

UFRRJ

INSTITUTO DE TECNOLOGIA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

TESE

**Determinação de Contaminantes em Bebidas Não-Alcoólicas
Acondicionadas em Garrafas PET Pós-Consumo Recicladas
(PET - PCR)**

Luciana Lopes de Souza Soares

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EM BEBIDAS NÃO-
ALCOÓLICAS ACONDICIONADAS EM GARRAFAS PET PÓS-
CONSUMO RECICLADAS (PET-PCR)**

LUCIANA LOPES DE SOUZA SOARES

Sob a Orientação da Professora

Shirley de Mello Pereira Abrantes

e Co-Orientação do Professor

Marcos Lopes Dias

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências e Tecnologia dos Alimentos**, Área de Concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ
Julho de 2010

663.6

S676d

T

Soares, Luciana Lopes de Souza, 1977-
Determinação de contaminantes em bebidas
não-alcoólicas acondicionadas em garrafas
pet pós-consumo recicladas (PET-PCR) /
Luciana Lopes de Souza Soares - 2011.
100 f.: il.

Orientador: Shirley de Mello Pereira
Abrantes.

Tese (doutorado) - Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos.

Bibliografia: f. 89-100.

1. Bebidas não alcoólicas - Contaminação
- Teses. 2. Bebidas não alcoólicas -
Embalagens - Contaminação - Teses. 3.
Garrafas pet - Contaminação - Teses. 4.
Garrafas pet - Reaproveitamento - Teses. I.
Abrantes, Shirley de Mello Pereira, 1953-
II. Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência
e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

LUCIANA LOPES DE SOUZA SOARES

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

TESE APROVADA EM ____/____/____

Dr.^a. Shirley de Mello Pereira Abrantes. INCQS-FIOCRUZ
(Orientadora)

Dr.^a. Christine Rabello Nascimento. CETEM

Dr.^a. Cristiane Hess de Azevedo-Meleiro. UFRRJ

Dr.^a. Helena Zamith. INCQS-FIOCRUZ

Dr. Marco Antonio Mota da Silva. UEZO

DEDICATÓRIA

Agradeço a Deus, meu Pai, por ter me dado força, paciência, inspiração e persistência na realização desta pesquisa. Agradeço à Mãe Santíssima, por me iluminar e interceder por mim.

Dedico este trabalho a todos os meus familiares e amigos, que torcem por mim, e em especial ao meu amado esposo, André Almeida Soares, pelo companheirismo, pelo estímulo a concluir esta etapa, e por mesmo distante se fez tão perto durante todos estes meses; e aos meus pais muito queridos Nelson e Léa, pelo apoio incondicional, de todas as horas, e pelo carinho e cuidado ao nosso cachorrinho Toby durante nossa ausência.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

*À orientadora **Professora Dra. Shirley de Mello Pereira Abrantes** por ter me confiado a realização desta pesquisa. Agradeço a atenção, paciência, dedicação, compreensão e conhecimentos fundamentais para meu crescimento profissional e científico.*

*Ao co-orientador **Professor e Dr. Marcos Lopes Dias**, por se mostrar sempre paciente, atencioso. Transmite realmente grande satisfação e dedicação pelo que faz. Obrigada pela grande contribuição a esta pesquisa.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos.

À Coordenação e Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da FIOCRUZ, onde foi realizada toda a parte prática deste trabalho.

A todos os componentes da banca, que prontamente aceitaram o meu convite.

Agradeço a todos que colaboraram nesta pesquisa, em especial:

À Dra. Marisa Padula, pesquisadora do CETEA, no ITAL, e Mary Angela, do mesmo laboratório, pela importante contribuição que deram logo no início desta pesquisa.

Ao Jean Marcelo Silva da CPR, ao Henrique Dufrayer, da Manufatura Produtos King, e ao Sr. Idmauro da fábrica New PET, que com boa vontade e atenção doaram as garrafas PET recicladas para que esta pesquisa acontecesse.

À Claudete Norie Kunigami, do INT, agradeço imensamente por ter aberto as portas do seu laboratório, e favorecido à elucidação de questões fundamentais nesta pesquisa. Agradeço também ao Marcos Gaertner Brasil, do mesmo laboratório, pelo excelente trabalho realizado.

Ao pesquisador Dr. André Mazei, do INCQS-Fiocruz, pela grande colaboração, sempre disposto a ajudar.

À pesquisadora Dra. Helena Zamith, do INCQS-Fiocruz, por sua atenciosa contribuição no final deste trabalho, esclarecendo questões sobre toxicologia.

À Lucimar, pela amizade e por todo auxílio acadêmico.

À equipe do laboratório de contaminantes do INCQS: Fabio Silvestre Bazilio, Marcus Vinicius Justo Bomfim e Rodrigo Almeida, por todo auxílio dado nas atividades práticas desta pesquisa.

À Ângela do laboratório, por toda atenção e ajuda no laboratório 119.

À Janete Duarte, do INCQS, sempre com um sorriso no rosto, e disposta a ajudar.

À Sonia Campos e Claudia Magalhães, do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia, pela compreensão e mudanças na minha escala de trabalho, para que eu pudesse me dedicar mais a essa pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente participaram e participam da história da minha vida.

RESUMO

SOARES, Luciana Lopes de Souza. **Determinação de contaminantes em bebidas não-alcoólicas acondicionadas em garrafas PET Pós-Consumo Recicladas (PET-PCR)**. 2011. 100p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

A produção de garrafas PET [poli(tereftalato de etileno)] cresce progressivamente, e para evitar danos ao meio ambiente, uma solução é a reciclagem, gerando o PET pós-consumo reciclado (PET-PCR) grau alimentício. Da embalagem pode haver migração para o alimento, representando um risco à saúde do consumidor. O presente estudo visou determinar os possíveis contaminantes presentes no PET-PCR, avaliar se há migração para bebidas não-alcoólicas e propor metodologias que atendam a esses objetivos. As amostras usadas foram garrafas, cortadas em flocos, feitas de resina de PET 100% reciclada. Na metodologia, utilizando cromatografia gasosa, com coluna DB-624, e amostragem por *headspace*, com detector por ionização em chama, foram identificados no PET-PCR acetaldeído (principal contaminante de relevância toxicológica), etanol, 2-butenal, butanal, ácido linoléico e ácido oleico. Para confirmação desses resultados foi usado cromatógrafo a gás com *headspace*, e detector por espectrometria de massa. Para os testes de migração do acetaldeído para bebidas não-alcoólicas, foi utilizado o ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA), como agente de derivatização para compostos carbonílicos, em dois simulantes: água destilada, correspondendo à água mineral, e ácido acético, correspondendo a sucos e refrigerantes. Em seguida foi realizada análise por espectrofotometria, onde a concentração do derivado formado foi medida no comprimento de onda de 290 nm. Nos testes de migração simularam-se três condições de temperatura e tempo: 40°C por 10 dias, simulando armazenamento em estabelecimento comercial; 60°C por 4h, simulando condições de transporte para distribuidores de bebidas; e 60°C por 10 dias, representando condições extremas. A migração de acetaldeído para o simulante água apresentou faixa linear de 4,437-10,358 mg/L e limites de detecção e quantificação de 0,718 mg/L e 2,10 mg/, respectivamente. Para o simulante ácido acético, a faixa linear foi de 3,150-9,412 mg/L, e limites de detecção e quantificação 0,093 mg/L e 0,279 mg/L, respectivamente. O acetaldeído tem elevado potencial mutagênico e carcinogênico, e por isso sua produção na elaboração de garrafas PET-PCR deve ser prevenida e monitorada. Existe, portanto, necessidade de constante fiscalização de garrafas PET-PCR e de bebidas não-alcoólicas armazenadas nestas garrafas, a fim de proporcionar maior segurança alimentar aos consumidores.

Palavras-chave: PET-PCR, bebidas não-alcoólicas, acetaldeído

ABSTRACT

SOARES, Luciana Lopes de Souza. **Determination of contaminants to not-alcoholic drinks packaged in post consumer recycle PET bottles.** 2011. 100p. Thesis (Doctorate in Food Science and Technology). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

The production of bottles PET (polyethylene terephthalate) for the preservation of foods grows gradually, and to prevent damages to the environment, a solution is the recycling, generating the post consumer recycle food-grade PET (PCR PET). From the bottles can have migration of contaminants to the food or drink. The present study intended to determine possible contaminants in PCR PET, to evaluate if there is migration to the not-alcoholic drinks and to propose methodologies that take care of these objectives. Bottles were used as samples, cut in flakes, made of 100% recycled resin PET. In the methodology, using gas chromatography, with column DB-624, and sampling for headspace, with detector for ionization in flame, had been identified contaminants in the PET, being acetaldehyde the main contaminant of found toxicological relevance. The other identified components had been ethanol, 2-butenal, butanal, derivatives of acetaldehyde, and linoleic acid and oleic acid. For confirmation it was used gas chromatography with headspace, and detector for mass spectrometry. For the tests of migration of acetaldehyde for not-alcoholic drinks, the acid 4-hidrazinobenzoic was used (HBA) as agent of derivatization for carbonilic compounds in two simulants: distilled water, corresponding to the water mineral, and acetic acid, corresponding to cooling juices and refrigerants. After that, analysis for spectrophotometry was carried through, where the concentration of the formed derivative was measured in the wave length of 290 nm. In the migration tests three conditions of temperature and time had been simulated: 40°C per 10 days, simulating storage in the commercial establishment; 60°C for 4h, simulating the conditions of transport for drink deliverers; and 60°C per 10 days, representing extreme conditions. These methods of determination of the acetaldehyde migration had presented for the water simulation agent linear band from 4,44 to 10,36 mg/L and limits of detection and quantification 0,718 mg/L and 2,10 mg/L respectively. For the acetic acid simulation agent, the linear band was of 3,15 – 9,41 mg/L, and limits of detection and quantification 0,093 mg/L and 0,279 mg/L, respectively. The acetaldehyde has raised potential mutagenic and carcinogenic, then its production in the manufacture of bottles PCR PET must be prevented and be monitored. There is, therefore, necessity of constant fiscalization of bottles PCR PET and stored not-alcoholic drinks in these bottles, in order to provide greater alimentary security to the consumers.

Keywords: PCR PET, not-alcoholic drinks, acetaldehyde

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos alimentos segundo a RDC nº 51.	12
Tabela 2. Categorias de alimentos e respectivos simulantes.	12
Tabela 3. Preparo de ácido acético 3%.	26
Tabela 4. Condições de tempo e temperatura usadas no teste de migração.	36
Tabela 5. Análise de variância para significância da regressão e desvio de linearidade ($\alpha=0,05$).	43
Tabela 6. Diferentes situações na reação de HBA com os simulantes contendo concentração conhecida de acetaldeído (6 mg/L).	68
Tabela 7. Resultados da análise de variância para significância da regressão e desvio de linearidade ($\alpha = 0,05$) para AA em água.	80
Tabela 8. Resultados da análise de variância para significância da regressão e desvio de linearidade ($\alpha = 0,05$) para AA em ácido acético.	80
Tabela 9. Absorvância de amostras de água em garrafas PET-PCR, em condição que simula armazenamento (40° por 10 dias).	82
Tabela 10. Absorvância de amostras de água em garrafas PET-PCR, em condição que simula transporte (60° por 4 h).	83
Tabela 11. Absorvância de amostras de ácido acético 3% em garrafas PET-PCR, em condição que simula armazenamento (40°C, 10 dias).	83
Tabela 12. Absorvância de amostras de ácido acético 3% em garrafas PET-PCR, em condição que simula transporte (60°C, 4h).	83
Tabela 13. Absorvância da solução de água com a acetaldeído, a 6 ppm, em condições extremas: 60°C, por 10 dias.	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mercado brasileiro de transformados plásticos / percentual por aplicação.	2
Figura 2. Mercado brasileiro de transformados plásticos - percentual por tipo de resina.	3
Figura 3. Polimerização do PET. (a) Reação de obtenção do monômero BHET. (b) Polimerização do BHET para obtenção da resina PET.	4
Figura 4. Participação das embalagens nos mercados de bebidas.	5
Figura 5. Equipamentos do processo de reciclagem do PET.	8
Figura 6. Reação de derivatização de aldeídos com o reagente ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA).	13
Figura 7. Fórmula molecular e fórmula estrutural do acetaldeído.	14
Figura 8. Produção de acetaldeído no organismo.	15
Figura 9. Mecanismo proposto para formação de acetaldeído do polímero PET durante a produção da pré-forma.	16
Figura 10. Fórmula molecular e fórmula estrutural do 1,3-dioxolano.	17
Figura 11. Fórmula molecular e fórmula estrutural do 2-metil-1,3-dioxolano.	18
Figura 12. Fórmula molecular e fórmula estrutural do etilenoglicol.	18
Figura 13. Fórmula molecular e fórmula estrutural do ácido tereftálico.	19
Figura 14. Consumo de plásticos - quilogramas per capita ao ano.	22
Figura 15. Índice de reciclagem mecânica de plásticos (IRMP) em países da União Européia e Brasil.	23
Figura 16. Solução estoque de ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA) e solução trabalho (1230 e 123 mg/L, respectivamente).	27
Figura 17. <i>Pellets</i> de resina virgem.	28
Figura 18. <i>Pellets</i> de resina reciclada.	28
Figura 19. Garrafa PET de resina 100% reciclada, de 900 mL.	29
Figura 20. Garrafa PET de resina 100% reciclada, com tampa, de 500 mL.	29
Figura 21. Garrafa PET de água mineral, com resina 100% reciclada, e com tampa, de 500 mL.	30
Figura 22. Procedimento para ativação de cartuchos Sep-pak (C 18) e extração de acetaldeído.	33
Figura 23. Reação com Purpald.	34
Figura 24. Amostras de garrafas PET-PCR cheias com simulantes, usadas nos ensaios de migração.	37
Figura 25. Reação química com ácido 4-hidrazinobenzóico.	37
Figura 26. Solução padrão de etilenoglicol.	45
Figura 27. Solução padrão de dietilenoglicol.	46
Figura 28. Solução padrão de trietilenoglicol.	46
Figura 29. Amostras de PET (virgem e reciclado) e solução aquosa de acetaldeído. <i>Headspace</i> , a 60°C.	47
Figura 30. Solução padrão de 2-metil-1,3-dioxolano.	47
Figura 31. Solução padrão de acetaldeído.	48
Figura 32. <i>Pellets</i> de PET virgem.	49
Figura 33. <i>Pellets</i> de PET reciclado.	49
Figura 34. Solução padrão de 1,3- dioxolano.	50
Figura 35. Solução padrão de trietilenoglicol.	51

Figura 36. Solução padrão de acetaldeído.	52
Figura 37. Flocos de PET reciclado.	53
Figura 38. Solução de acetaldeído a 1,0 mg/L – HD/CG, coluna DB-624.	54
Figura 39. Solução de acetaldeído a 10 mg/L – HD/CG, coluna DB-624.	55
Figura 40. Acetaldeído concentrado (padrão) – HD/CG, coluna DB-624.	55
Figura 41. Solução de acetaldeído a 10 mg/L – HD/CG, coluna DB-5.	56
Figura 42. Cromatograma de <i>pellets</i> de resina de PET virgem.	57
Figura 43. Cromatograma de flocos de garrafa PET-PCR.	58
Figura 44. Solução aquosa de AA a 10 mg/L.	58
Figura 45. Cromatograma do extrato de flocos de PET-PCR em contato com DMA. Análise por CG-EM.	59
Figura 46. Fragmentograma do extrato de flocos de PET-PCR em contato com DMA. Análise por CG-EM.	60
Figura 47. Cromatograma de flocos de PET-PCR.	61
Figura 48. Cromatograma de <i>pellets</i> de PET virgem.	61
Figura 49. Cromatograma da solução de AA em DMF a 1,5 mg/L.	62
Figura 50. Cromatograma do extrato de PET virgem com DMF, após 48h de contato.	63
Figura 51. Cromatograma da solução de AA em DMF a 1,0 mg/L.	63
Figura 52. Cromatograma do isopropanol padrão.	64
Figura 53. Cromatograma da solução de AA em isopropanol a 6,0 mg/L.	65
Figura 54. Cromatograma do extrato de PET-PCR com isopropanol.	65
Figura 55. Cromatograma da solução aquosa de AA a 6,0 mg/L após passagem pelo cartucho e extração com isopropanol.	66
Figura 56. Cromatograma da solução de AA em ácido acético 3%, a 6,0 mg/L após passagem pelo cartucho e extração com ACN.	67
Figura 57. Curva de calibração obtida para teste do método, a partir da reação química dos simulantes, contendo acetaldeído em 7 diferentes concentrações, com HBA.	68
Figura 58. Cromatograma de flocos de garrafa PET PCR, com resina 100% reciclada.	70
Figura 59. Cromatograma da solução de AA em água, a 10 mg/L.	70
Figura 60. Cromatograma de flocos de garrafa PET fortificado com solução de AA em água a 10 mg/L.	71
Figura 61. Comparação dos cromatogramas de água, flocos de garrafa PET-PCR e frasco vazio, com destaque para o tempo de retenção de aproximadamente 7,4 min.	72
Figura 62. Cromatograma dos flocos da garrafa PET reciclada, em menor escala. Análise em <i>headspace</i> – CG - EM.	73
Figura 63. Cromatograma dos flocos da garrafa PET reciclada, em maior escala. Análise em <i>headspace</i> . CG-EM.	74
Figura 64. Fragmentograma do AA: comparação da análise com a biblioteca do equipamento.	75
Figura 65. Cromatograma por CG-EM de frasco vazio, indicando presença de ftalato de dietila.	75
Figura 66. Curva analítica de acetaldeído em água (Concentração x Absorvância).	76
Figura 67. Curva analítica de acetaldeído em ácido acético a 3% (Concentração x Absorvância).	77
Figura 68. Gráfico exploratório dos resíduos da regressão da curva analítica de acetaldeído em água.	78
Figura 69. Gráfico exploratório dos resíduos da regressão da curva analítica de acetaldeído em ácido acético a 3%.	78

Figura 70. Gráfico de Durbin-Watson da curva analítica ($e_i \times e_{i-1}$) de AA em água.	79
Figura 71. Gráfico de Durbin-Watson da curva analítica ($e_i \times e_{i-1}$) de AA em ácido acético a 3%.	79
Figura 72. Determinação dos limites de detecção e quantificação a partir da curva de calibração de acetaldeído em água.	81
Figura 73. Determinação dos limites de detecção e quantificação a partir da curva de calibração de acetaldeído em ácido acético a 3%.	81
Figura 74. Tubos de ensaio contendo o produto da reação entre o simulante água, após condicionamento na garrafa PET-PCR, HBA trabalho e água tipo I, para formação de hidrazona após 15 min de reação.	82

LISTA DE ABREVIACOES, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	acetaldeído
ACN	acetonitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CE	Comunidade Européia (sigla em inglês: EC)
CG	cromatografia gasosa
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
DBP	dibutil de di-ftalato
DEP	ftalato de di-etila
DIC	detector por ionização em chama
DMA	dimetilacetamida
DMF	dimetilformamida
DMP	dimetil de di-ftalato
EG	etilenoglicol
EM	detector por espectrometria de massa
EVA	etileno acetato de vinila
H ₂	hidrogênio
HBA	cido 4-hidrazinobenzóico
HD	<i>headspace</i>
He	gás hélio
LOD	limite de detecção
MMQO	método dos mínimos quadrados ordinários
p.ex.	<i>par exemple</i> (por exemplo)
PE	polietileno
PET	poli(tereftalato de etileno)
PET- PCR	poli(tereftalato de etileno) pós-consumo reciclado
PP	polipropileno
PVC	policloreto de vinila
PS	poliestireno
PTV	pressão e temperatura variáveis
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SCF	Comitê Científico Europeu para Alimentos
TDI	ingestão diária tolerável
Tg	temperatura de transição vítrea
Tm	temperatura de fusão cristalina
VI	viscosidade intrínseca

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 O Plástico PET	2
2.2 Reciclagem do PET	6
2.3 Processo de reciclagem <i>super-clean</i>	8
2.4 Possíveis contaminantes em garrafas PET-PCR	10
2.5 Métodos para determinação de contaminantes em garrafas PET	11
2.6 Migração a partir de garrafas PET	12
2.7 Método de quantificação de aldeídos	13
2.8 Acetaldeído	14
2.9 Toxicologia do acetaldeído	16
2.10 1,3-dioxolano	17
2.11 Etilenoglicol	18
2.12 Ácido Tereftálico	19
2.13 Bebidas Não-alcoólicas	20
2.14 Política Nacional de Resíduos Sólidos	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Materiais	24
3.2 Equipamentos	25
3.3 Reagentes e padrões	25
3.4 Soluções	25
3.4.1 Soluções estoques de acetaldeído (AA)	25
3.4.2 Solução de acetaldeído a 100 mg/L (100 ppm)	26
3.4.3 Soluções de acetaldeído a 6,0 mg/L (6 ppm)	26
3.4.4 Solução de ácido acético a 3%	26
3.4.5 Solução estoque de ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA)	26
3.4.6 Solução Trabalho	27
3.5 Amostras	27
3.6 Análises para Determinação de Contaminantes em PET – PCR	30
3.6.1 Primeiro estudo piloto	30
3.6.2 Determinação de acetaldeído em PET-PCR	30
3.6.3 Métodos de análise de migração de acetaldeído a partir de PET-PCR em bebidas não-alcoólicas	33
3.6.4 Estudo conclusivo	34
3.7 Método de Ensaio de Migração	36
3.8 Orientações para proteção individual e coletiva	38
3.9 Validação intralaboratorial	38
3.9.1 Linearidade	38
3.9.2 Limites de detecção e quantificação	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Determinação de Contaminantes no Plástico PET com Resina Reciclada	45

4.1.1 Primeiro estudo piloto	45
4.1.2 Determinação de acetaldeído em garrafas PET-PCR	50
4.1.3 Métodos de análise de migração de acetaldeído a partir de PET-PCR em não-alcoólicas	66
4.1.4 Estudo conclusivo	69
4.2 Validação dos Ensaios de Migração	76
4.2.1 Linearidade e curva analítica	76
4.2.2 Confirmação	80
4.2.3 Limites de detecção e quantificação	81
4.3 Resultados das amostras	82
5 CONCLUSÃO	86
6 RECOMENDAÇÕES DE PESQUISA	88
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

1 INTRODUÇÃO

Materiais plásticos são frequentemente utilizados na indústria alimentícia, devido às suas excelentes propriedades, tais como: conservação, eficiência, conveniência, flexibilidade, entre outros. O plástico, especialmente o [poli(tereftalato de etileno)] (PET), é muito empregado na indústria de embalagens para alimentos, com crescente participação no mercado de bebidas não-alcoólicas, como água, sucos e refrigerantes.

