EXPOANALITICA+ BIOCIENCIA.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. Dabrio', written in a cursive style.

Prof. Dr. Manuel V. Dabrio
Presidente del Comité Organizador

5

DETERMINATION OF UV STABILIZERS IN PET BOTTLES
BY GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

M. Monteiro, C. Nerín¹, F. G. R. Reyes², C. Rubio¹ and A. Tornés¹

Departamento de Alimentos e Nutrição/FCF, UNESP, CP 502, CEP 14800-902, Araraquara, SP, Brazil

¹Departamento de Química Analítica/CPSI, Universidad de Zaragoza, Maria de Luna, 3, Zaragoza, 50015, Spain

²Departamento de Ciencia de Alimentos/FEA, UNICAMP, CP 6121, CEP 13081-970, Campinas, SP, Brazil

Plastic bottles and films are widely used as food packaging. Most of the plastic packaging has small amounts of additives used to provide functional characteristics like stability and plasticity. These trace substances include antioxidants, stabilizers and plasticizers, that have low molecular weight, are physically dispersed into the polymer matrix and have a potential to migrate into foods. Furthermore, monomeric and oligomeric constituents also are usually present in the polymeric matrix.

The UV stabilizers are used in packaging material for food contact to prevent degradation of both the food and package. PET bottles are used in Brazil for soybean and sunflower oil. As these UV stabilizers can migrate to the oil, it is important to have a good analytical procedure to know their concentration in the oil as well as in the package.

A GC-MS method to determine UV stabilizers in PET bottles has been developed. The whole procedure involves the extraction of UV stabilizers, the clean-up of the organic extract and the analysis by GC-MS in SIM mode. Detection limits obtained for TINUVIN 326, TINUVIN 327, TINUVIN P and CYASORB UV 5411 were about 25 ng/g, and for BHT, CHIMASORB 81 and CYASORB UV 24, about 0.06, 300 and 3000 ng/g, respectively. RSD values were lower than 5%. TINUVIN P was identified and quantified in PET bottle extracts. A content of 0.01 % of TINUVIN P was found in both the body, bottom and top of the PET bottle. The method was also applied to the migration study of TINUVIN P into several food simulants at different contact time. Also, the stability behaviour of the UV stabilizers in these migration conditions has been studied.

Trabalho apresentado no International Symposium on Applied Mass Spectrometry in the Health Science/European Tandem Mass Spectrometry Conference, realizado em Barcelona/Espanha, de 9 a 13 de julho de 1995.



INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON
APPLIED MASS SPECTROMETRY
IN THE HEALTH SCIENCES
EUROPEAN TANDEM MASS
SPECTROMETRY CONFERENCE



BARCELONA, JULY 9-13, 1995

This certifies that

Magali C. Monteiro da Silva

has attended and presented a poster entitled "**Determination of UV stabilizers in pet bottles by gas chromatography-mass spectrometry**" at the 3rd International Symposium on Applied Mass Spectrometry in the Health Sciences and 3rd European Tandem Mass Spectrometry Conference that has been held in Barcelona, from July 9 to July 13, 1995.

Prof. E. Gelpi
Chairman

034

MIGRATION BEHAVIOUR OF UV STABILIZERS PRESENT IN PET BOTTLES. MONTEIRO¹, Magali; NERÍN², Cristina; REYES³, Félix G. R.; RUBIO², Carlos. ¹Depto de Alimentos e Nutrição - FCF - UNESP - C.P. 502 - CEP 14801-902 - Araraquara - SP - Brasil. ²Depto de Química Analítica - CPS - Universidade de Zaragoza. Maria de Luna, 3. 50015 - Zaragoza - España. ³Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, C.P. 6121 - CEP 13081-970 - Campinas - SP - Brasil.