No entanto, grandes quantidades de plástico usadas para embalar alimentos e bebidas têm provocado aumento de lixo prejudicial ao meio ambiente. Para minimizar este problema, a reciclagem de PET tem sido uma solução. O PET pós-consumo reciclado (PET-PCR) grau alimentício é o material proveniente de um fornecedor de PET pós-consumo e/ou de descarte industrial, que deve passar por uma tecnologia de reciclagem física e/ou química, com alta eficiência de descontaminação.

A legislação brasileira já aprova o uso de embalagens de PET-PCR grau alimentício, e torna-se de grande importância verificar se este material reciclado se encontra em condições de uso, sem a presença de substâncias tóxicas capazes de migrar para a bebida, o que representaria um risco à saúde do consumidor.

Numerosos estudos têm mostrado que componentes químicos de embalagens de alimentos migram para o alimento, e o acetaldeído é um exemplo de substância presente nas embalagens de PET, difundindo com o passar do tempo para o ambiente e para os produtos acondicionados.

Um método analítico para determinar essas e outras possíveis substâncias precisa ser desenvolvido, para favorecer o controle sanitário do uso de embalagens PET-PCR grau alimentício em contato direto com bebidas não-alcoólicas (refrigerantes, sucos, água).

O presente estudo teve como objetivo propor uma metodologia capaz de avaliar a presença de contaminantes em PET-PCR, especialmente o acetaldeído, e avaliar a possível migração desses contaminantes para bebidas não-alcoólicas. Os objetivos específicos foram: detectar a presença de contaminantes em garrafas de PET feitas com resina 100% reciclada, através de Cromatografia Gasosa (CG); comparar a metodologia consolidada na literatura para determinação de acetaldeído em PET; apresentar uma metodologia capaz de avaliar a migração de acetaldeído para bebidas; verificar se o limite de migração exigido pela legislação está sendo atendido.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Plástico PET

Materiais plásticos são frequentemente utilizados devido às suas excelentes propriedades, tais como: conservação, eficiência, conveniência, flexibilidade, entre outros (DEVLIEGHIERE et al, 1997).

A maior parte do mercado brasileiro de transformados plásticos está voltada para a produção de embalagens de alimentos, conforme mostra a Figura 1 abaixo.

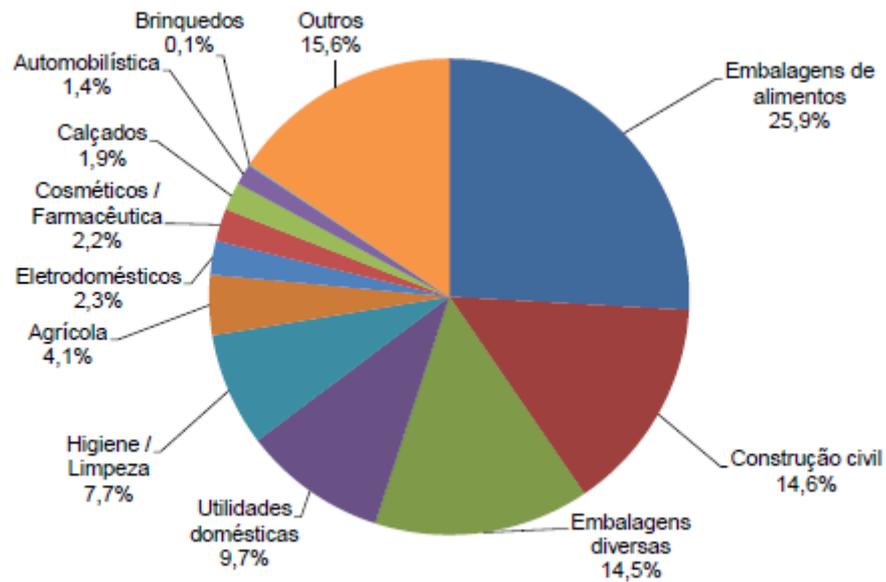


Figura 1. Mercado brasileiro de transformados plásticos / percentual por aplicação (^aABIQUIM, 2010).

O poli(tereftalato de etileno), o qual tem como sigla PET, é um poliéster do grupo dos polímeros de condensação, classificado como termoplástico, por amolecer quando aquecido em direção ao seu ponto de fusão, e endurecer quando resfriado. O PET tem apresentado uma importante participação no mercado brasileiro de transformados plásticos, conforme apresenta a Figura 2.

b)

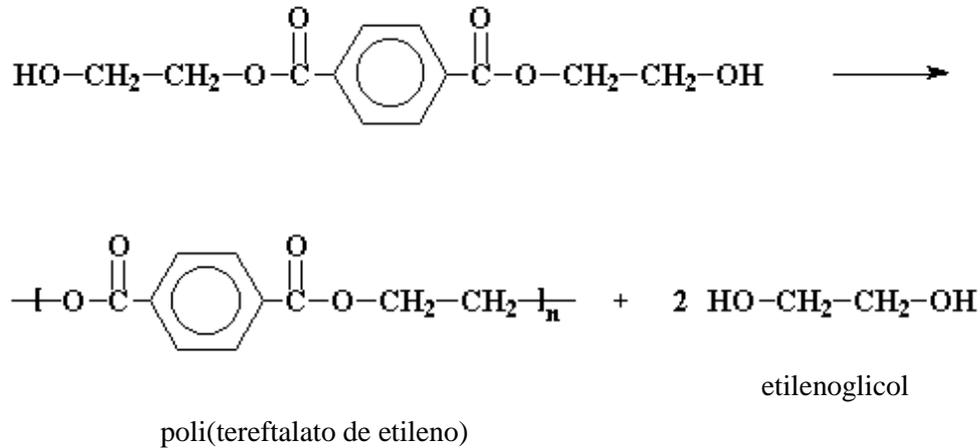


Figura 3. Continuação

O peso molecular médio do polímero aumenta conforme o etilenoglicol é liberado e removido e os níveis de acetaldeído (AA) reduzidos para concentrações inferiores a 3 mg/kg (DUARTE, 2001). A resina é, então, utilizada para a produção de pré-formas, que posteriormente serão transformadas em garrafas. Para a injeção da pré-forma a resina é aquecida a temperaturas da ordem de 270°C, injetada nas cavidades do molde e resfriada muito rapidamente de forma a manter a estrutura molecular predominantemente na forma amorfa, evitando assim, a recristalização. A pré-forma é aquecida entre 90-100°C e em seguida soprada para a produção da garrafa. Essa faixa de temperatura é importante para moldar o PET na sua forma predominantemente amorfa (ABEPET, 2002^a).

Na injeção da pré-forma determina-se o acabamento do gargalo, isento de rebarbas, incluindo rosca e superfície de vedação, facilitando o desempenho dos sistemas de fechamento das embalagens de PET. A estrutura amorfa confere à embalagem a transparência desejada e a flexibilidade suficiente para garantir boa resistência ao impacto, que é sensivelmente melhorada pela biorientação durante o sopro. Convém salientar, que as duas formas coexistem, ou seja, a amorfa e a cristalina (20%) ao final do sopro (ABEPET, 2002^b).

Depois dos Estados Unidos, o Brasil e o México são os dois maiores consumidores mundiais de refrigerantes, e isto tem servido como impulsionador do consumo das resinas PET no país (FERRAROLI et al., 2002). O CEMPRE (2005) contabilizou que somente as regiões metropolitanas do Brasil, com 15 milhões de domicílios e 50 milhões de pessoas, consumiram em 2004, 6 bilhões de embalagens PET.

Dados estatísticos da ABRE (Associação Brasileira de Embalagens) mostram a alta participação do PET [poli(tereftalato de etileno)] no mercado de bebidas, principalmente de água mineral e refrigerantes (ABRE, 2004), conforme mostram os gráficos da Figura 4.

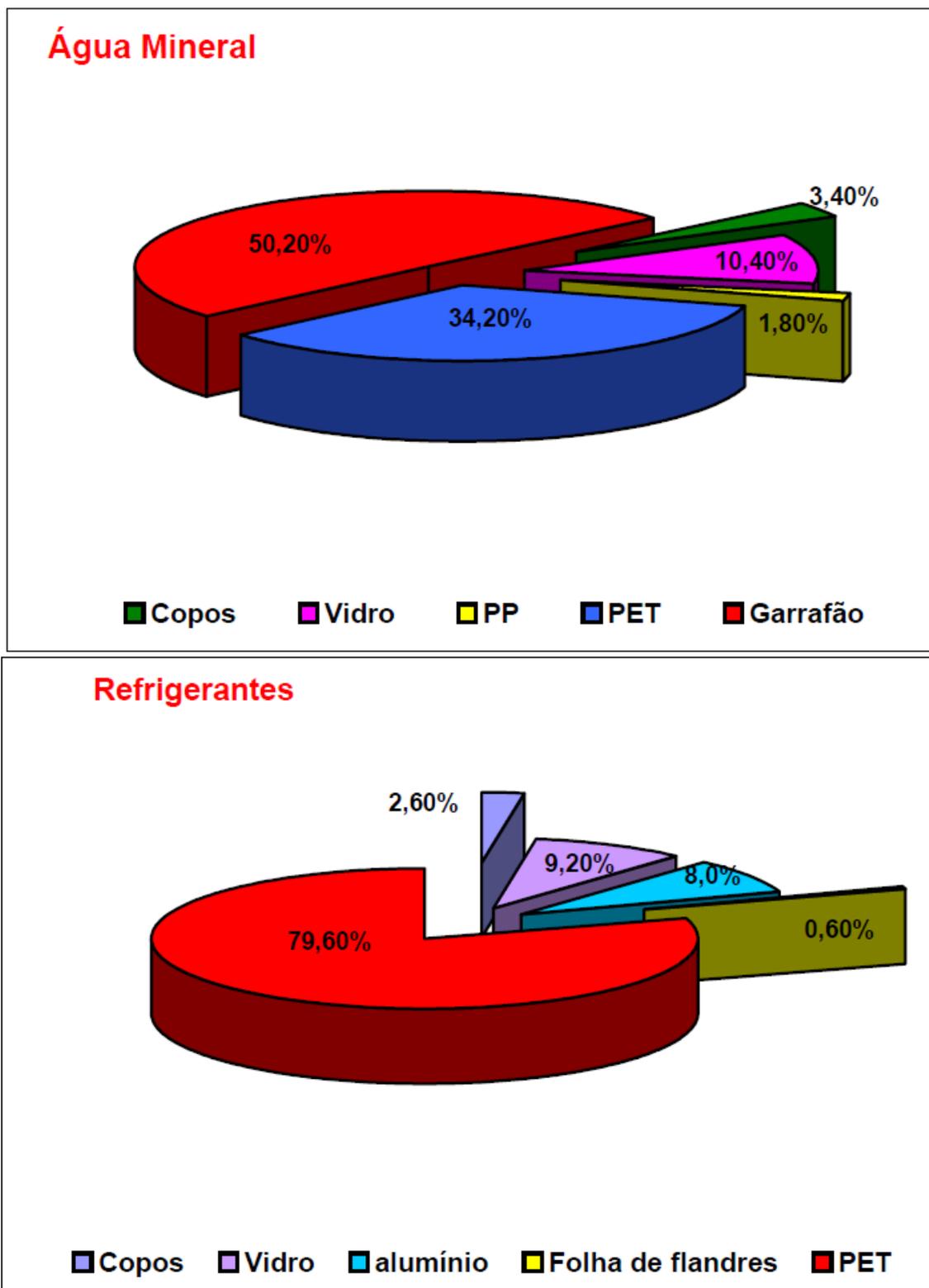


Figura 4. Participação das embalagens nos mercados de bebidas (ABRE, 2004).

O plástico, preferencialmente na forma de PET, também se apresenta como uma boa alternativa para o envase de suco de fruta, devido ao seu baixo custo, baixo peso, e avaliação visual do produto pelo consumidor (NASSER et al, 2005).

A natureza não inerte dos plásticos inviabiliza, no entanto, o uso de embalagens retornáveis, devido ao uso indevido das mesmas pelos consumidores, tornando necessários processos de limpeza mais sofisticados e onerosos (SANTOS et al, 2006). Já através da reciclagem do PET, é possível reduzir o impacto ambiental; manter o uso do PET, já caracterizado como um bom material de armazenamento e transporte; e utilizar processos de descontaminação, para não representar um risco à saúde humana.

2.2 Reciclagem do PET

O poli(tereftalato de etileno), principal polímero da classe dos poliésteres aromáticos, tornou-se um dos principais rejeitos de plásticos pós-consumo, pois as mesmas qualidades responsáveis pela sua alta produção, o transformam em um sério problema ambiental, pois a maior parte destes produtos manufaturados é de rápida descartabilidade, gerando um crescente acúmulo deste material nos aterros sanitários (KINT & MUNÔZ-GUERRA, 1999).

Alternativas estão sendo estudadas para contornar esses problemas. Dentre as possibilidades para auxiliar, está a obtenção de novos copolímeros biodegradáveis com propriedades adequadas para substituir o uso do PET, ou a reciclagem química de PET pós-consumo transformando-o em um material biodegradável, para ser utilizado em diferentes aplicações (HEIDARY & GORDON, 1994). Há também a reciclagem mecânica do PET, que tem como motivações econômicas: aumento de vida útil dos aterros, geração de empregos, reinserção social dos catadores, economia de energia e matéria-prima, redução dos custos de coleta, transporte e disposição final do lixo, reutilização adequada dos resíduos e proteção do meio ambiente (SPINACÉ, PAOLI, 2005, PLASTIVIDA, 2005).

A reciclagem é considerada uma das alternativas mais importantes dentro do conceito de desenvolvimento sustentável definido pela ONU (Organização das Nações Unidas). O processo de reciclagem deve ser utilizado em dois casos:

- Quando a recuperação dos resíduos for técnica e economicamente viável, bem como higienicamente utilizável;
- Quando as características de cada material forem respeitadas (FORMIGONI & CAMPOS, 2004).

O benefício proporcionado pela reciclagem de PET apontado pela ABIPET é a possibilidade de uma matéria-prima de baixo de custo. A reciclagem permite a minimização dos aterros sanitários e também o desenvolvimento de atividades econômicas, gerando emprego para pessoas com baixa qualificação nas recicladoras e, indiretamente, na coleta deste material (ROLIM & NASCIMENTO, 2000).

A reciclagem mecânica, citada no presente estudo, é o principal processo utilizado no Brasil na cadeia reversa do PET, tendo como principais vantagens: acessibilidade a pequenas e médias empresas, por ser uma tecnologia de fácil absorção, marcada pela baixa intensidade tecnológica; menor necessidade de mão-de-obra qualificada; e pequeno aporte de investimento demandado (DIAS & TEODÓSIO, 2006).

A legislação brasileira já libera o uso de PET reciclado para embalagem de alimentos, o qual é denominado poli(tereftalato de etileno) pós-consumo reciclado (PET-PCR). A Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA (RDC) nº 20 (BRASIL, 2008) define PET-PCR como material proveniente de um fornecedor de PET pós-consumo e/ou de descarte industrial que passa por uma tecnologia de reciclagem física e/ou química, com alta eficiência de descontaminação, a qual deve ser demonstrada submetendo-a a um procedimento de validação normalizado (teste desafio) (BRASIL, 2008). Além disso, esta resolução autoriza o uso de PET-PCR para o acondicionamento de alimentos, contanto que a embalagem seja aprovada e registrada pela Autoridade Sanitária Nacional Competente.

Os processos de reciclagem mecânica do PET a partir de garrafas pós-consumo produzem flocos ou grãos, e normalmente consiste das seguintes etapas: pré-separação, corte, moagem, lavagem (descontaminação), flotação/hidrociclone, desumidificação/secagem, separação eletrostática e extrusão/granulação (DIAS, 2007).

A secagem da resina é uma das etapas mais importantes e críticas. PET é um material higroscópico, que absorve água do meio ambiente durante seu armazenamento. A umidade dos grãos de PET pode atingir níveis elevados de até 0,6% em peso, se expostos sem nenhuma proteção às intempéries por longos períodos (ABIPET, 2010). Na prática, se a resina for mantida em locais fechados por curtos períodos de tempo, o valor de umidade é normalmente menor, podendo ser inferior a 0,1%. Se a resina for submetida à fusão com esses níveis de umidade, pode sofrer uma rápida degradação (hidrólise), reduzindo o seu peso molecular, o que é refletido na perda da viscosidade intrínseca (VI) e conseqüente perda de suas propriedades físicas. Portanto, a secagem cuidadosa e controlada das resinas PET é uma operação essencial antes de sua transformação (ABIPET, 2010).

A alimentação é a transição entre o silo que armazena a resina e a entrada do PET na injetora. Nesta etapa, quando necessário, são incorporados aditivos à resina PET (protetores aos raios ultravioleta, concentrados de cor, etc.), através de equipamentos específicos para esta finalidade. Aqui o material está sólido, seco e a uma temperatura, preferencialmente, acima de 100° C (ABIPET, 2010).

Uma recicladora de PET deve levar em consideração principalmente a capacidade e o tipo de produto que se deseja comercializar. Uma recicladora pode ser projetada para apenas promover a captação, moagem e descontaminação, fornecendo flocos limpos para etapas subseqüentes, ou já receber flocos limpos e proceder a secagem, extrusão, granulação e cristalização do granulado, fornecendo matéria-prima para transformadores. Projetos mais ousados podem envolver ainda etapa de aumento do peso molecular por pós-condensação no estado sólido, gerando grãos cristalizados de alto peso molecular adequados à produção de garrafas (DIAS, 2007).

Na Figura 5 encontra-se o esquema de funcionamento básico de uma unidade de moagem, lavagem e descontaminação de PET.

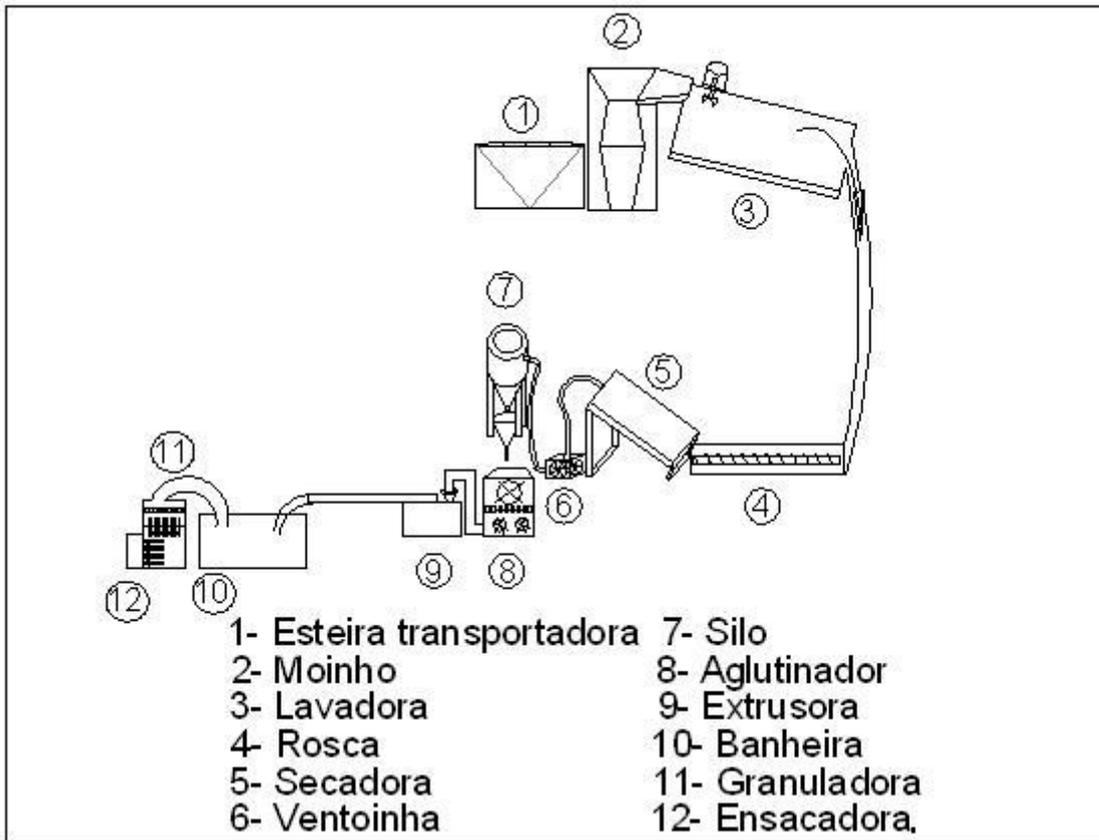


Figura 5. Equipamentos do processo de reciclagem do PET

A incineração dos plásticos ainda está associada a riscos potenciais à saúde humana, e assim, a redução e a reciclagem constituem os principais focos das políticas de gerenciamento dos resíduos sólidos (DUCHIN & LANGE, 1998). Os índices de reciclagem de PET no Brasil estão aumentando mesmo em relação aos percentuais de venda da resina virgem (FLANCO, 2001), sendo que este índice em 2001 esteve na ordem de 31% e é superior aos índices de países como EUA, Japão, França, Inglaterra, Itália e Alemanha (GIMENEZ, 2002). É realmente importante que o Brasil adote o uso de embalagens PET-PCR, já que ele é hoje o terceiro maior consumidor de PET para produção de garrafas no mundo, contando com cerca de 3400 marcas de refrigerantes diferentes registradas (DIAS & TEODÓSIO, 2006).

As principais dificuldades inerentes do mercado do plástico reciclado são a ausência de comprometimento entre a demanda e o fornecimento das matérias-primas, o baixo custo das resinas virgens e a alta contaminação dos resíduos (DASKALOPOULOS, 1997). Segundo RDC nº 20 (BRASIL, 2008), as embalagens de PET-PCR grau alimentício não deverão ceder substâncias alheias à composição própria do plástico, em quantidades que impliquem em um risco para a saúde humana ou uma modificação das características sensoriais dos produtos embalados.

2.3 Processo de Reciclagem *Super-clean*

Naturalmente, para que polímeros de PCR (pós-consumo reciclados) possam ser adequados para a reutilização como embalagens de alimentos, é fundamental que eles não causem a contaminação de seu conteúdo, ou que a causem em níveis iguais ou menores do que os porventura causados pelo polímero virgem do mesmo tipo, se este é um material aprovado para aplicações em alimentos (FORMIGONI & CAMPOS, 2004).

Do ponto de vista de viabilidade da reciclagem desses polímeros, o importante é o desenvolvimento de métodos de descontaminação que possam eliminar a contaminação causada por qualquer tipo de conteúdo que tenha passado pela embalagem durante seu período de reuso pré-reciclagem. Uma vez incluído em um processo de descontaminação, como ter certeza que o método utilizado foi eficaz? Existe, então, a necessidade de se desenvolver um método de análise com o qual, órgãos de fiscalização como a ANVISA, terão condições de fazer um controle sanitário e garantir a segurança alimentar dos diversos consumidores de bebidas não-alcoólicas acondicionadas em garrafas PET- PCR, já que este tipo de garrafa está se tornando uma grande tendência no mercado de alimentos.

Diferentes tipos de aditivos são incorporados no processo de transformação destes plásticos, proporcionando melhor desempenho no processamento e nas características finais das embalagens (FREIRE et al, 2008). Alguns exemplos de aditivos incluem antioxidantes, estabilizantes, lubrificantes, agentes anti-estáticos e agentes anti-bloqueio. Compostos reativos como monômeros, substâncias de partida para a produção de polímeros e oligômeros de baixa massa molar também estão presentes nos materiais de embalagem plástica, geralmente em concentrações baixas tidos como residuais (HERNANDEZ et al, 2000).

Além dos aditivos e monômeros residuais presentes nos materiais de embalagem, outros compostos químicos podem estar presentes, tais como produtos de degradação de polímeros e aditivos formados durante o processo de transformação, solventes residuais provenientes de tintas de impressão e outros resíduos químicos empregados no processamento do material de embalagem (FREIRE et al, 2008). Alguns produtos de decomposição de polímeros incluem benzeno e alquilbenzeno, além de outros compostos voláteis, como cetonas e aldeídos. (FREIRE et al, 2008).

Substâncias podem ser transferidas da embalagem para o alimento através de um processo chamado migração, e as substâncias são nomeadas migrantes (BRASIL, 1996). A migração não ocorre igualmente em todos os materiais de embalagem em contato com alimentos. Nos materiais poliméricos, como o PET, desenvolvem-se mecanismos de transferência de massa através da matriz polimérica por meio do qual aditivos, monômeros, oligômeros e resíduos presentes no material se incorporam ao produto acondicionado (PADULA & ITO, 2006).

São definidos dois tipos de migração: migração global ou total e migração específica. A migração global refere-se à quantidade total de substância que migra da embalagem para o alimento ou seus simulantes, nas condições usuais de emprego, elaboração e armazenamento do alimento (BRASIL, 1996). Já a específica envolve a transferência de uma ou mais substâncias identificáveis, reconhecidas ou consideradas como de risco para a saúde do homem, não levando em consideração a quantidade total de outros migrantes que podem passar para o alimento (FERNANDES et al, 1987).

Daí a importância do processo de reciclagem *super-clean*. Este processo baseia-se em etapas de limpeza profunda, sob altas temperaturas e a vácuo. Em muitos casos, uma fase de pós-condensação no estado sólido é incluída para reparar cadeias de polímero quebradas e alcançar a viscosidade intrínseca necessária ao processamento, que pode ser usada para embalagens de alimentos e bebidas em contato direto. Neste caso, tem-se o processo de reciclagem *bottle-to-bottle*, que consiste em promover o aquecimento dos grãos cristalizados de PET em temperaturas superiores à T_g (temperatura de transição vítrea) e inferiores à T_m (temperatura de fusão cristalina) sob fluxo de gás inerte (nitrogênio) ou sob vácuo. As temperaturas do processo podem variar de 190 a 220°C e longos tempos de residência são requeridos. O tempo de processo pode variar de 4 a 8 horas, dependendo do nível de aumento de VI (viscosidade intrínseca) que se deseja. O processo de pós-condensação no estado sólido permite aumentos de VI de 0,50-0,60 para 0,8-1,0 dl/g.

Nas indústrias de PET virgem e reciclado, a viscosidade intrínseca é a medida mais difundida para fornecer a massa molar. Esta minimiza a hidrólise pois utiliza soluções em temperaturas relativamente baixas (MANCINI et al., 2004). Outra opção de mecanismo *super-clean* envolve despolimerização química da camada superficial do PET, seguida por parâmetros de limpeza mecânica, formando assim um híbrido processo químico-mecânico (FRANZ et al., 2004).

Segundo NERIN et al., 2003, é necessário assegurar que materiais recuperados (reciclados) estejam livres de contaminantes. Ainda não se conhecem totalmente os níveis de concentração e a identidade dos contaminantes típicos em embalagens de PET-PCR, nem mesmo as substâncias introduzidas pelo mau uso de garrafas PET na estocagem doméstica de solventes, combustíveis, pesticidas, entre outros (FRANZ et al., 2004).

Diante disto, o Documento de Trabalho da ANVISA de 2006 (BRASIL, 2006) determina que deve ser feito teste de eficiência (ou teste de desafio) que vise comprovar a efetividade da tecnologia de limpeza e descontaminação pelas indústrias. Teste de eficiência é um teste de efetividade do processo de reciclagem *super-clean*, para remover contaminação química de materiais ou artigos (FRANZ et al., 2004). O teste envolve introdução de níveis exagerados de contaminantes (*surrogates*), na forma de um coquetel de substâncias, e inclui como um parâmetro final a avaliação da migração destes contaminantes de um artigo modelo em contato com alimento (FRANZ et al., 2004). De acordo com a *Food and Drug Administration* (1987), os fabricantes de PET é que devem realizar este tipo de teste para comprovar a qualidade de seus produtos.

O teste de desafio é realizado da seguinte forma: 100% dos flocos (embalagens trituradas) de PET devem ser expostos ao coquetel de contaminantes por 14 dias a 40° C. E após este período, a concentração de cada contaminante deve ser determinada. As concentrações residuais de contaminantes modelo, no material da embalagem ou no alimento, devem ser iguais ou inferiores àquelas exigidas pelo T/R (“Treshold of Regulation”), que é de 0,5 ppb como limite de ingestão diária com risco negligenciável (SANTOS et al., 2003). No entanto, nacionalmente, ainda não há um método validado para isso.

2.4 Possíveis contaminantes em garrafas PET-PCR

Há mais de 20 anos, numerosos estudos têm mostrado que componentes químicos de embalagens de alimentos migram para o alimento (PIRINGER et al., 1998). O acetaldeído é um exemplo de substância presente nas embalagens de PET, e difunde, com o passar do tempo, para o ambiente e para os produtos acondicionados (NETTO, 2006).

A resina PET quando submetida a altas temperaturas, as quais são usadas na fabricação e transformação de resinas, chegam acima do seu ponto de fusão, gerando o acetaldeído (NETTO, 2006). Ao submeter filmes de PET (usados para embalar pizza, batata-frita e pipoca de micro-ondas) a altas temperaturas, FREIRE et al (1999) detectaram a formação e migração de oligômeros como monoetilenoglicol e dietilenoglicol, em níveis abaixo do limite de migração estabelecido pela Comunidade Européia (EEC, 1982) e pelo MERCOSUL (1995).

Em seu estudo WELLE (2008) observou a presença de acetaldeído, de 2-metil-1,3-dioxolano e de etilenoglicol, mesmo em amostras de PET virgem. O acetaldeído é um produto de degradação térmica de poli(tereftalato de etileno), o etilenoglicol um dos monômeros residuais, e o 2-metil-1,3-dioxolano é um produto de condensação de acetaldeído e etilenoglicol (WELLE, 2008).

ROWE & WOLF (1982) relatam que a toxidez do etilenoglicol (EG) é maior em humanos do que em animais. A intoxicação por EG pode causar reações neurológicas adversas, como convulsões e coma (YAO & PORTER, 1996). Na verdade o etilenoglicol em si não é um tóxico letal; o dano é causado pelo ácido oxálico, um produto de oxidação do

etilenoglicol (STRYER, 1992). Os rins são gravemente lesados pelo depósito de cristais de oxalato. A formação de ácido oxálico a partir de etilenoglicol é inibida pelo etanol (STRYER, 1992).

Em experimento preliminar, realizado no Centro de Tecnologia de Embalagens para Alimentos (CETEA), do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), flocos de PET-PCR virgens, reciclados e pós-consumo (amostras do próprio local), foram analisados por cromatografia gasosa, com amostragem por *headspace* acoplada a espectrometria de massas. Desta análise foi identificado, através dos cromatogramas, 2-metil-1,3-dioxolano (em amostras de PET virgem e reciclado) e benzeno.

FRANZ et al. (2004) observaram que em quase todas as amostras de PET reciclado pós-consumo havia a presença de limoneno. Esta é uma substância à base de carbono, produzida por mais de 300 espécies de plantas, e quando em uma determinada forma, o limoneno confere aroma de limão, em outra forma, de laranja (QMCWEB, 2006). O limoneno, portanto, não é tóxico ao organismo, mas pode ser usado como um indicador para a qualidade da reciclagem (FRANZ et al., 2004).

O limite de concentração de contaminantes modelo, no PET-PCR grau alimentício, não deve ultrapassar 220 ppb (para cada contaminante), segundo a RDC nº 20, ou respeitar o limite de migração específica de contaminantes modelo de 10 ppb em embalagens (para cada contaminante).

Os resultados obtidos no estudo de FREIRE et al (1999) sugeriram que alguma degradação do PET pode iniciar em temperaturas próximas ao ponto de fusão do plástico (260°C), havendo liberação de substâncias voláteis e um aumento na concentração de oligômeros com baixo peso molecular (monoetilenoglicol e dietilenoglicol, p.ex.).

Em seu estudo FREIRE et al (1998) observaram, no entanto, que as substâncias químicas liberadas dos materiais feitos de PET não partem do PET em si, mas de outras camadas e revestimentos contendo papel, adesivos ou tintas de impressão, indicando nenhum risco à saúde pública.

2.5 Métodos para determinação de contaminantes em garrafas PET

Alguns procedimentos analíticos podem ser aplicados para determinar os contaminantes mais prováveis, mas apenas poucos métodos podem ser usados para abranger um grande número de amostras (NERIN et al., 2003). Na análise de 50 amostras representativas de 600, NERIN et al. (2003) utilizaram como procedimento analítico a extração de fluido supercrítico (SFE), onde o fluido usado foi o CO₂ modificado, e a pressão e temperatura de extração foram 425 atm e 120°C, respectivamente; cromatografia a gás via *headspace* associada à espectrometria de massa (GC-EM), e um procedimento de alta temperatura via técnica *Headspace* estático (HT-HS) associado ao GC-EM. O *headspace* é uma técnica sensível, utilizada para analisar substâncias em baixas concentrações (GOBATO & LANÇAS, 2001). Os resultados de NERIN et al. (2003) confirmaram que a associação de HT-HS com GC-EM é uma boa técnica para análise de flocos de PET reciclados, por permitirem a identificação da maioria das substâncias voláteis e semivoláteis.

Já FRANZ et al. (2004) fizeram um estudo cujo objetivo foi identificar e quantificar apenas substâncias que ocorrem em concentrações superiores a 1 ou 2 mg kg⁻¹. O método escolhido foi um procedimento por cromatografia a gás via *headspace*. Como resultado, observaram grandes concentrações de limoneno e acetaldeído, sendo que o limoneno representa o “contaminante” pós-consumo mais dominante, e em geral é acompanhado por outros *flavours* tóxicos ou aromas na proporção de 15% ou menos.

Já no estudo de WELLE (2008), através do uso de cromatografia gasosa com *headspace*, observou-se a presença de acetaldeído, de 2-metil-1,3-dioxolano e de etilenoglicol, mesmo em amostras de PET virgem.

2.6 Migração a partir de Garrafas PET

Quantidades traços de contaminante foram encontradas em água armazenada em garrafas PET (LO RUSSO et al, 1985; GRAMICCIONI et al, 1986).

Pela Comissão de Diretiva da União Européia (COMMISSION DIRECTIVE, 2002), na produção de materiais plásticos em contato com alimentos, o limite de migração específica de acetaldeído deverá ser de 6 mg/kg; de etilenoglicol de 30 mg/kg; de 1,3-dioxolano de 0,05 mg/kg e de ácido tereftálico de 15 mg/kg.

O Comitê Científico Europeu para Alimentos (SCF) especificou uma ingestão diária tolerável (TDI) para AA de 0,1 g/ kg de peso corporal, que é o equivalente ao limite de migração para AA de 6 mg/kg das garrafas PET para água mineral (MUTSUGA et al, 2005).

Com intuito de verificar o quanto de contaminante migra para os alimentos, são usados simulantes e análises químicas que permitem quantificar essa migração. As legislações brasileira e européia prevêm a utilização de simulantes. É definido como “produto que simula o comportamento de um grupo de alimentos que tem características semelhantes” (BRASIL, 2001; COMUNIDADE EUROPÉIA, 1982). Para a realização de testes de migração, são empregadas substâncias orgânicas que simulam, tanto quanto possível, o comportamento dos alimentos (PAPASPYRIDES e TINGAS, 1998). Com relação à interação com as embalagens plásticas, os alimentos são classificados em diferentes categorias, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos alimentos segundo a RDC nº 51 (BRASIL, 2010)

Alimentos
aquosos não ácidos (pH > 4,5)
aquosos ácidos (pH ≤ 4,5)
gordurosos (que contenham gordura ou azeites entre seus componentes principais)
alcoólicos
secos (ou de ação extrativa pouco significativa)

Os simulantes para realizar ensaios de migração a partir de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos são os citados na Tabela 2 (BRASIL, 1999; BRASIL, 2010).

Tabela 2. Categorias de alimentos e respectivos simulantes (BRASIL, 1999; BRASIL, 2010)

Alimento	Simulante
aquosos não ácidos (pH > 4,5)	A: água destilada
aquosos ácidos (pH ≤ 4,5)	B: solução de ácido acético a 3% m/v em água destilada
alcoólicos	C: solução de etanol a 10% v/v em água destilada
gordurosos	D: solução de etanol a 95% v/v em água destilada ou isooctano

O tempo e a temperatura usados no teste de migração devem procurar simular ao máximo situações reais.

De acordo com a ISO Guide 35 (ISO 2006), intitulada *Reference Materials-General and Statistical Principles for Certification*, as temperaturas das amostras podem variar durante o transporte de -50° até 70°C, dependendo do tipo de embalagem e modalidade de transporte. E o tempo de transporte varia de acordo com a distância a ser percorrida na distribuição comercial.

Quanto ao período de armazenamento, 10 dias é o tempo estipulado nas condições de ensaio de migração para simular situações de contato prolongado (BRASIL, 1999; BRASIL, 2010). E a temperatura de 40°C é usada para representar a temperatura extrema que uma garrafa pode apresentar durante a vida-de-prateleira (BRASIL, 1999; BRASIL, 2010).

A exposição à luz do dia também parece influenciar a migração de substâncias para as bebidas. DE FUSCO et al (1990) ao estudarem a migração de mutagênicos para dentro de amostras de água estocadas em garrafas PET, observaram leve atividade mutagênica em água estocada por 1 mês, e esta atividade aumentou na estocagem à luz do dia.

Além disso, em se tratando de testes de migração, quando as amostras são submetidas a altas temperaturas, há maior risco de se perder as substâncias voláteis que se deseja analisar. Como as temperaturas utilizadas nos testes de migração ultrapassam 21°C (temperatura de ebulição do acetaldeído), após o tempo de contato necessário, EWENDER & WELLE (2008) em teste de migração de acetaldeído em água armazenada em garrafa PET, tiveram o cuidado de resfriar as amostras em geladeira, por 1 dia, a fim de minimizar a perda de acetaldeído durante a abertura da garrafa.

2.7 Método de Quantificação de Aldeídos

Aldeídos de baixo peso molecular são um dos grupos mais importantes de compostos orgânicos voláteis e perigosos (KONDO et al, 1998). Por causa do impacto sobre a saúde humana e devido a importância ambiental destes compostos, métodos seletivos e sensíveis para a determinação de aldeídos de baixo peso molecular são necessários (PEREIRA et al, 2004).

Os métodos analíticos disponíveis na literatura para quantificação de acetaldeído podem ser classificados dentro de duas categorias principais: determinação direta por técnicas espectroscópicas ou combinando reações de derivatização e métodos espectrofotométricos e cromatográficos (OLIVEIRA et al, 2005)

No trabalho de PEREIRA et al (2004) o uso de um novo agente de derivatização para compostos carbonílicos foi proposto: ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA). Aldeídos reagem com HBA de acordo com o esquema descrito na Figura 6, formando uma hidrazona .

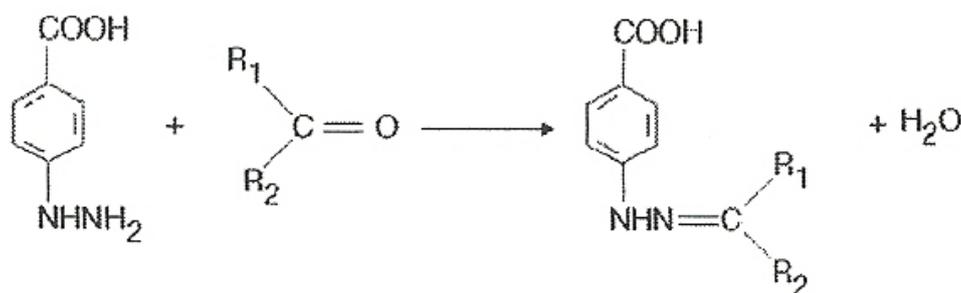


Figura 6. Reação de derivatização de aldeídos com o reagente ácido 4-hidrazinobenzóico - HBA (PEREIRA et al, 2004).

O uso de hidrazina, como agente derivatizante de aldeídos totais, tem sido descrito na literatura como um método indireto para quantificação de dióxido de enxofre em amostras de cerveja (ALMEIDA, 2003).

A hidrazina é um composto químico cuja fórmula química é N_2H_4 . E uma hidrazona é uma classe de compostos orgânicos com a estrutura $R_2C=NNR_2$. Estes compostos estão relacionados com cetonas e aldeídos pela substituição do oxigênio pelo grupo funcional NNH_2 (GESTIS, 2011).

A maioria dos estudos envolvendo derivatização de acetaldeído baseia-se na reação com 2,4-dinitrofenilidrazina, e no monitoramento do produto por métodos cromatográficos e espectrofotométricos. A reação entre sulfato de hidrazina e acetaldeído, em meio ácido de pH 5, formando hidrazona com ligação $-C=N$, foi uma excelente alternativa em relação às técnicas usuais no estudo de RODGHER et al (2006).

2.8 Acetaldeído

O acetaldeído (AA), também chamado de aldeído acético, aldeído, etanal ou etilaldeído, é um líquido ou gás incolor, com um odor pungente característico. Seu ponto de ebulição é $20,1^\circ C$. É altamente solúvel em água, éter, álcool e benzeno. Sua fórmula molecular e fórmula estrutural encontram-se na Figura 7.

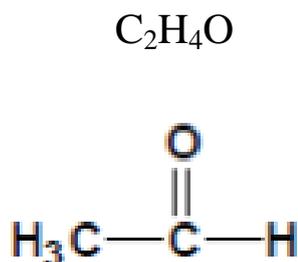


Figura 7. Fórmula molecular e fórmula estrutural do acetaldeído.

No organismo, a glicólise (via metabólica geradora de energia) transforma a glicose em piruvato, que ao ser descarboxilado (saída de CO_2) forma acetaldeído (STRYER, 1992). A segunda etapa é a redução do acetaldeído a etanol (entrada de 2 átomos de hidrogênio) em uma reação catalisada pela enzima álcool desidrogenase, presente no fígado, no trato gastrointestinal e em bactérias gastrointestinais (Figura 8).