UV stabilizers are used in packaging material for food to prevent degradation of both, the food and the package. These low molecular weight substances are physically dispersed in the polymer matrix and have a potential to migrate into foods. As PET bottles are used in Brazil for soybean and corn oils and since UV stabilizers are potentially hazardous to human health, it is important to know the migration behaviour of this kind of substances. Olive oil, soybean oil, n- heptane and isooctane were used to simulate fatty foods in the migration studies. An area of 6 cm² of PET bottles (doble side) were placed in contact with the simulants during a period of 2 to 10 days at 40° C. The n- heptane and isooctane solutions were evaporated and analysed by GC/MS, in SIM mode, using Benzophenone as internal standard. Olive oil and soybean oils were passed through a Bio-Beads column to separate the oil from the UV stabilizer, which was also quantified by GC/MS. Furthermore, the stability behaviour of several UV stabilizers in these experimental conditions was studied. The results indicated that the migration of UV stabilizer increased with time in all the simulants, showing higher migration levels at 10 days, and that the UV stabilizers have higher stability in all the simulants used in this study.

17

Trabalho apresentado no Simpósio Latino Americano de Ciência e Tecnologia de Alimentos/Avanços e Perspectivas, realizado em Campinas/SP, de 13 a 16 de novembro de 1996.



SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS
AVANÇOS E PERSPECTIVAS
13 a 16 de Novembro de 1995



CERTIFICADO

Certificamos que **MAGALI C. M. DA SILVA T. MACHADO** participou do SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS - AVANÇOS E PERSPECTIVAS, realizado de 13 a 16 de Novembro de 1995, no Centro de Convenções da UNICAMP com a apresentação do trabalho "Migration behaviour of UV stabilizers from PET bottles". MONTEIRO, Magali; NERIN, Cristina; REYES, Felix G.R.; RUBIO, Carlos.

Campinas, 16 de Novembro de 1995

Dra. Gláucia Maria Pastore
Presidente da Comissão Organizadora

Dr. José Luiz Pereira
Diretor - FEA-UNICAMP



ANEXO 3**COMPARAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE ABSORVEDORES DE RADIAÇÃO UV EM GARRAFAS DE PET.**

MONTEIRO¹, M.; REYES², F. G. R. & NERÍN³, C. ¹Depto de Alimentos e Nutrição - FCF - UNESP - C.P. 502 - CEP 14801-902 - Araraquara - SP - Brasil. ²Depto de Ciências de Alimentos - FEA - UNICAMP - C.P. 6121 - CEP 13081-970 - Campinas - SP - Brasil. ³Depto de Química Analítica - CPS - Universidad de Zaragoza. María de Luna, 3 - 50015 - Zaragoza - España.

Foram comparadas duas metodologias analíticas, uma utilizando a Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV e outra a CG/EM, para a determinação de Tinuvin P, aditivo utilizado como absorvedor de radiação UV em garrafas de polietilenotereftalato (PET). Tinuvin P foi identificado e quantificado em diferentes segmentos da garrafa (gargalo, corpo e fundo), onde valores médios de 12,3 (DPR 0,72; n=9) e 13,1 (DPR 1,49; n=9) mg Tinuvin P/100 g PET foram determinados por Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV e por CG/EM, respectivamente. Foi verificado não existir diferença significativa ($P < 0,05$) entre as médias dos valores de Tinuvin P obtidas para os diferentes segmentos da garrafa, assim como, entre os níveis de Tinuvin P obtidos pelos dois métodos cromatográficos de análise. O limite de detecção foi de 0,1 µg/g e 25 ng/g para a Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV e CG/EM, respectivamente. Para o monitoramento dos níveis de Tinuvin P em garrafas de PET, a metodologia desenvolvida utilizando a Cromatografia por Exclusão-CLAE/UV é recomendada por apresentar sensibilidade satisfatória, maior simplicidade e menor custo de análise em relação à CG/EM. A metodologia utilizando a CG/EM destacou-se pela alta sensibilidade, além do enorme potencial para a identificação de outras substâncias presentes nas garrafas.

Trabalho a ser apresentado no Simpósio Latino Americano de Ciência e
Tecnologia de Alimentos, em 1997