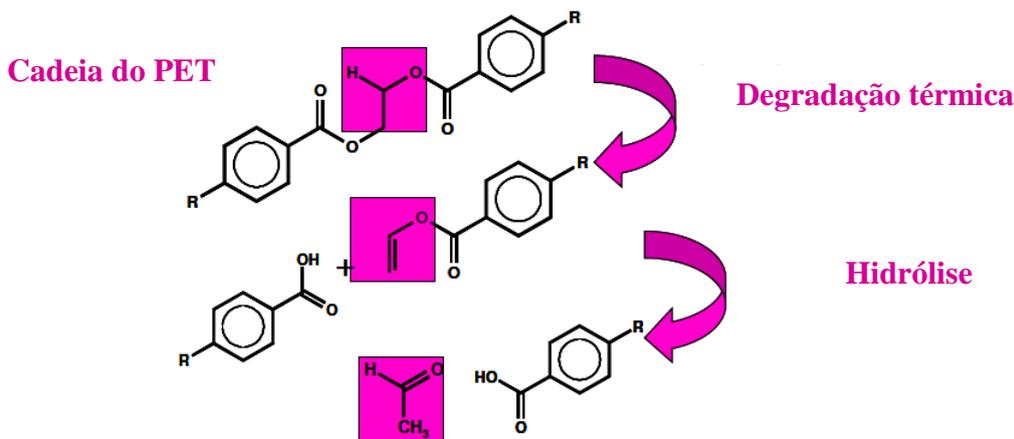


Figura 9. Mecanismo proposto para formação de acetaldeído do polímero PET durante a produção da pré-forma (WELLE & WENDER, 2008).

2.9 Toxicologia do Acetaldeído

LO RUSSO et al. e ASHBY, citados por SAUVANT et al (1995) descreveram que um dos problemas das garrafas PET consiste na formação de acetaldeído durante o processo de fabricação e sua migração, capaz de modificar o sabor da água. DELLARCO et al. (1988) já relatavam que o acetaldeído provoca danos citogenéticos em cultura de célula de mamíferos, é mutagênico e pode danificar células somáticas.

O AA é um composto altamente reativo, podendo reagir com muitas outras moléculas de tamanhos maiores e menores, por adição, condensação ou polimerização (ANJOS, 2007). A principal fonte de exposição ao AA para a população é através do metabolismo do álcool e através do fumo, pois o AA é um dos produtos da combustão do fumo (IARC, 1988).

Tais resultados suscitaram questionamentos quanto à repercussão de tais evidências à saúde humana e estimularam uma revisão bibliográfica da toxicologia do acetaldeído, com a finalidade de se identificar os possíveis riscos de agravos à saúde, advindos de uma exposição a esta substância, através da migração em bebidas, principalmente em níveis superiores ao limite estabelecido pela legislação. Uma vez identificado o risco, subsidiaria a tomada de decisões visando à proteção da saúde humana.

Existe evidência suficiente em animais experimentais da carcinogenicidade do acetaldeído (IARC, 1995). Foi observado que tal substância induz câncer nasal em ratos após a administração por inalação (IARC, 1995). Também segundo IARC (1998), acetaldeído pode causar anormalidades de desenvolvimento embrionário *in vitro*. O acetaldeído além de carcinogênico é mutagênico, liga-se ao DNA e a proteínas, e destrói o ácido fólico (PÖSCHL & SEITZ, 2004).

GARCIA (2010) comprovou em seu estudo a reação de acetaldeído com DNA pela quantificação de 1,N²-propano-2-desoxiguanosina (1,N²-propanodGuo), produto comprovadamente mutagênico e carcinogênico da reação direta do aldeído. Neste estudo, foi realizado o tratamento de 28 ratos *Wistar* machos adultos divididos em 5 grupos: inalação de 0 ppb, 10 ppb, 30 ppb e 90 ppb de acetaldeído, por 50 dias, evidenciou que a partir de concentrações próximas a 10 ppb, é possível observar aumento de lipoperoxidação e fragmentação do DNA nos pulmões, cérebros e fígado dos animais.

Outro estudo feito com ratos *Wistar* machos e fêmeas, tendo como rota a inalação, e dosagens que variaram de 750 a 3000 ppm, por 6h ao dia, e por 5 dias na semana, observou a ocorrência de tumor em cavidade nasal (WOUNTERSEN et al, 1984).

Outro estudo realizado em reticulócitos de células sanguíneas de ratos, teve como via de exposição a inalação e a via oral, e doses de acetaldeído de 100-500 ppm por 2 semanas, realizando coleta de sangue logo após a exposição a essas dosagens. Neste caso, não foi observada a ocorrência de mutação (KUNUGITA et al, 2008).

Em doses repetidas, tanto via oral quanto por inalação, efeitos tóxicos em concentrações relativamente baixas foram limitados a locais de contato inicial. Em um estudo onde ratos sofreram administração de acetaldeído na água em que bebiam, efeitos foram limitados a uma leve e focal hiperqueratose na porção superior do estômago (WHO, 1995).

Os resultados dos estudos de GARCIA (2010) apontam efeito significativo do acetaldeído, em concentrações menores que 200 μM em fibroblastos pulmonares humanos normais (IMR-90), nas induções de lipoperoxidação, fragmentação do DNA, aumento de cálcio intracelular e também na formação de $1, N^2$ -propanodGuo.

Quanto à genotoxicidade, o acetaldeído induz aberração cromossômica em uma variedade de testes. O efeito mutagênico do acetaldeído foi estudado no *locus* da hipoxantina-guanina fosforibosil transferase em linfócitos humanos, *in vitro*. Células tratadas com 1,2 – 2,4 mM de acetaldeído por 24h ou 0,2-0,6 mM por 48h mostraram uma diminuição da sobrevivência da célula e aumento da frequência de mutação (LAMBERT, 1990).

O acetaldeído é, portanto, citotóxico e genotóxico em baixas doses *in vitro* e *in vivo*. Estudos como esse favorecem o esclarecimento dos mecanismos de desenvolvimento de doenças atribuídas ao aldeído, como o câncer.

2.10 1,3-dioxolano

Os outros nomes do 1,3-dioxolano são *formal glycol* ou simplesmente dioxolano. Os **dioxolanos** são um grupo de compostos orgânicos, contendo o anel dioxolano. Podem ser preparados pela acetilação de aldeídos ou cetalização de cetonas com etilenoglicol (DAIGNAULT & ELIEL, 1973). Seguem abaixo a fórmula molecular e a fórmula estrutural do 1,3-dioxolano (Figura 10).

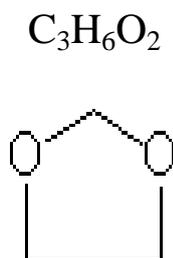


Figura 10. Fórmula molecular e fórmula estrutural do 1,3-dioxolano.

O 1,3-dioxolano é um líquido incolor, e seu ponto de ebulição é 74°C. É hidrossolúvel, altamente inflamável, e geralmente usado como solvente (GESTIS, 2011) e extrator de óleos, gorduras e derivados de celulose (TOXNET, 2011).

Um dos seus derivados é o 2-metil-1,3-dioxolano, cuja fórmula molecular e fórmula estrutural encontram-se na Figura 11.

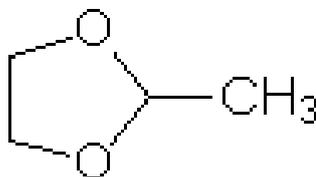


Figura 11. Fórmula molecular e fórmula estrutural do 2-metil-1,3-dioxolano

O 2-metil-1,3-dioxolano também é um líquido incolor, altamente inflamável, solúvel em água, e seu ponto de ebulição é de 82 a 83°C (GESTIS, 2011).

A presença de 1,3-dioxolanos substituídos, que são frequentemente encontrados em saborizantes comerciais, podem resultar da condensação de aldeídos com o solvente propilenoglicol (WELCH & HUNTER, 1980).

A concentração de acetaldeído (AA) livre é pequena em relação às concentrações de metil dioxolano e terminações vinil ($\text{H}_2\text{C} = \text{C} -$), e estes servem de espécies formadoras de AA em PET (RULE, 2001).

1,3-dioxolano pode ser absorvido através da pele intacta. Entretanto a dose letal média (15 g/kg de peso) em coelhos implica que a taxa de absorção pela pele é muito baixa para induzir um envenenamento severo (CZAJKOWSKA et al, 1987).

2.11 Etilenoglicol

O etilenoglicol é um álcool com dois grupos-OH (um diol), um composto químico largamente utilizado como um anticongelante automotivo. Na sua forma pura, é um composto inodoro, incolor, xaroposo líquido com um sabor doce. Seus outros nomes são monoetilenoglicol, MEG, 1,2-etanodiol (ELERT, 2007).

Etilenoglicol é produzido a partir do etileno, através do intermediário de óxido de etileno. Óxido de etileno reage com a água para produzir etilenoglicol. Os principais subprodutos são os oligomeros de dietilenoglicol, trietilenoglicol, e tetraetilenoglicol. Na Figura 12 encontram-se a fórmula molecular e estrutural do etilenoglicol (ELERT, 2007).

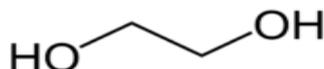
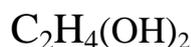


Figura 12 – Fórmulas molecular e estrutural do etilenoglicol.

Etilenoglicol, tal como outros álcoois de cadeia curta nomeadamente o etanol, deduz numerosas respostas celulares potencialmente citotóxicas independentemente do tipo da célula. É rapidamente e extensivamente absorvido através do trato gastrointestinal. É absorvido menos a nível respiratório e a nível dérmico. Após a absorção é distribuído no organismo de acordo com volume de água total do mesmo (TIMBRELL, 2008).

Na maioria dos mamíferos incluindo humano é inicialmente metabolizado no fígado pela álcool desidrogenase a glicolaldeído (TIMBRELL, 2002). Glicolaldeído é rapidamente convertido em ácido glicólico e glioxal pelo aldeído oxidase e aldeído desidrogenase. Estes são oxidados a glioxilato pela glicolato oxidase ou lactato desidrogenase que pode metabolizar em ácido fórmico, ácido oxálico e glicina. Forma-se dióxido de carbono a partir da glicina e ácido fórmico que é um dos maiores produtos de eliminação de EG pela via respiratória. A eliminação também ocorre via urinária (etilenoglicol, glicolaldeído ou ácido glicólico) com um tempo de semi-vida média de 1 a 4 horas na maioria das espécies incluindo mamíferos (TIMBRELL, 2008).

O EG em si não é um tóxico letal, pois o dano é causado pelo ácido oxálico, um produto de oxidação do EG, porque os rins são gravemente lesados pelo depósito de cristais de oxalato (STRYER, 1992). O etanol é usado em terapêutica como um inibidor competitivo para tratar envenenamento por etilenoglicol, pois aquele é um substrato competidor, e assim bloqueia a oxidação de EG para os produtos aldeídicos. O EG é, então, excretado sem danos (STRYER, 1992).

2.12 Ácido Tereftálico

O ácido tereftálico ou ácido 1,4-benzoldicarboxílico é formalmente conhecido como para dicarboxil benzeno. Ele é comercialmente conhecido por seu acrônimo em inglês, PTA, e é altamente insolúvel em meio aquoso. Seu principal uso é na formação do polímero PET, em combinação com o etilenoglicol (SHEEHAN, 1995). Na Figura 13 encontram-se suas fórmulas molecular e estrutural.

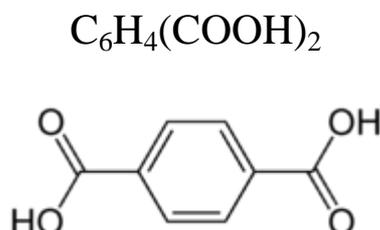


Figura 13. Fórmulas molecular e estrutural do ácido tereftálico.

Quando a substância de partida utilizada na formação do PET é o ácido tereftálico (PTA) a reação é conhecida como reação de esterificação direta, e quando dimetiltereftalato (DMT) é utilizado a reação é conhecida como reação de transesterificação (SARANTÓPOULOS, 2002). Os subprodutos das reações de esterificação direta e transesterificação são água e metanol, respectivamente (MONTEIRO, 1998).

O ácido tereftálico é obtido pela oxidação do p-xileno, enquanto o etilenoglicol é sintetizado a partir do eteno, sendo ambos produtos da indústria petroquímica brasileira (ILSI, 2000). O PET obtido com a rota PTA resulta num polímero com alto grau de impureza devido à dificuldade de purificação do ácido tereftálico (ILSI, 2000).

Tice & Macguiness e Monarca et al. citados por Mídio et al (2000) relataram que o ácido tereftálico e seu éster dimetílico possuem potencial genotóxico além de serem moderadamente irritantes para os tecidos epiteliais e de estarem relacionados com a formação de cálculos renais. Publicações do Committee on Toxicity (2003) descreveram que a administração de ácido tereftálico em ratos por via oral de 3 meses a 2 anos induziu a formação de tumores 190 malignos e benignos do trato urinário, nos tratamentos mais longos e em doses mais altas, sugerindo um potencial genotóxico *in vivo* deste composto. Entretanto, a formação de cálculos na bexiga urinária associada à administração do ácido tereftálico sugeria que o mecanismo para a formação dos tumores não era genotóxico.

2.13 Bebidas Não-Alcoólicas

De acordo com o Decreto nº 350, de 16/06/2000, bebida não alcoólica é a bebida com graduação alcoólica até meio por cento em volume, a vinte graus Celsius (BRASIL, 2000).

A água mineral natural é definida como sendo a água obtida diretamente de fontes naturais ou por extração de águas subterrâneas. É caracterizada pelo conteúdo definido e constante de determinados sais minerais, oligoelementos e outros constituintes considerando as flutuações naturais (BRASIL, 2006).

Em 2010, o mercado de águas minerais faturou R\$ 1 bilhão, registrando alta de 13% em relação ao resultado de 2009, de acordo com dados da Abinam (Associação Brasileira da Indústria de Águas Minerais). Segundo estimativa da Associação, a expectativa é que a mudança no hábito do consumidor e o aumento do poder aquisitivo gerem um aumento de 45% nas vendas do produto, com previsão de crescimento de 15% em 2011, em comparação com 2010. No Brasil existem 420 empresas engarrafadoras de água mineral e cerca de 30 mil distribuidoras. Em 2009, foram produzidos 8,7 bilhões de litros (LAN, 2011).

As bebidas não-alcoólicas, como sucos e refrigerantes, podem também ser denominadas composto líquido pronto para consumo, pois conforme a legislação brasileira, esta designação se aplica a todo produto isento de álcool ou com menos de 0,5% de álcool, que pode conter vitaminas e sais minerais até 100% da IDR no produto a ser consumido, e que contém um ou mais dos ingredientes permitidos de acordo com o item 4 da mesma legislação, tais como: cafeína, teobromina, inositol, glucoronolactona e taurina (BRASIL, 1998).

Suco ou sumo é a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo (BRASIL, 1997). Refrigerante é a bebida gaseificada, obtida pela dissolução, em água potável, de suco ou extrato vegetal de sua origem, adicionada de açúcares. O refrigerante deverá ser obrigatoriamente saturado de dióxido de carbono, industrialmente puro (BRASIL, 1997).

Durante a década de 1990/1999 houve grande mudança no mercado de refrigerantes com a introdução da embalagem PET no mercado brasileiro (CIPOLLA et al, 2002). O mercado de refrigerantes cresceu mais de 100 % nestes 10 anos, basicamente pelos seguintes fatores:

- Aumento de volume de produção, devido a maior oferta de embalagens, principalmente PET, e conseqüente diminuição no preço do produto final.
- Possibilidade de aquisição de equipamentos para fabricação de embalagens PET por um número maior de fabricantes.

- Aumento do poder aquisitivo da população brasileira permitindo o acesso a este produto, somado ao barateamento que este mesmo teve.
- Maior eficiência das empresas em distribuir o produto e aumentar a oferta.
- Mudança dos hábitos de consumo da população, com o crescimento dos centros de consumo, como *shopping centers*, onde a presença de refrigerantes é maciça (CIPOLLA et al, 2002).

O crescimento no mercado de refrigerantes tem se dado por marcas regionais, conhecidas como *tubaínas* que já representam cerca de 30% do mercado. São fabricados por cerca de 176 empresas diferentes espalhadas pelo país (CIPOLLA et al, 2002).

Água assumiu a liderança com 37,5% de participação, contra 36,8% dos refrigerantes (ABINAM, 2009). Em 2007, pela primeira vez, as águas envasadas superaram o consumo de refrigerantes gasosos e se tornaram a categoria de bebida de maior volume no mercado mundial. A constatação é da consultoria Zenith International, em relatório que aborda o mercado de bebidas não alcoólicas em 2007. Com um substancial ganho em volume, as águas envasadas alcançaram em 2007 participação de mercado de 37,3%, deixando as bebidas gaseificadas em segundo lugar, com 36,8%. As bebidas sem gás ficaram em terceiro, com 12,7%, seguidas pelos sucos e néctares, com 7,1%, e os concentrados, com 6,1%. Segundo a Zenith, o consumo mundial de *soft drinks* cresceu 3,9% em 2007, chegando a 552 bilhões de litros, o equivalente 8,5 litros per capita. O crescimento foi conduzido pelas bebidas sem gás, especialmente pela água mineral, em virtude das suas características naturais, isenta de calorias (ABINAM, 2009).

2.14 Política Nacional de Resíduos Sólidos

A Lei Federal nº 12.305, sancionada no dia 02 de agosto de 2010, ao instituir a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS), trouxe estímulo à adoção da logística reversa, que facilita o retorno dos resíduos aos seus geradores, para que sejam tratados ou reaproveitados em novos produtos.

Logística reversa é definida como sendo uma atividade ampla que envolve todas as operações relacionadas com a reutilização de produtos e materiais, como as atividades logísticas de coleta, desmonte e processo de produtos e/ou materiais e peças usadas a fim de assegurar uma recuperação sustentável deles e que não prejudique o meio ambiente (REVLOG, 2005).

A PNRS tem como princípios: a prevenção e a precaução; o poluidor-pagador e o protetor-recebedor; a visão sistêmica, na gestão dos resíduos sólidos, considerando variáveis ambientais, sociais, culturais, econômicas, tecnológicas e de saúde pública; o desenvolvimento sustentável; a eco eficiência; a cooperação entre poder público, o setor empresarial e demais segmentos; responsabilidade pelo ciclo de vida dos produtos; valorização do resíduo sólido reutilizável e reciclável como um bem econômico e de valor social, gerador de trabalho e renda e promotor de cidadania; respeito às diversidades locais e regionais; direito à informação e ao controle social; e razoabilidade e proporcionalidade (BRASIL, 2010).

E entre os objetivos desta política destacam-se a não geração, redução, reutilização, reciclagem e tratamento dos resíduos sólidos, bem como disposição final ambientalmente adequada dos rejeitos; e incentivo ao desenvolvimento de sistemas de gestão ambiental e empresarial, voltados para a melhoria dos processos produtivos e para o reaproveitamento dos resíduos sólidos, incluindo a recuperação e o aproveitamento energético (BRASIL, 2010).

Entende-se por resíduos sólidos, material, substância, objeto ou bem descartado resultante de atividades humanas em sociedade, a cuja destinação final se procede, se propõe proceder ou se está obrigado a proceder, nos estados sólido ou semissólido, bem como gases contidos em recipientes e líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou em corpos d'água, ou exijam para isso soluções técnica ou economicamente inviáveis, em face da melhor tecnologia disponível (BRASIL, 2010).

Toda a sociedade é responsável pelo direcionamento dado aos resíduos sólidos. Fabricantes, importadores, distribuidores e comerciantes, consumidores e titulares dos serviços públicos de limpeza urbana e de manejo de resíduos sólidos compartilham a responsabilidade pelo ciclo de vida dos produtos (BRASIL, 2010). Essa é a mais nova legislação federal que vem em auxílio à proteção ambiental no país, trazendo avanços para o processo de gerenciamento dos resíduos sólidos (DIAS, 2010).

A PNRS tem precedentes, como a Lei nº 9605 (1998) que dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e o Decreto –Lei nº 5940 (2006), que determina nas repartições públicas federais, a separação e o envio de resíduos recicláveis a cooperativas de catadores, o que se configurou como um grande passo dado pelo movimento cooperativista no país.

Com o elevado consumo de plásticos por diversos países, inclusive o Brasil, está ocorrendo expressivo aumento dos resíduos sólidos, e assim colocando em risco a vida do planeta e de todos que nela habitam. A Figura 14 abaixo apresenta o perfil de consumo de plásticos de alguns países e do Brasil.

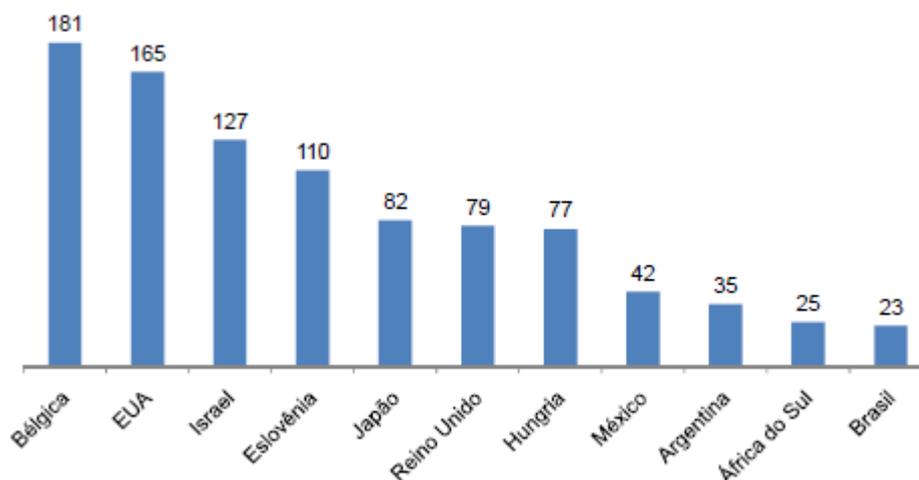


Figura 14. Consumo de plásticos - quilogramas per capita ao ano. (CIPAD, 2005)

No ano de 2010 o Brasil apresentou um consumo de plásticos de 30 kg/ per capita/ ano, indicando um grande aumento. No entanto, dados de 2007 mostram que o Brasil tem se empenhado em reaproveitar esses resíduos, principalmente através da reciclagem mecânica. Na Figura 15 encontra-se o índice de reciclagem mecânica de plásticos de alguns países, incluindo o Brasil.

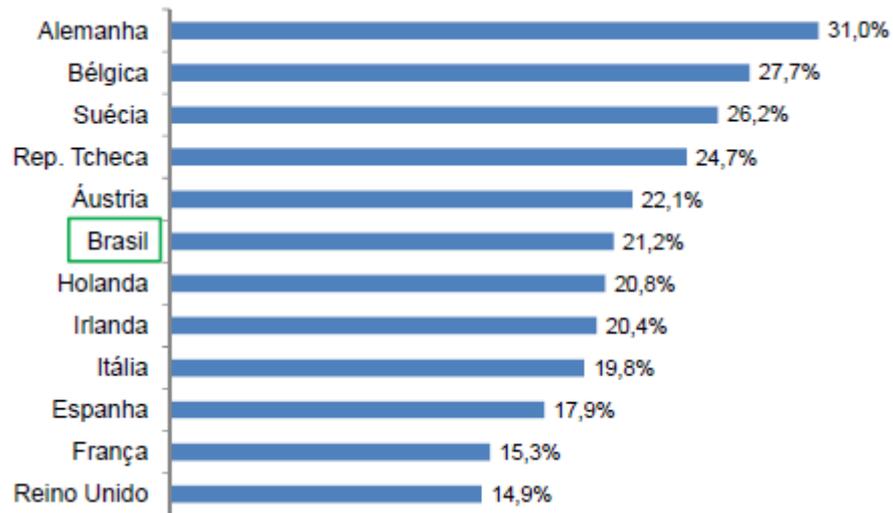


Figura 15. Índice de reciclagem mecânica de plásticos (IRMP) em países da União Europeia e Brasil (PLASTICS EUROPE, 2007).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

- Naveta de vidro borosilicato;
- Becher de vidro borosilicato com capacidade para 50, 100 e 300 mL;
- Balão volumétrico calibrado com capacidade para 10 e 100 mL;
- Frasco de vidro borosilicato com capacidade de 100 mL;
- Septo de silicone com uma das faces em teflon com diâmetro de 20 mm;
- Selador;
- Microseringa até 500 µL calibrada;
- Frasco de vidro para injetor automático de cromatógrafo a gás com capacidade para 2 mL;
- Frasco de vidro para injetor automático de cromatógrafo a gás com capacidade para 4 mL;
- Frasco de vidro para injetor automático de *headspace* com capacidade para 20 mL, de fundo chato;
- Lacre de alumínio para frasco de vidro de *headspace*, de 20 mL;
- Septos Barreira para frasco de vidro de *headspace*, de 20 mL, com face de alumínio – 20 mm;
- Septos para frasco de vidro para injetor automático de cromatógrafo a gás com capacidade para 2 mL;
- Septos para frasco de vidro para injetor automático de cromatógrafo a gás com capacidade para 4 mL ;
- Coluna DB 624, 75m x 0,53mm x 3,00 µm, Hewlett Packard *serial number* US8840814H ;
- Coluna DB-5, 30m x 0,25mm x 0,25 µm, feita de 5% fenilmetilpolisilicone;
- Coluna HP-INNOWAX, de 30m x 0,25mm x 0,5 µm;
- Septos de baixo sangramento para porta de injeção de cromatógrafo a gás Shimadzu GC-2010;
- Pipeta tipo Pasteur;
- Tampas de vidro de balão volumétrico;
- Pinça metálica;
- Bureta calibrada com capacidade de 10 mL;
- Proveta de vidro borosilicato com capacidade para 100 mL, 250 mL, 500 mL e 2 L;
- Pipeta graduada com capacidade para 10 mL;
- Ponteiras Eppendorf para micropipetas automáticas calibradas de volume variável de 10 a 1000 µL (Eppendorf)
- Luvas SENSIFLEX, com 100% de borracha nitrílica;
- Lacrador / Deslacrador de lacre de alumínio;
- Desumidificador de ambiente composto por cloreto de cálcio e adjuvantes, fabricado por SOIN.
- Cubetas para análise em espectrofotômetro, feitas de quartzo, 10 mm, da Hellma;
- Tubos de ensaio de 15 mL;
- Estante para tubos de ensaio;
- Espátulas de inox;
- Cartuchos Sep-Pak, C 18.

3.2 Equipamentos

- Refrigerador para amostras;
- Refrigerador para soluções e reagentes;
- Micropipetas automáticas calibradas de volume variável de 10 a 1000 µL (Eppendorf);
- Balança analítica Sartorius, modelo R200D com resolução de 0,1mg;
- Pipetador automático Accujet;
- Estufa Blue M modelo OV-475A-3 de 38° a 260°C;
- Estufa FANEM de meio de cultura B.O.D. modelo CD/2 de -10° a 60°C;
- Termômetro digital VWR com variação de -50°C a 70 °C calibrado;
- Capela de exaustão Engelab;
- Sistema de cromatografia a gás Shimadzu modelo GC-2010 composto por injetor automático Shimadzu AOC-20i, detector por ionização em chama (DIC) e computador para aquisição e processamento dos dados.
- Cromatógrafo a gás HP 6890 series / GC System
- *Headspace* HP 7694E, Hewlett Packard;
- Detector *Mass Selective*, 5973;
- Sistema Simplicity UV Milipore para obtenção de água tipo I;
- Espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-1601 PC, com *software* próprio;
- Programa GC Solution, para uso do cromatógrafo a gás;
- Banho ultrassônico da Branson, modelo 3200;
- Agitador de tubos MA 162, Marconi.

3.3 Reagentes e Padrões

- Acetonitrila com pureza 99,9% obtido da Vetec;
- Etanol com grau de pureza 95% obtido da Synth Laboratório;
- Metanol com grau de pureza 99,9% obtido da Vetec;
- Acetona para análise (P.A) da Vetec, além de acetona, água destilada e extran alcalino 5% preparados no laboratório, foram utilizadas para limpeza dos materiais;
- Acetaldeído P.S. com pureza de 99,5%, obtido da Vetec;
- 2-metil-1,3-dioxolano com pureza $\geq 98\%$, para CG, obtido da Fluka;
- 1,3-dioxolano com pureza $> 99\%$, obtido da MERCK;
- Etilenoglicol, com pureza $\geq 97\%$, obtido da MERCK;
- Dietilenoglicol obtido da Sigma;
- Trietilenoglicol com pureza $\geq 99\%$, obtido da MERCK;
- Benzeno P.A. com pureza de 99,5%, obtido da AGO;
- N,N-dimetilformamida pureza 99,9% obtido da MERCK;
- N,N-dimetilacetamida (DMA), pureza $> 99\%$, obtido da MERCK;
- Ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA) com pureza de 97%, obtido da Sigma-Aldrich.
- Ácido acético com grau de pureza 96% obtido da MERCK.
- 2-propanol, para CLAE, com pureza de 99,9%, obtido da Sigma.

3.4. Soluções

3.4.1 Soluções estoques de acetaldeído (AA)

Mediu-se em balança analítica calibrada 100 ± 10 mg de AA (pureza de 99,5%). Transferiu-se quantitativamente para um balão de 100 mL calibrado. Solubilizou-se com quantidade apropriada de água tipo I (no caso de curva de calibração em água) ou ácido

acético a 3% (em caso de curva de calibração em ácido acético 3%) ou DMF ou DMA, avolumando-se até a marca do balão.

A solução estoque possui concentração nominal de 1000 mg/L, sendo necessário determinar sua concentração verdadeira através da massa medida e do volume do balão contido no seu respectivo certificado de calibração. A solução foi preparada e usada logo em seguida, sem armazenamento, devido a característica volátil do acetaldeído.

3.4.2 Solução de acetaldeído a 100 mg/L (100 ppm)

Após o preparo da solução estoque, descrita acima, foram retirados desta cerca de 10 mL, transferindo-se para um balão de 100 mL calibrado. Solubilizou-se com água tipo I, avolumando até a marca do balão.

3.4.3 Soluções de acetaldeído a 6,0 mg/L (6 ppm)

Estas soluções foram utilizadas nos testes de migração. Foram retirados da solução estoque de acetaldeído (1000 mg/L) 3 mL, e transferidos para um balão de 500 mL calibrado. Solubilizou-se com água tipo I ou com ácido acético a 3% (simulantes dos testes de migração), avolumando até a marca do balão. Este volume é equivalente ao das garrafas de PET-PCR utilizadas nas análises finais deste trabalho (Figura 16).

3.4.4 Solução de ácido acético a 3%

A solução aquosa de ácido acético a 3 % foi preparada conforme um dos itens da Tabela 3:

Tabela 3. Preparo de ácido acético 3%

Sol. ácido acético 3%	Volume de ácido acético ≥ 96% (mL)	Água desionizada tipo I (mL)	Proveta (mL)
1	59,5	1940,5	2000
2	44,64	1455,4	1500
3	2,97	97	100

Considerou-se a fórmula $V = m/d$, onde a densidade do ácido acético é de 1,05. O volume de água foi adicionado com auxílio de uma proveta.

3.4.5 Solução estoque de ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA)

Para preparar a solução estoque do HBA, foi feita a medição em balança analítica calibrada de 126,8 mg de HBA, cujo grau de pureza é de 97% [com a correção da pureza, a massa seria de 123 mg (PEREIRA et al, 2004)]. Transferiu-se quantitativamente para um balão de 100 mL calibrado. A solubilização ocorreu em quantidade apropriada de água tipo I com acetoneitrila (ACN), em proporção de 1:1, e avolumou-se até a marca do balão. A concentração nominal desta solução foi de 1230 mg/L.

3.4.6 Solução Trabalho

Foi medida aproximadamente 10 mL da solução estoque, através de pipeta volumétrica de 10 mL. Transferiu-se para balão de 100 mL, calibrado, e se avolumou até a marca com água tipo I e ACN, em proporção de 1:1. A concentração corrigida foi de 123 mg/L, conforme trabalho de PEREIRA et al (2004).

Tanto a solução estoque de HBA quanto a solução de trabalho podem ser visualizados na Figura 16.

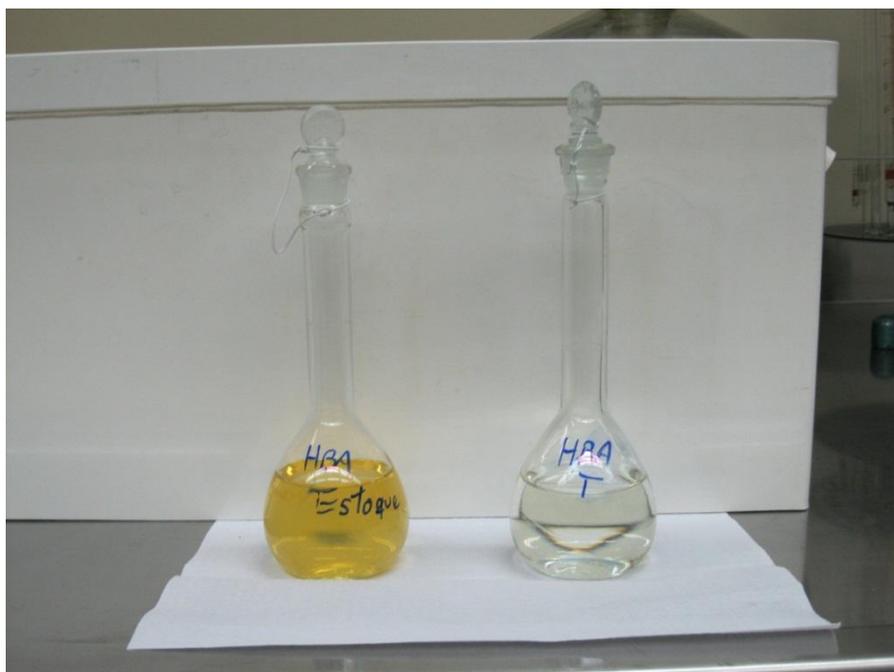


Figura 16. Solução estoque ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA) e solução de trabalho (1230 e 123 mg/L, respectivamente).

3.5. Amostras

Foram realizados estudos pilotos que se diferenciaram quanto ao tipo de amostra usada, e quanto às análises, antes de se chegar ao estudo final. As amostras eram em sua maioria feitas de PET, com resina 100% reciclada. Apenas no primeiro estudo piloto foram usados *pellets* de resina virgem.

Os *pellets*, tanto virgens (Figura 17) quanto reciclados (Figura 18), foram obtidos do Instituto de Macromoléculas (IMA-UFRJ), e ficaram guardadas em sacos plásticos, dentro da geladeira (aproximadamente 7° C).



Figura 17. *Pellets* de resina virgem



Figura 18. *Pellets* de resina reciclada

Em outro momento, foram usadas garrafas PET, de 900 ml, feitas a partir de resina 100% reciclada (Figura 19). São garrafas tipo embalagem de material de limpeza. O armazenamento foi feito em armários de fórmica, com ausência de solventes e reagentes.



Figura 19. Garrafa PET de resina 100% reciclada, de 900 mL.

Como o fornecedor das garrafas PET citadas acima parou de produzir embalagens recicladas, passando a usar apenas resina virgem, nas análises seguintes foram usadas garrafas fabricadas por outra empresa. Eram garrafas de 500 ml (Figura 20), feitas também de resina 100% reciclada, fabricadas para o envase de detergente. O armazenamento também foi feito em armários de fórmica, com ausência de solventes e reagentes, e uso de anti-mofo, para evitar umidade no ambiente interno do armário.



Figura 20. Garrafa PET de resina 100% reciclada, com tampa, de 500 mL.

Já nas análises finais deste trabalho foram usadas garrafas de 500 ml PET-PCR de resina 100% reciclada (técnica *bottle-to-bottle*), fabricadas por uma terceira empresa (Figura 21). Por serem garrafas de água mineral, estão mais próximas da realidade do mercado de bebidas não-alcoólicas. O armazenamento também foi feito em armários de fórmica, com ausência de solventes e reagentes, e uso de anti-mofo, para evitar umidade no ambiente interno do armário.



Figura 21. Garrafa PET de água mineral, com resina 100% reciclada, e com tampa, de 500 mL.

3.6 Análises para Determinação de Contaminantes em PET – PCR

A maior parte das análises ocorreu no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), na Fiocruz, unidade de Manguinhos.

Os padrões de possíveis contaminantes utilizados na análise feita no Cromatógrafo a gás, com *Headspace*, para identificar os picos cromatográficos encontrados nas embalagens plásticas nesta análise, foram utilizados os seguintes padrões: acetaldeído; 2-metil-1,3-dioxolano; 1,3- dioxolano; etilenoglicol; dietilenoglicol; trietilenoglicol e benzeno.

3.6.1 Primeiro estudo piloto

No primeiro estudo piloto os *pellets* de resina virgem e resina reciclada (Figuras 17 e 18) foram colocados em frascos de vidro para *headspace* (*vials*) individuais, em quantidade equivalente a 1/3 do frasco, e cada padrão em frascos na quantidade de 5 μ L. As amostras e os padrões foram colocados no carrossel do *heaspace*, na seguinte ordem: branco (frasco vazio) \rightarrow acetaldeído \rightarrow etilenoglicol \rightarrow dietilenoglicol \rightarrow trietilenoglicol \rightarrow 1,3-dioxolano \rightarrow 2-metil-1,3-dioxolano \rightarrow *pellets* de PET virgem \rightarrow *pellets* de PET reciclado.

Após vaporização no *headspace*, a 150°C, por 1h, os padrões e as amostras foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-624; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min \rightarrow 68 °C (3 min) 2°C/min \rightarrow 88°C(3 min) 5°C/min \rightarrow 180°C (3 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

3.6.2 Determinação de acetaldeído em PET-PCR

Com garrafas de PET feitas de resina 100% reciclada (Figura 19), cortadas na forma de flocos, foram realizadas análises com metodologia similar à do primeiro estudo piloto, a fim de identificar a presença de contaminantes no PET-PCR, principalmente acetaldeído.

a) *Headspace a 150°C*

Flocos de garrafa PET-PCR (Figura 19) foram colocados em frascos de vidro para *headspace* (*vials*), em quantidade equivalente a 1/2 do frasco, e os reagentes padrões na quantidade de 5 µL. Os procedimentos foram utilizados em duplicata.

As amostras e os padrões foram colocados no carrossel do *heaspace*, na seguinte ordem: branco (frasco vazio) → água tipo I → solução de acetaldeído a 100 mg/L → 1,3-dioxolano → trietilenoglicol → flocos de PET reciclado.

Após vaporização no *headspace*, a 150°C, por 1h, os padrões e as amostras foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-624; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68 °C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (15 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

b) *Headspace a 60°C, coluna DB-624*

Inicialmente foi analisado apenas o acetaldeído, sem os flocos de PET-PCR, a fim de identificar o tempo de retenção do acetaldeído. Houve mudança na temperatura do forno do HD. Soluções com acetaldeído diluído foram usadas na tentativa de reduzir o tamanho dos picos nos cromatogramas, e facilitar a visualização.

No carrossel do HD, foram colocados: branco (frasco vazio) → solução aquosa de acetaldeído a 1,0 mg/L → solução aquosa de acetaldeído a 10 mg/L → acetaldeído concentrado (padrão).

Após vaporização no *headspace*, a 60°C, por 1h, o padrão e as soluções de acetaldeído foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-624; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68 °C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (15 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

c) *Headspace a 60°C, coluna DB-5*

Foi feita alteração da coluna. No carrossel do HD, foram colocados: branco (frasco vazio) → *pellets* de resina virgem → flocos de PET-PCR → solução aquosa de acetaldeído a 10 mg/L.

Após vaporização no *headspace*, a 60°C, por 1h, o padrão e as soluções de acetaldeído foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-5; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68 °C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (15 min); tempo maior que nas análises anteriores); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

d) *Headspace a 80°C, coluna DB-5*

Flocos de garrafa PET-PCR (Figura 19) e *pellets* de resina virgem (Figura 17) foram colocados em frascos de vidro para *headspace* (*vials*), em quantidade equivalente a 1/2 do frasco, e os reagentes padrões na quantidade de 5 µL.

As amostras e os padrões foram colocados no carrossel do *heaspace*, na seguinte ordem: branco (frasco vazio) → *pellets* de resina virgem → flocos de PET reciclado → solução de acetaldeído a 10 mg/L

Após vaporização no *headspace*, a 80°C, por 1h, os padrões e as amostras foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-5; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68 °C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (15 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

e) *CG-EM com injeção direta via Chromatoprobe e adição de DMA*

Para confirmar a presença de AA nas amostras de garrafa PET-PCR (Figura 19), foi feita análise em cromatografia gasosa (CG) acoplada a detector por espectrometria de massa (EM) via Chromatoprobe, acessório acoplado ao injetor do CG, favorecendo injeção direta da amostra em condições de pressão e temperatura variáveis (PTV).

Em frasco de vidro de 20 mL, para *headspace*, foram colocados os flocos de garrafa, ocupando ½ do frasco, e 10 mL de N,N-dimetilformamida (DMF), para que ficassem em contato por 7 dias, e assim favorecer a extração de AA das amostras. O mesmo foi feito com os *pellets* de resina virgem (Figura 17), em outro frasco, para fins de comparação. Os frascos ficaram lacrados. Após 7 dias, alíquotas dos extratos presentes nos vials foram retiradas e injetadas no CG.

A injeção em PTV teve como rampa: 30°C 10°C/min → 100°C.

A rampa da coluna (DB-5) do CG foi: 30°C 10°C/min → 100°C 20°C/min → 300°C.

f) *Headspace a 60°C, coluna DB-5 e uso de DMF para extração*

Foram usados os extratos da análise anterior, na quantidade de 1 µL. A ordem dos vials foi: branco → extrato de PET-PCR → extrato de PET virgem → 2 µL de solução de acetaldeído em DMF a 1,5 mg/L

Após vaporização no *headspace*, a 60°C, por 1h, as amostras e solução foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-5; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68 °C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (15 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

g) *Headspace a 60°C, coluna DB-5, uso de DMF e DMA para extração e rampa iniciando a 30°C*

Cerca de 3g de flocos de PET-PCR e 3g de resina virgem ficaram em contato com 10 mL de DMF por 24h e 48h. Após esse tempo de contato, e possível extração, foram retirados 2 µL de cada extrato e colocados em frascos de 20 mL de HD, para serem analisados. O mesmo foi feito com o reagente N,N-dimetilacetamida (DMA), pela semelhança química com o DMF, e para verificar se também seria um bom extrator de AA a partir do PET.

A ordem dos frascos foi: branco (frasco vazio) → extrato de *pellets* de resina virgem, após 24h de contato → extrato de *pellets* de resina virgem, após 48h de contato → extrato de flocos de PET reciclado, após 24h de contato → extrato de flocos de PET reciclado, após 48h de contato → DMF puro → solução de acetaldeído em DMF a 1,0 mg/L.

Após vaporização no *headspace*, a 60°C, por 1h, as soluções foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-5; rampa da coluna: 30°C (6 min) 1°C/min 35°C (5 min) 1°C/min → 37°C (3 min) 1°C/min → 45°C (3 min) 5°C/min → 88°C (3 min) 10°C/min → 180°C (15 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

h) *Sem headspace, coluna DB-624, extração com isopropanol, novas garrafas de PET-PCR*

Análise sem *headspace*, apenas com CG acoplado a detector DIC, e uso de garrafas PET-PCR de outro fabricante (Figura 20). Dessa vez o solvente testado foi o isopropanol.

Ordem dos frascos: branco → isopropanol → solução de AA em isopropanol a 6,0 mg/L → extrato de flocos de PET-PCR em isopropanol → solução de AA em isopropanol a

1000 mg/L. Condições cromatográficas: volume de injeção- 2 µL; *splitless* (injeção direta); temperatura de injeção: 80°C; rampa da coluna: 50°C (5 min) 10°C/min → 200°C (15 min)

3.6.3 Métodos de análise de migração de acetaldeído a partir de PET-PCR em bebidas não-alcoólicas

a) *Uso de cartucho Sep-pak (C 18)*

Cartuchos Sep-pak (C 18) foram usados na tentativa de reter o acetaldeído, após a realização da extração deste contaminante do PET-PCR com isopropanol ou acetonitrila (ACN). A seguir encontra-se o esquema do procedimento utilizado (Figura 22).

Passar 10 mL de metanol pelo cartucho SEP-PAK (para ativá-lo).



Velocidade de 5 a 10 mL/min

Passar solução de acetaldeído em água a 6 mg/L, em volume igual ao da garrafa PET-PCR (500 mL).



Velocidade de 2 a 10 mL/min

Extrair o AA com acetonitrila ou isopropanol.



Recolher o extrato, e analisar no CG, para ver se aparece acetaldeído. Ordem da batelada: extrato da filtração de AA em água / solvente extrator / AA a 1000 mg/L em água.

Figura 22. Procedimento para ativação de cartuchos Sep-pak (C 18) e extração de acetaldeído.

Como os simulantes para água e refrigerantes são água destilada e ácido acético a 3% (conforme está detalhado no item 3.7), estes serão usados no estudo de migração. Como teste foi usado solução de AA em água ou ácido acético a 3% na concentração de 6,0 mg/L.

1ª ordem dos frascos: branco → 2,0 µL de extrato de isopropanol após passagem de água pura pelo cartucho → 2,0 µL de extrato de isopropanol após passar solução de AA em água a 6,0 mg/L. O volume de 2,0 µL foi utilizado em todas as injeções.

2ª ordem dos frascos: branco → ACN pura → ACN após passagem pelo cartucho → extrato de ACN após passagem de solução de AA em ácido acético a 3% a 6,0 mg/L.

Não foi usado *headspace*, apenas CG acoplado a detector DIC. Condições cromatográficas: volume de injeção - 2 µL; *splitless* (injeção direta); temperatura de injeção: 200°C (de 80°C elevou-se para 200°C para evitar que a água apagasse a chama do detector); rampa da coluna: 50°C (5 min) 10°C/min → 200°C (15 min).

b) *Reagente Purpald*

Este ensaio químico baseou-se no trabalho de QUESENBERRY & LEE (1995), onde é utilizado o reagente Purpald (4-amino-3-hidrazino-5-mercaptop-1,2,4-triazol) para reagir, por condensação, com o aldeído investigado, no caso o acetaldeído, e formar um composto intermediário que é em seguida oxidado, formando um produto colorido. A absorvância deste produto é lida no espectrofotômetro a 550 nm. Na Figura 23 encontra-se o esquema que representa esta reação.

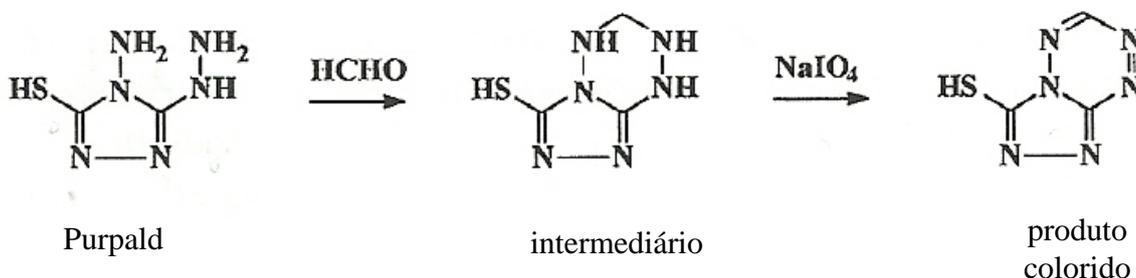


Figura 23. Reação com Purpald.

c) *Derivatização por HBA*

O segundo ensaio químico foi o sugerido por PEREIRA et al (2004), que utiliza o ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA) como agente de derivatização para compostos carbonílicos (aldeído, p.ex.). A hidrazina formada é quantificada no espectrofotômetro, em comprimento de onda de 290 nm. A ilustração da reação de derivatização de aldeídos com o reagente HBA encontra-se na Figura 6.

3.6.4 Estudo conclusivo

No estudo final foram feitos dois tipos de análises, a fim de confirmar a presença de possíveis contaminantes, em especial o acetaldeído, nas embalagens de garrafa PET PCR fabricadas para envase de água mineral (Figura 21), e posteriormente foram realizados os testes de migração.

Na primeira análise, com uso de luvas, amostras das garrafas PET-PCR foram cortadas em flocos, pesadas até chegarem a 5 g, e foram envasadas em frasco de vidro para *headspace*, de 20 ml (em 2 frascos). Em um dos frascos de vidro contendo flocos de garrafa PET PCR, foi adicionada 1 µL de solução aquosa de AA, a 10 ppm, para efeito de fortificação da amostra.

Equipamentos: *Headspace* (HD) acoplado a cromatógrafo a gás (CG), com coluna DB-624 75 m x 0,53mm x 3,00 µm, e detector por ionização em chama (DIC).

A temperatura de equilíbrio do *Headspace* foi 60° C, por 1h, e as condições cromatográficas foram:

- a) vaporizador: com divisão de fluxo;
- b) coluna: DB-624 (75mm x 0,53 mm x 3,00 µm);

- c) temperatura do injetor: 150°C
- d) temperatura do detector: 240°C
- e) rampa de temperatura da coluna: 50°C (15 min) $\xrightarrow{5^\circ\text{C}/\text{min}}$ 180°C (15 min)
- f) volume injetado da solução padrão de acetaldeído: 1 μL
- g) fluxo de He: 3,58 mL/min
- h) fluxo de H₂: 40 mL/min
- i) fluxo de ar: 400 mL/min
- j) modo de injeção: direta
- k) tempo de amostragem: 1 min

Ordem dos *vials* analisados: Branco (frasco vazio) / flocos da garrafa PET reciclada / 5 ml de solução de acetaldeído em água, a 10 ppm / PET reciclado fortificado com acetaldeído a 10 ppm / Branco / 1 μL de acetaldeído padrão / 1 μL de 2-metil-1,3-dioxolano / 1 μL 1,3-dioxolano / 1 μL etilenoglicol / 1 μL de dietilenoglicol.

A segunda análise aconteceu no Instituto Nacional de Tecnologia (INT). Amostras das garrafas PET-PCR (Figura 21) foram cortadas em flocos, pesadas até chegarem a 3 g, e foram envasadas em frasco de vidro para *headspace*, de 20 ml (em 1 frasco). *Pellets* de resina virgem de PET (Figura 17), e de resina reciclada (Figura 18), também foram pesados, até 5 gramas, e envasados nos frascos de vidro para *headspace*, para fins de comparação com os flocos de garrafa PET-PCR.

Equipamentos: *Headspace* (HD) acoplado a cromatógrafo a gás (CG), e detector por espectrometria de massa (EM).

A temperatura de equilíbrio do *Headspace* foi 60° C, por 30 min, com agitação, e as condições cromatográficas foram:

- a) vaporizador: com divisão de fluxo;
- b) coluna: HP INNOWAX (30 m x 0,25 mm x 0,5 μm), polietilenoglicol, polar, capilar;
- c) temperatura do injetor: 220° C
- d) detector: a vácuo;
- e) EM source fonte 230
- f) quadrupolo: 150
- g) energia de partição das moléculas: 70 EV
- h) faixa massa: 15-300 massa carga
- i) rampa de temperatura da coluna: 40°C (3 min) $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{min}}$ 250°C (6 min)
- j) volume injetado do padrão de acetaldeído: 1 μL
- k) fluxo de He: 1,0 mL/min
- l) modo de injeção: com divisão de fluxo
- m) tempo de amostragem: 8 min
- n) razão de divisão de fluxo: 1/50
- o) temperatura de interface: 250°C

Ordem dos frascos de vidro analisados: flocos da garrafa PET reciclada / resina de PET virgem / resina de PET reciclada / branco (frasco vazio) / acetaldeído padrão / PET garrafa fortificado com solução de acetaldeído em água a 15,8 ppm / 5 mL de água tipo I.

3.7 Método de Ensaio de Migração

O método de ensaio fundamenta-se na transferência de resíduos de PET, presentes em garrafas usadas para embalagem de bebidas não-alcoólicas, para um simulante que imita as características das bebidas.

Aqui, o ensaio de migração propõe o contato de 500 mL dos simulantes selecionados (BRASIL, 2010), que foram água destilada, simulando água mineral, e ácido acético a 3%, simulando sucos e refrigerantes (Tabela 3).

A Resolução nº 51, de 26 de novembro de 2010 (BRASIL, 2010), determina que quando no rótulo da embalagem ou artigo plástico for indicado que o mesmo pode ser utilizado em contato com alimentos a temperatura ambiente ou menor, ou quando por sua natureza a embalagem ou artigo plástico está claramente destinado a ser utilizado em contato com alimentos a temperatura ambiente, ou menor, o ensaio de migração será realizado durante '10 dias a 40°C'.

Portanto, assim foi feito tanto com as garrafas PET-PCR contendo apenas água destilada, quanto com as garrafas contendo ácido acético a 3%. Três de cada tipo de amostra foram colocados em estufa BOD, nas condições citadas acima.

Outra condição utilizada baseou-se na ISO Guide 35 (ISO 2006), que diz que para avaliar a estabilidade a curto prazo, as temperaturas das amostras podem variar entre -50°C até 70° C. A partir disso, para simular uma situação real, como durante o transporte de distribuidores de bebidas, por exemplo, três garrafas PET-PCR com água, e três com ácido acético, foram submetidas a '60° C, em estufa, por 4 horas'.

Para identificar uma situação hipotética em que ocorra a migração de acetaldeído para a bebida não-alcoólica, foram utilizadas juntas no teste de migração as duas condições extremas usadas antes separadamente: armazenamento a '60° C e por 10 dias'. Desta vez foram também colocadas na estufa duas garrafas de PET-PCR contendo solução de água com acetaldeído, em concentração já definida, de 6,0 mg/L. Estas últimas foram submetidas à reação com ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA), e à leitura no espectrofotômetro antes mesmo de serem colocadas na estufa BOD por 10 dias, para se ter uma confirmação se houve ou não alteração da concentração de acetaldeído na solução (Tabela 4).

Tabela 4. Condições de tempo e temperatura usadas no teste de migração

Tempo	Temperatura
4h	60°C
10 dias	40°C
10 dias	60°C

Ao final do ensaio, as garrafas foram colocadas em geladeira, em torno de 7°C, por 1 dia, para minimizar a perda de acetaldeído durante a abertura da garrafa (EWENDER & WELLE, 2008). Após 1 dia em geladeira, as garrafas foram tiradas e deixadas a temperatura ambiente, por algumas horas, para em seguida iniciar a reação química com HBA (Figura 24).



Figura 24. Amostras de garrafas PET-PCR cheias com simulantes, usadas nos ensaios de migração.

Alíquotas de 8 mL de cada simulante envasado nas garrafas PET-PCR foram retiradas e transferidas para tubos de ensaio, para reagir com 2 mL de água tipo I ou ácido acético a 3% (dependendo do simulante em questão) e 5 mL de solução de HBA 123 ppm (Figura 25). Após 15 minutos de reação, o produto final foi levado ao espectrofotômetro para detecção e quantificação do acetaldeído a 290 nm.

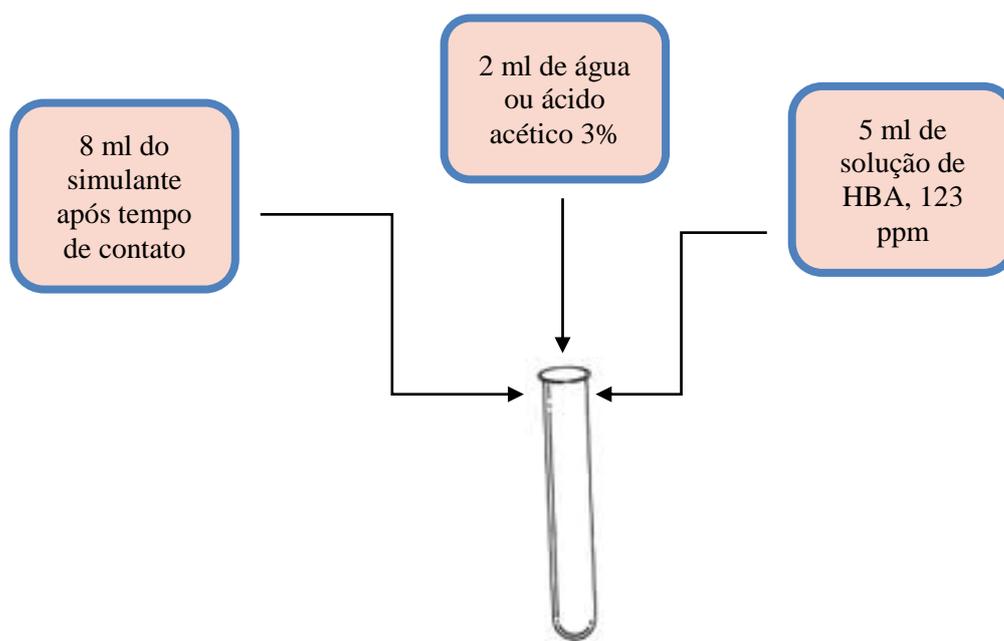


Figura 25. Reação química com ácido 4-hidrazinobenzóico

Foi feita análise da absorvância de simulantes contendo AA a 6 mg/L, envasados nas garrafas PET-PCR, antes e depois de irem para a estufa a 60°C, por 4h (uma das condições de migração), a fim de verificar se há muita alteração na concentração de acetaldeído. Foi considerada esta concentração nas análises experimentais, por ser o valor determinado pela Comissão de Diretiva da União Européia (EC, 2002) como sendo o limite de migração específica de acetaldeído. Além disso, realizou-se também reação química com HBA recém-preparado, e HBA deixado de um dia para o outro, a fim de avaliar a estabilidade deste regente, e sua possível interferência nos resultados.

3.8 Orientações para Proteção Individual e Coletiva

Equipamento de proteção individual como luvas e jaleco; e equipamento de proteção coletiva como capelas de exaustão química foram utilizados durante a condução dos ensaios.

3.9 Validação Intralaboratorial

O procedimento para validação intralaboratorial foi basicamente descrito por SOUZA (2007). A adequação ao propósito do método foi determinada a partir dos resultados de parâmetros como linearidade, limites de detecção e quantificação.

3.9.1 Linearidade

A linearidade foi realizada através de ensaios com soluções padrão de acetaldeído. Foi preparada uma curva analítica $y = a + bx$, com níveis de concentração igualmente espaçados: 1,5; 3,0; 4,5; 6,0; 7,5; 9,0 e 10,5 mg/L, sendo três repetições de leitura de cada nível, e para cada simulante, ou seja, água destilada tipo I e ácido acético a 3%. As soluções foram preparadas e analisadas aleatoriamente. Brancos foram preparados para zerar o equipamento.

A linearidade foi avaliada através da estimativa dos parâmetros pelo método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO), inspeção visual dos dados e gráficos e tratamento de valores aberrantes. O MMQO, que minimiza a soma dos quadrados dos resíduos (erros) da regressão é utilizado para estimar os parâmetros de regressão. Os valores aberrantes foram tratados pelo teste de resíduos padronizados Jackknife, o qual foi aplicado consecutivamente até que novos valores aberrantes não fossem detectados ou até exclusão máxima de 22,2% do número de análises (BELSEY, KUH e WELSCH, 1980; HORWITZ, 1995). O MMQO parte da premissa que os resíduos seguem a distribuição normal, têm variância constante ao longo do eixo x e são independentes. Tais premissas relacionadas à análise de regressão foram avaliadas quanto à normalidade por RYAN E JOINER (1976); homoscedasticidade por LEVENE (1960) e BROWN E FORSYTHE (1974); e independência dos resíduos da regressão por DURBIN E WATSON (1951). O teste F foi conduzido para verificar o ajuste ao modelo linear por meio da avaliação da significância da regressão (DRAPER e SMITH, 1998).

Estimativas dos parâmetros pelo MMQO

Num primeiro momento, há a inspeção visual dos dados e a construção do gráfico das respostas analíticas versus concentrações do analito. Os parâmetros da regressão α e β são estimadas como a e b , respectivamente, correspondentes aos valores que minimizam a soma

de quadrados dos resíduos da regressão $\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$, sendo \hat{y}_i o valor estimado de y_i para um dado valor de x_i quando a e b são determinados.

As estimativas de inclinação b e interseção a da reta ajustada estão demonstradas nas Equações E.1 e E.2, respectivamente.

$$b = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} \quad \text{Equação E.1}$$

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad \text{Equação E.2}$$

sendo

$$S_{xy} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i - \sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{n}$$

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

x_i = concentração conhecida do analito

y_i = resposta medida

n = número de pontos da curva de calibração

Para cada concentração x_i , no qual uma resposta y_i está disponível, o resíduo e_i é dado pela equação E.3

$$e_i = y_i - \hat{y}_i \quad \text{Equação E.3}$$

sendo

\hat{y}_i = variável estimada pela equação de regressão

As variâncias de inclinação s_b^2 , da interseção s_a^2 e dos resíduos da regressão s_{res}^2 são calculadas pelas equações E.4, E.5 e E.6.

$$s_b^2 = \frac{s_{res}^2}{S_{xx}} \quad \text{Equação E.4}$$

$$s_a^2 = s_{res}^2 \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{nS_{xx}} \quad \text{Equação E.5}$$

$$s_{res}^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2} \quad \text{Equação E.6}$$

O coeficiente de determinação do ajuste R^2 é definido pela equação E.7.

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad \text{Equação E.7}$$

Os valores estimados para a inclinação e interseção, assim como as suas respectivas variâncias, são utilizados para construir a equação a ser utilizada para estimar as concentrações de amostras. Os resíduos da regressão computados são empregados nos testes subsequentes.

Tratamento de valores aberrantes

O gráfico dos resíduos da regressão versus os níveis de concentração é construído. Duas linhas pontilhadas horizontais correspondentes a $t_{(1-\alpha/2; n-p-1)}$ são utilizadas para indicar uma variabilidade aceitável entre os resíduos de regressão, sendo os pontos fora desses limites entendidos como tendências. Os valores aberrantes são avaliados pelo método de resíduos padronizados Jacknife, cuja estatística é o resíduo padronizado Jacknife J_{ei} , calculado para cada ponto da curva analítica e descrito na equação E.8.

$$J_{ei} = r_i \sqrt{\frac{n-p-1}{n-p-r_i^2}}$$

sendo

p = número de parâmetros do modelo

$r_i = \frac{e_i}{s_{ei}}$, resíduo padronizado

$s_{ei} = s_{res} \sqrt{1-h}$, erro padrão do resíduo

$h_i = \frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{S_{xx}}$, leverage

Os resíduos padronizados Jacknife seguem a distribuição de $t_{(1-\alpha/2; n-p-1)}$. Valores de J_{ei} maiores que o valor de t crítico para o nível de significância 0,05 foram considerados aberrantes (BELSLEY, KUH e WELSCH, 1980) e removidos até o limite percentual de 22,2% dos dados tratados (HORWITZ, 1995) ou até a última repetição de um nível de concentração. O MMQO foi recalculado a cada exclusão de valores aberrantes.

Teste de normalidade

A normalidade dos resíduos da regressão foi avaliada pelo teste de Ryan-Joiner, que se utiliza do teste de hipóteses para confirmar se os resíduos seguem a distribuição normal e, portanto, os desvios da normalidade não seriam significativos.

A estatística do teste é o coeficiente de correlação de Ryan-Joiner R . A hipótese nula é rejeitada se os coeficientes R são inferiores aos valores críticos estabelecidos. Os resíduos foram colocados em rol e foi construído um gráfico dos valores dos resíduos *versus* valores percentis estimados para uma distribuição normal reduzida. Um gráfico dos resíduos ordenados de uma amostra (e_i) de tamanho n versus os pontos dos percentis de uma distribuição normal reduzida (q_i) foi construído. Os quantis normais foram obtidos pela equação E.9.

$$q_i = \phi^{-1} \left\{ \frac{(i-3/8)}{(n+1/4)} \right\}, i = 1, \dots, n \quad \text{Equação E.9}$$

sendo

q_i = valor normal esperado

ϕ^{-1} = inverso de uma função de distribuição normal padrão

O coeficiente de correlação entre e_i e q_i foi calculado conforme equação E.10

$$R_{eq} = \frac{S_{eq}}{\sqrt{S_{ee} \times S_{qq}}} \quad \text{Equação E.10}$$

sendo

$$S_{eq} = \sum_{i=1}^n (e_i - \bar{e})(q_i - \bar{q}) = \sum_{i=1}^n e_i q_i - \sum_{i=1}^n e_i \sum_{i=1}^n q_i / n$$

$$S_{ee} = \sum_{i=1}^n (e_i - \bar{e})^2 = \sum_{i=1}^n e_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n e_i \right)^2 / n$$

$$S_{qq} = \sum_{i=1}^n (q_i - \bar{q})^2 = \sum_{i=1}^n q_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n q_i \right)^2 / n$$

$$\bar{e} = \frac{\sum_{i=1}^n e_i}{n}$$

$$\bar{q} = \frac{\sum_{i=1}^n q_i}{n}$$

Se o gráfico obedecer a uma linha reta, os dados seguem uma distribuição normal. Caso contrário, o gráfico apresentará algum grau de curvatura ou distribuição aleatória de dados e os mesmos serão provenientes de uma outra distribuição de probabilidade.

Os coeficientes de correlação críticos para conjunto de dados pertencentes à distribuição normal foram obtidos para o nível de significância igual a 0,05 pela equação E.11 (RYAN e JOINER, 1976). Dessa forma, o resultado gráfico pôde ser confirmado pelo cálculo do coeficiente R .

$$R_{crit} \approx 1,0063 - \frac{0,1288}{\sqrt{n}} - \frac{0,6118}{n} + \frac{1,3505}{n^2} \quad \text{Equação E.11}$$

Teste de homoscedasticidade das variâncias dos resíduos

O teste de Levene (LEVENE, 1960) modificado por BROWN e FORSYTHE (1974) foi utilizado para avaliar a homogeneidade das variâncias, a partir da hipótese nula de que as variâncias dos resíduos da regressão não diferem entre si, ou seja, há homoscedasticidade. Para a hipótese alternativa as variâncias dos resíduos seriam diferentes, havendo, no caso, heteroscedasticidade. A estatística do teste é o F de Levene F_L .

No caso em questão, os resíduos foram divididos em dois grupos n_1 e n_2 , para 1 grau de liberdade, em que $t = \sqrt{F}$, e calculou-se a estatística t de Levene t_L . A hipótese nula é descartada quando t_L for superior ao t crítico $t_{(1-\alpha/2; n_1+n_2-2)}$. Os grupos foram distribuídos equitativamente, tendo o cuidado para não separar repetições de um mesmo nível em grupos distintos. As medianas dos resíduos de cada grupo \tilde{e}_1 e \tilde{e}_2 foram calculadas e obtidas as diferenças absolutas entre as medianas e os resíduos dos respectivos grupos $d_{1j} = |\tilde{e}_1 - e_{1j}|$ e $d_{2j} = |\tilde{e}_2 - e_{2j}|$. A média das diferenças \bar{d}_k e a soma dos quadrados dos desvios SQD_k dos valores \bar{d}_{kj} de cada grupo $k=1$ e $k=2$ foram calculadas. O valor de t_L foi obtido pela equação E.12.

$$t_L = \frac{(\bar{d}_1 - \bar{d}_2)}{\sqrt{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right) s_p^2}} \quad \text{Equação E.12}$$

sendo

$\bar{d}_k = \sum |\tilde{e} - e_{kj}| / n_k$, média dos módulos das diferenças entre o j-ésimo resíduo e a mediana de cada grupo $k=1$ e $k=2$

n_k = número de observações em cada grupo

\tilde{e}_k = mediana de cada grupo

$s_p^2 = \frac{(SQD_1 + SQD_2)}{(n_1 + n_2 - 2)}$, variância combinada

$SQD_k = \sum_{j=1}^{n_k} (\tilde{e}_k - e_{kj})^2$, soma dos quadrados dos desvios entre cada j-ésimo resíduo e a mediana de seu k-ésimo grupo, para cada grupo.

Caso t_L seja inferior ao valor crítico $t_{(1-\alpha/2; n_1+n_2-2)}$, há a indicação de homoscedasticidade, não havendo razões para rejeitar a hipótese nula e acreditar que a variância dos resíduos não seja constante. A significância p também deve ser superior a 0,05 (LEVENE, 1960; BROWN e FORSYTHE, 1974).

Teste de independência dos resíduos

A não autocorrelação ou independência dos resíduos da regressão é verificada pelo teste de Durbin-Watson, considerando-se a hipótese nula de que não há autocorrelação entre os resíduos, ou seja, são independentes; e a hipótese alternativa de que há autocorrelação entre os resíduos e, portanto, não são independentes. Assumindo-se que os resíduos e_i são variáveis independentes, a autocorrelação entre os resíduos seria $\rho_s = 0$ (hipótese nula).

Essa hipótese foi testada contra a alternativa em que $\rho_s = \rho(\rho \neq 0 \text{ e } |\rho| < 1)$. A estatística de Durbin-Watson é a ferramenta utilizada para a avaliação e está descrita na equação E.13.

$$d = \frac{\sum_{i=2}^n (e_i - e_{i-1})^2}{\sum_{i=1}^n e_i^2} \quad \text{Equação E.13}$$

Para cada grupo de dados, existem dois limites críticos d_L (inferior) e d_U (superior). Caso o valor de d esteja entre esses limites, o teste é inconclusivo. Valores de $d_L < d$ indicam autocorrelação e a hipótese nula é rejeitada para um nível de significância de 2α ; enquanto valores de $d > d_U$ indicam independência e a não rejeição da hipótese nula. O valor de d varia de zero a quatro. Se o valor converge para dois significa que não há autocorrelação e os resíduos são independentes. No mesmo sentido, se os valores se afastam de dois para zero ou quatro, então, a autocorrelação aumenta. Geralmente, valores entre 1,5 e 2,5 podem ser utilizados como ponto de corte inferior e superior (DURBIN e WATSON, 1951). Os valores limites de d são estimados pelas equações E.14 e E.15 para nível de significância igual a 0,05.

$$d_L \approx 1,9693 - \frac{2,8607}{\sqrt{n}} - \frac{3,4148}{n} + \frac{16,6400}{n^2} \quad \text{Equação E.14}$$

$$d_U \approx 1,9832 - \frac{3,0547}{\sqrt{n}} - \frac{1,3862}{n} + \frac{16,3662}{n^2} \quad \text{Equação E.15}$$

Teste de significância da regressão e do desvio da linearidade

Para a realização do teste, a variabilidade total das respostas é dividida em soma do quadrado dos resíduos da regressão (em torno da regressão) e soma dos quadrados devido à regressão. A soma de quadrados dos resíduos da regressão é separada em soma dos quadrados do desvio da linearidade (falta de ajuste ao modelo) e soma dos quadrados do erro puro. A segmentação da variabilidade total das respostas, em soma de quadrados entre níveis e soma de quadrados do erro puro (dentro dos níveis), também foi feita para auxiliar os cálculos.

A tabela de análise de variância para o teste é construída a partir das equações dispostas na Tabela 5. A estatística do teste é a razão entre as variâncias, que segue a distribuição de F com os graus de liberdades correspondentes.

Tabela 5. Análise de variância para significância da regressão e desvio de linearidade ($\alpha=0,05$) (continua)

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>	<i>F</i>
Regressão	1	$\frac{\left[\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \right]^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$	$\frac{SQ_{regr}}{GL_{regr}}$	$\frac{QM_{regr}}{s_{res}^2}$
Resíduos	$n - 2$	$\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$	$\frac{SQ_{res}}{GL_{res}} = s_{res}^2$	

Tabela5. Continuação

Desvio da linearidade	$u - 2$	$\sum_{k=1}^u n_k (\hat{y}_k - \bar{y}_k)^2$	$\frac{SQ_{desv}}{GL_{desv}}$	$\frac{QM_{desv}}{QM_{Erro\ puro}}$
Entre níveis	$u - 1$	$\sum_{k=1}^u n_k (\bar{y}_k - \bar{y})^2$		
Erro puro	$n - u$	$\sum_{k=1}^u \sum_{j=1}^{n_k} (y_{kj} - \bar{y}_k)^2$	$\frac{SQ_{Erro\ puro}}{GL_{Erro\ puro}}$	
Total	$n - 1$	$\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$	$\frac{SQ_{Total}}{GL_{Total}}$	

FV = fonte de variação, GL = graus de liberdade, SQ = soma dos quadrados, QM = quadrado médio, F = razão entre variâncias, n = número de i pontos de curva analítica, u = número de níveis de concentração, n_k = número de pontos j em cada nível de concentração k , y_i = resposta medida, x_i concentração conhecida do analito, \hat{y}_i = variável dependente estimada pela equação de regressão, \bar{y} = média das respostas medidas, \bar{x} = média das concentrações conhecidas, y_{kj} = j -ésima resposta medida do k -ésimo nível de concentração, \bar{y}_k = média de respostas medidas do k -ésimo nível de concentração \hat{y}_k = variável dependente estimada pela equação de regressão para o k -ésimo nível de concentração.

Para avaliação da regressão, é testada a hipótese nula de que a regressão linear não é significativa (ou seja, a variação dos valores de y_i não é explicada pela regressão) e a hipótese alternativa de que a regressão linear é significativa (variação dos valores de y_i é explicada pela regressão). A hipótese nula é rejeitada se o valor de F for maior que o valor crítico $F_{(1-\alpha;1;n-2)}$. Quanto à significância do desvio da linearidade, a hipótese nula de adequação ao modelo linear simples (não há desvio da linearidade) é confrontada com a hipótese alternativa de inadequação ao modelo linear (há desvio da linearidade). A hipótese nula é rejeitada quando o valor de F for maior que o valor crítico $F_{(1-\alpha;u-2;n-u)}$. A significância da distribuição $F(p)$ também deve ser analisada. Para a regressão linear dos resíduos, p deve ser inferior a 0,001, enquanto para o desvio da linearidade, p deve ser superior a 0,05.

3.9.2 Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram determinados e baseados em referência distinta daquela utilizada até então. Os limites foram estimados graficamente a partir da inclinação e interseção da curva analítica como sugerido por FREHSE e THIER (1991).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir de procedimentos já mencionados e referentes à comprovação do método são apresentados nos itens subsequentes.

4.1 Determinação de Contaminantes no Plástico PET com Resina Reciclada

Os estudos-piloto realizados ajudaram a confirmar a presença de acetaldeído nas garrafas de PET pós-consumo reciclado, e determinar a metodologia mais adequada para avaliação da ocorrência de migração de acetaldeído do PET-PCR para os simulantes de bebidas não-alcoólicas.

4.1.1 Primeiro estudo piloto

No primeiro estudo piloto, através da comparação dos tempos de retenção, observou-se a presença de picos sugestivos de acetaldeído nos *pellets* de resina virgem e reciclada, e se descartou a possibilidade de existir nas amostras os outros contaminantes suspeitos: etilenoglicol, dietilenoglicol, trietilenoglicol, 1,3-dioxolano e 2-metil-1,3-dioxolano. Nas figuras de 26 a 33 encontram-se os cromatogramas obtidos desta análise.

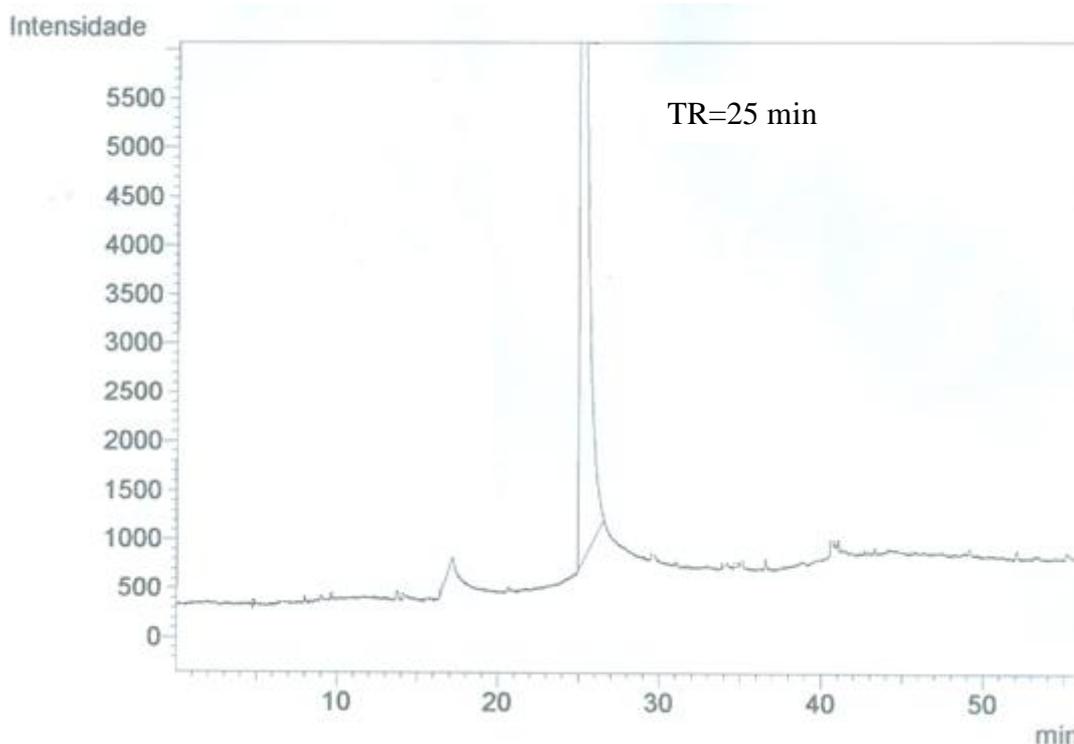


Figura 26. Solução padrão de etilenoglicol

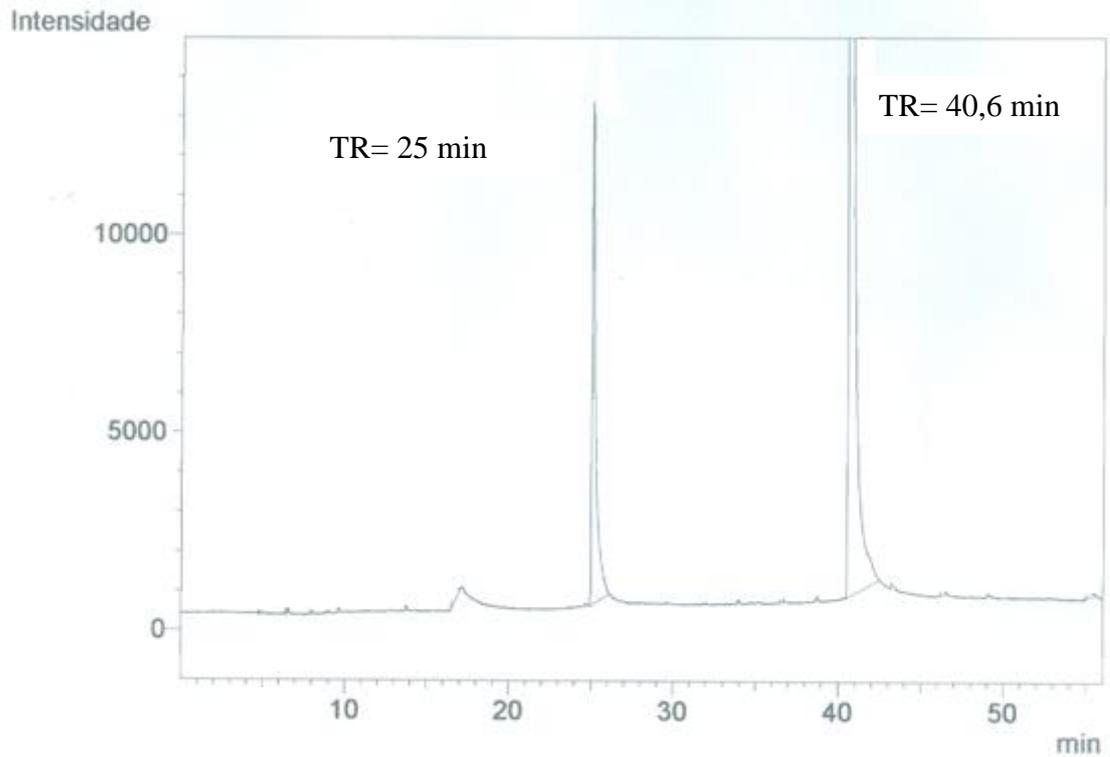


Figura 27. Solução padrão de dietilenoglicol

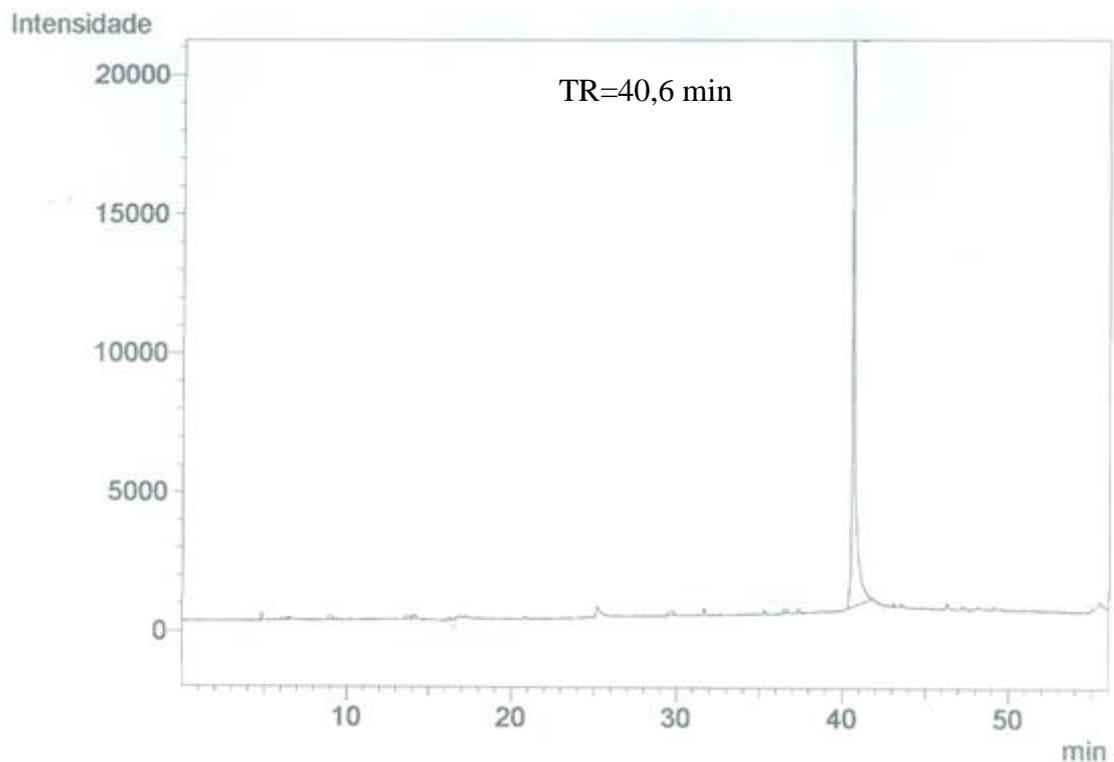


Figura 28 – Solução padrão de trietilenoglicol

Comparando a Figura 27 com a Figura 28 observa-se que os tempos de retenção do dietilenoglicol e do trietilenoglicol são iguais.

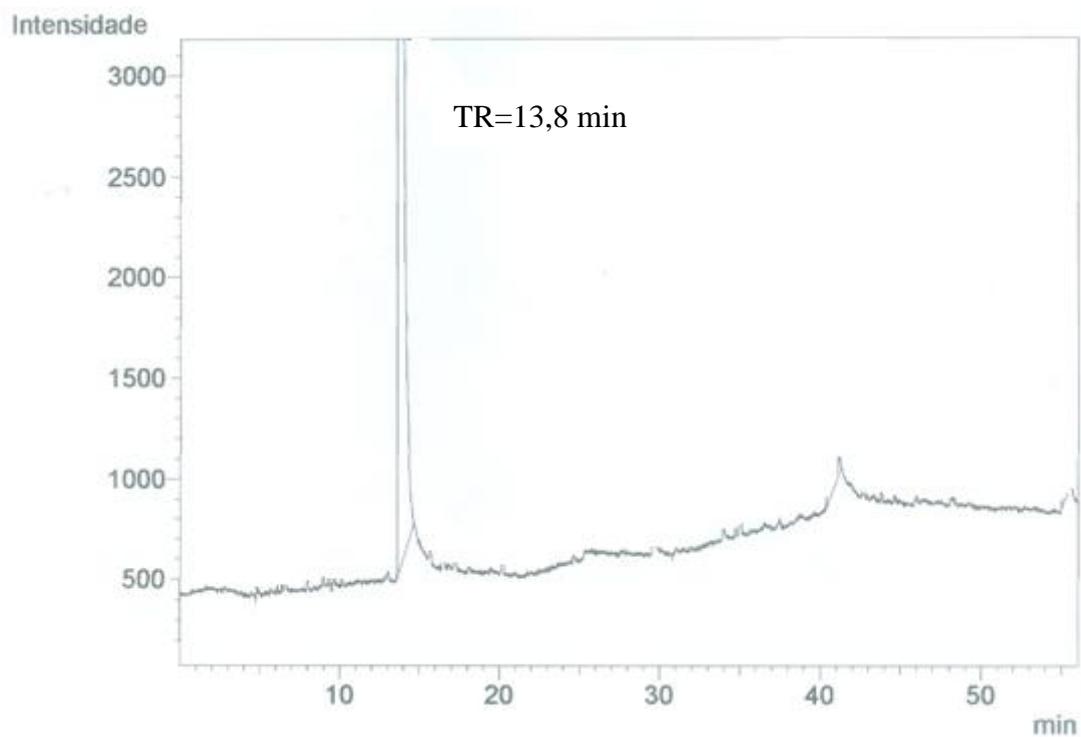


Figura 29. Solução padrão de 1,3-dioxolano

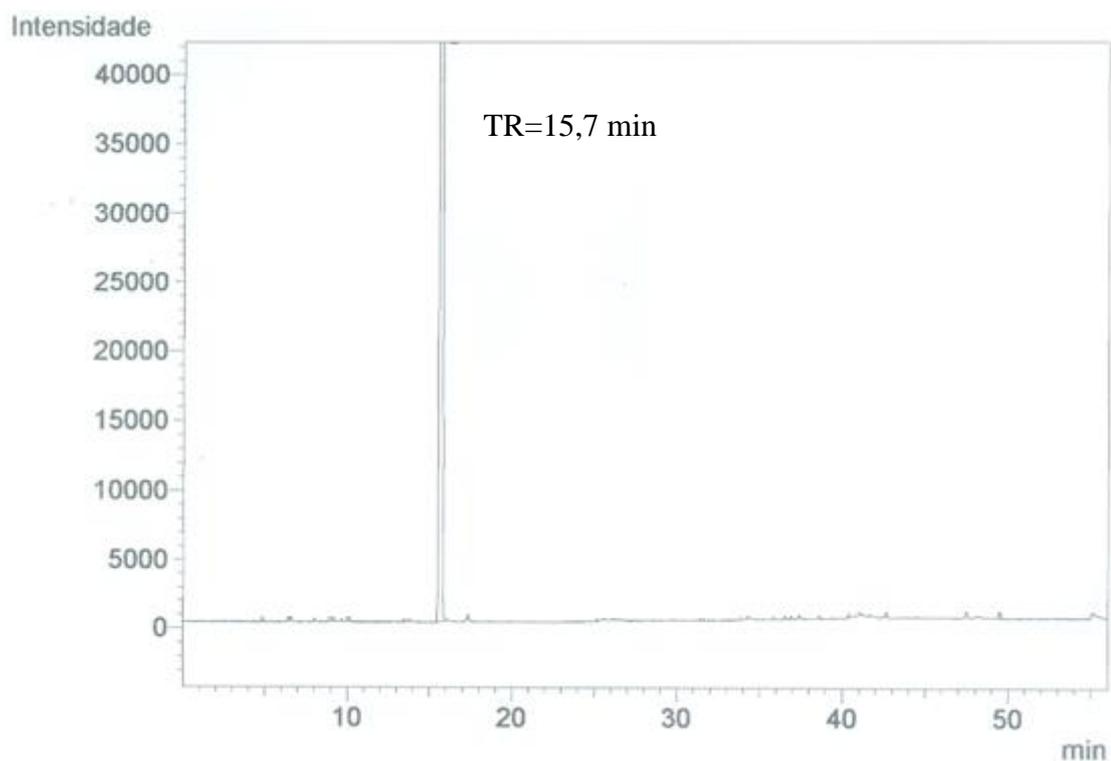


Figura 30. Solução padrão de 2-metil-1,3-dioxolano

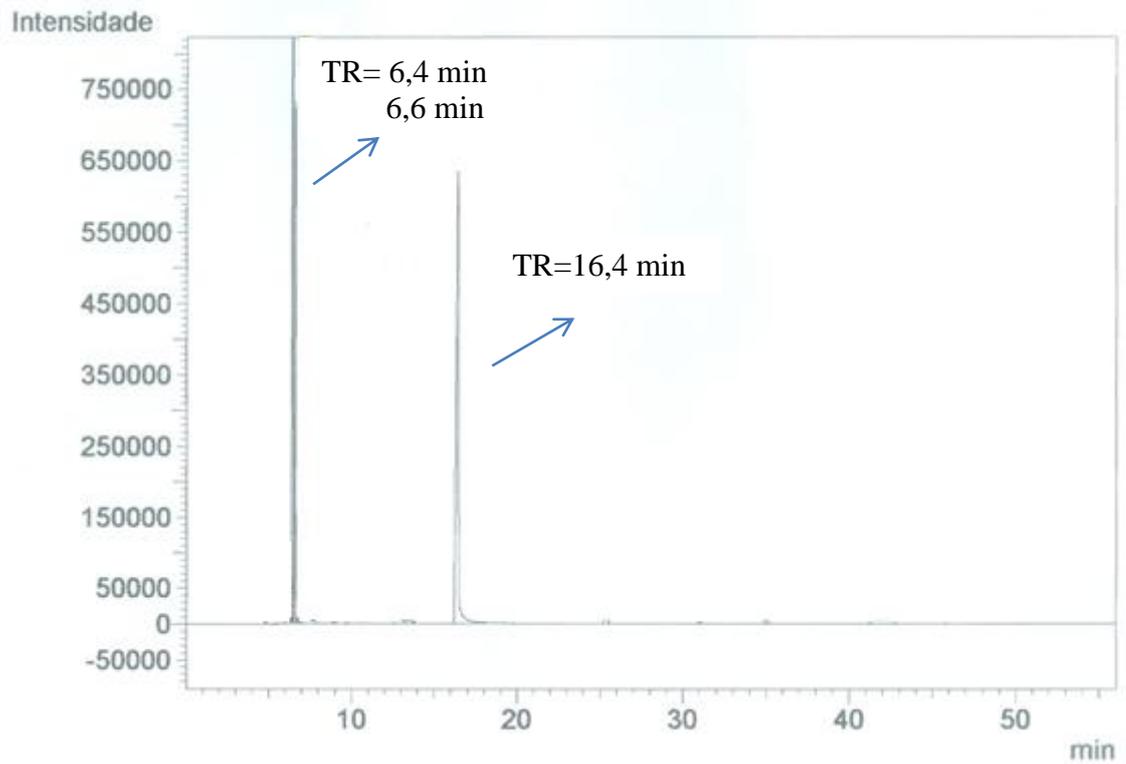


Figura 31. Solução padrão de acetaldeído

Na Figura 31 a área referente ao tempo de retenção de 6,4 minutos é de 5456892.

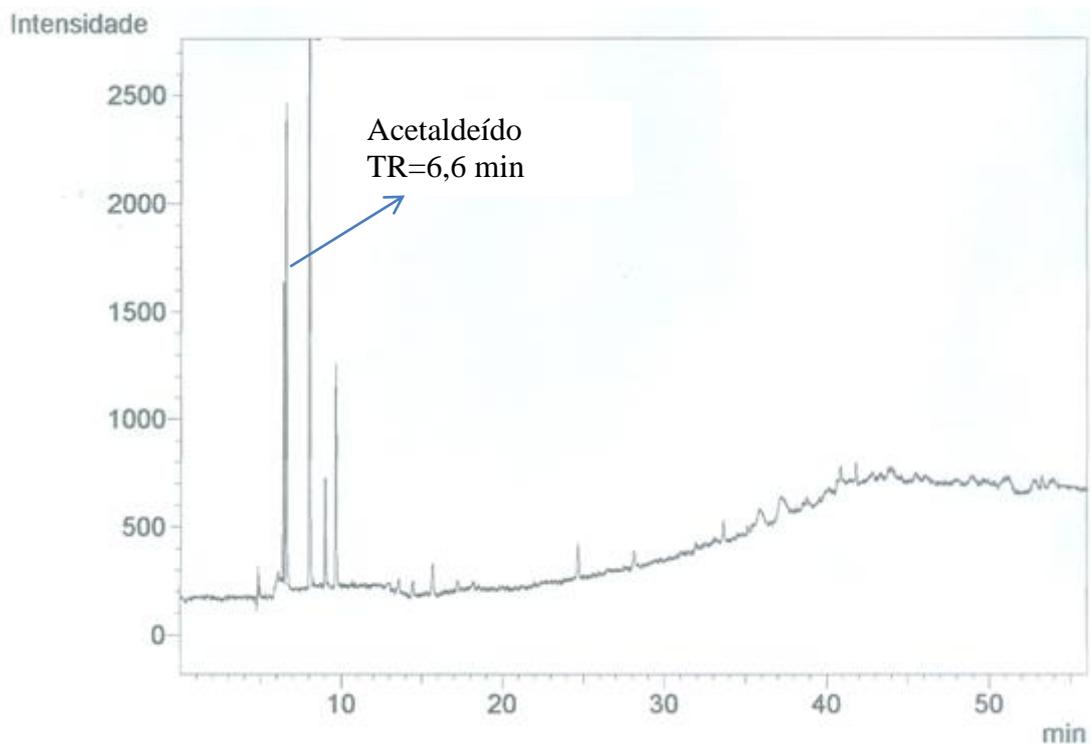


Figura 32. *Pellets* de PET virgem

Na Figura 32 a área referente ao tempo de retenção de 6,6 min é de 8294. Há também um grande pico no tempo de 8 minutos, porém não corresponde a nenhum dos padrões utilizados.

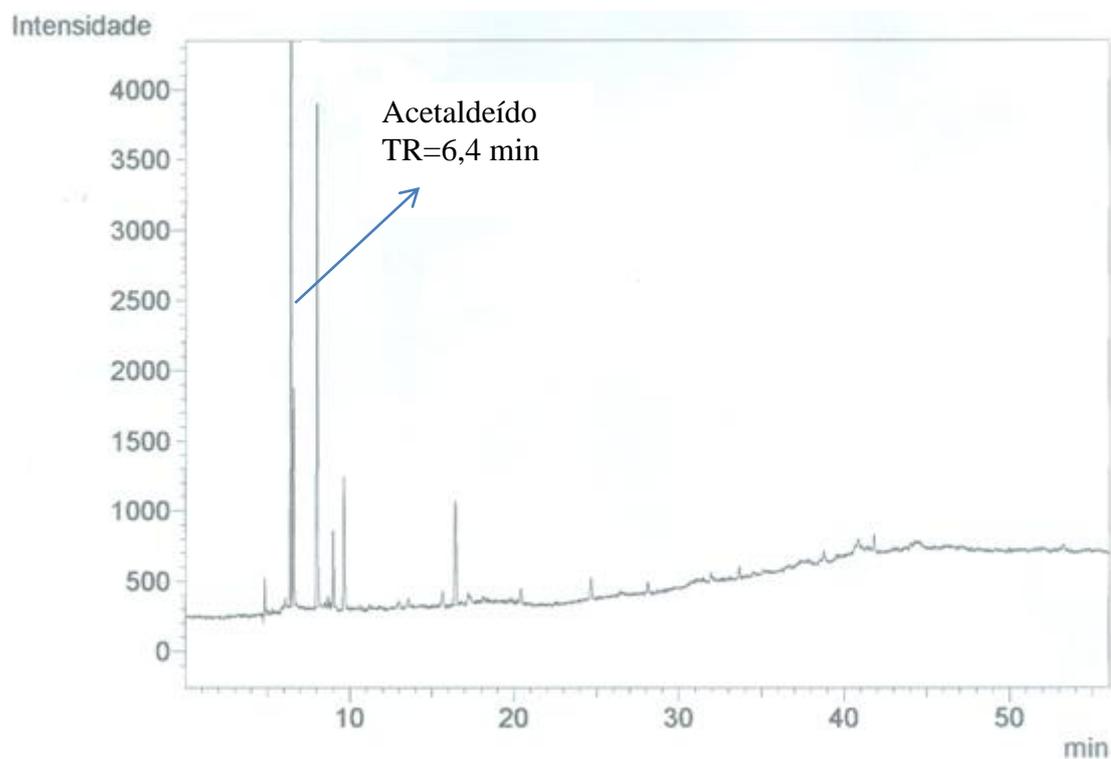


Figura 33. *Pellets* de PET reciclado

Na Figura 33 a área referente ao tempo de retenção de 6,4 min é de 17501. A 6,6 min também apareceu um pico relevante, com área de 5627.

As condições de análise dos cromatogramas das figuras de 22 a 29 foram: temperatura do *headspace*, a 150°C, por 1h; injeção direta no CG(1 min); coluna DB-624; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68 °C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (3 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

Destes resultados é possível observar a semelhança entre os cromatogramas dos *pellets* de resina virgem e do de resina reciclada, indicando que esta última passou por um processo de reciclagem adequado e eficiente, como a do processo *bottle-to-bottle*. No entanto a intensidade dos picos no PET reciclado é maior. Já é de se esperar que o reciclado tenha mais contaminantes que o virgem.

De acordo com MANCINI et al (1998), durante a reciclagem o PET apresenta sucessivas passagens por moinho, mufla e injetora, acarretando esforços mecânicos e/ou temperatura associados com agentes degradantes (como luz, ar e água), que ao degradarem o material geram grupos terminais carboxílicos, entre outros .

4.1.2 Determinação de acetaldeído em garrafas PET-PCR

a) *Headspace a 150°C*

Desta análise confirmou-se o que já tinha sido observado no primeiro estudo piloto, feito com *pellets* de resina virgem e reciclada: dos padrões analisados, o acetaldeído foi o único identificado nos cromatogramas dos flocos de garrafa PET-PCR, embora os gráficos apresentem muitos picos, dificultando a visualização. A seguir encontram-se os cromatogramas que confirmam isso (Figuras 34 a 37).

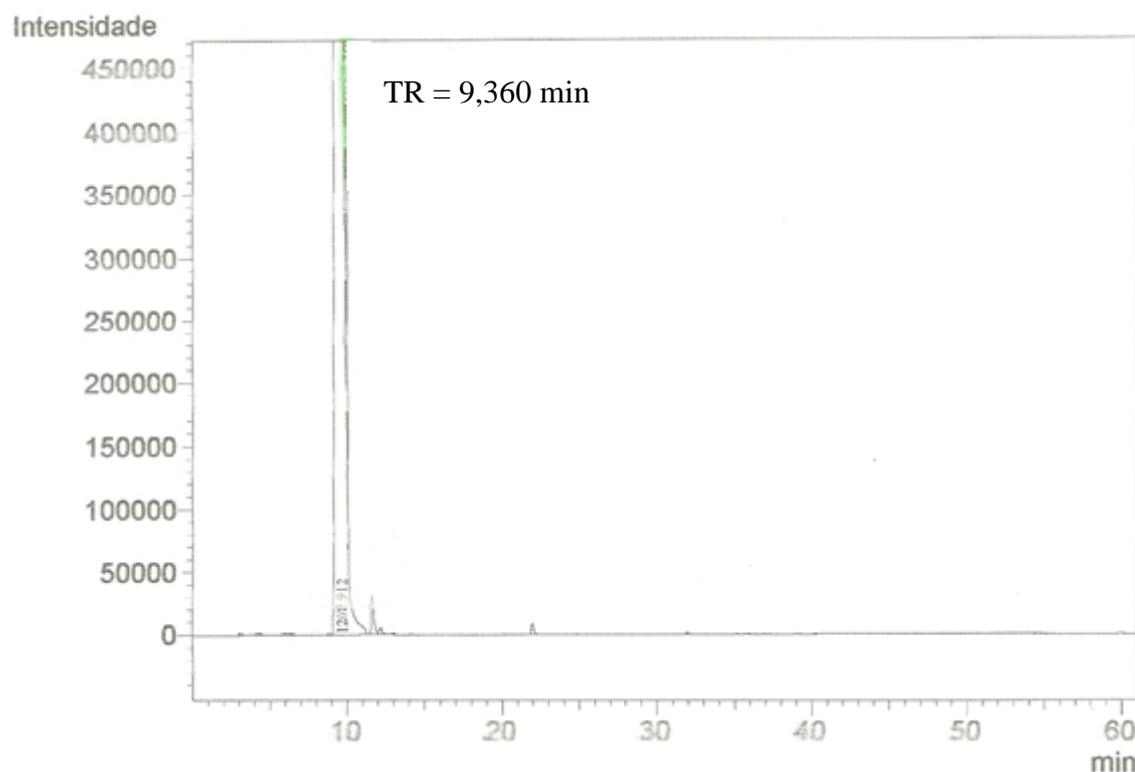


Figura 34. Solução padrão de 1,3-dioxolano

Intensidade

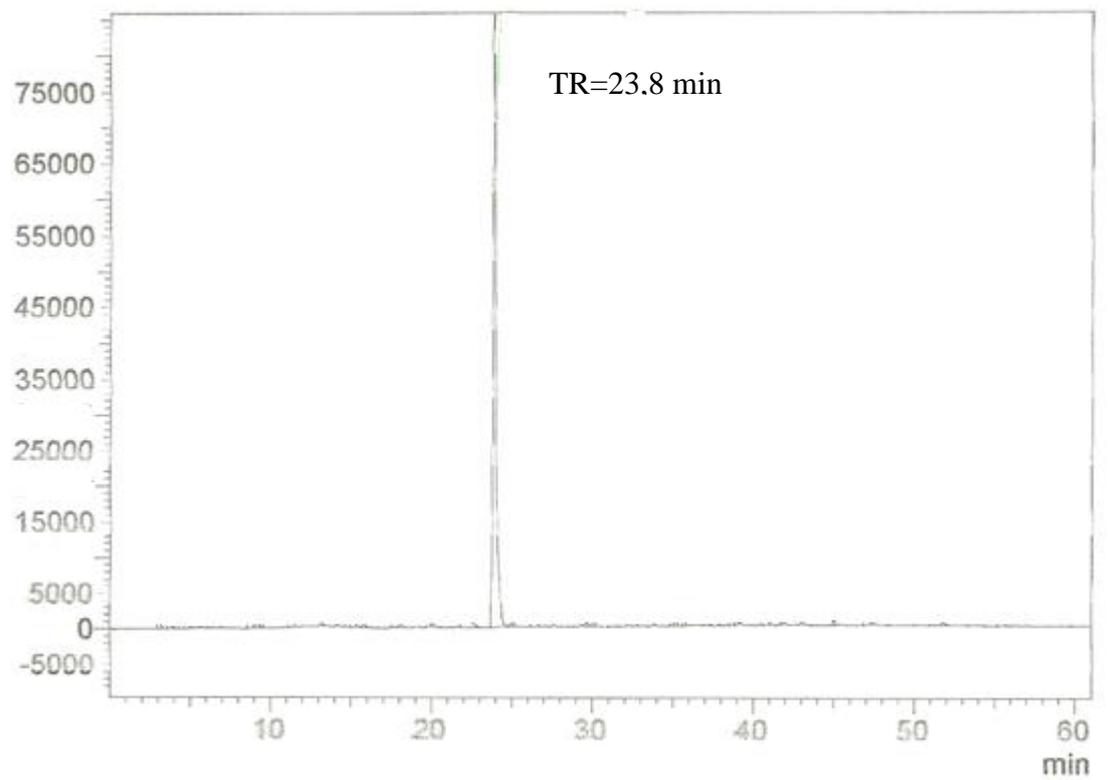


Figura 35. Solução padrão de trietenoglicol

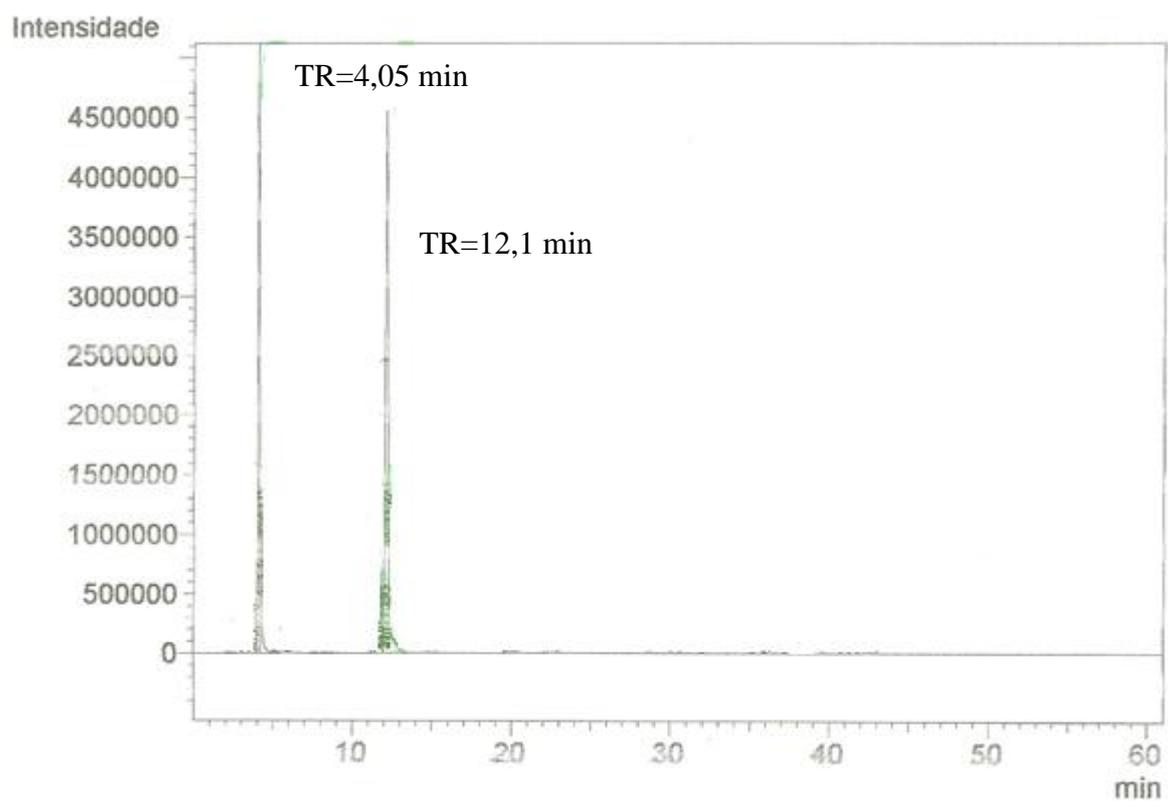


Figura 36. Solução padrão de acetaldeído

Na Figura 36, a área correspondente ao tempo de retenção de 4,05 min é de 3203324.

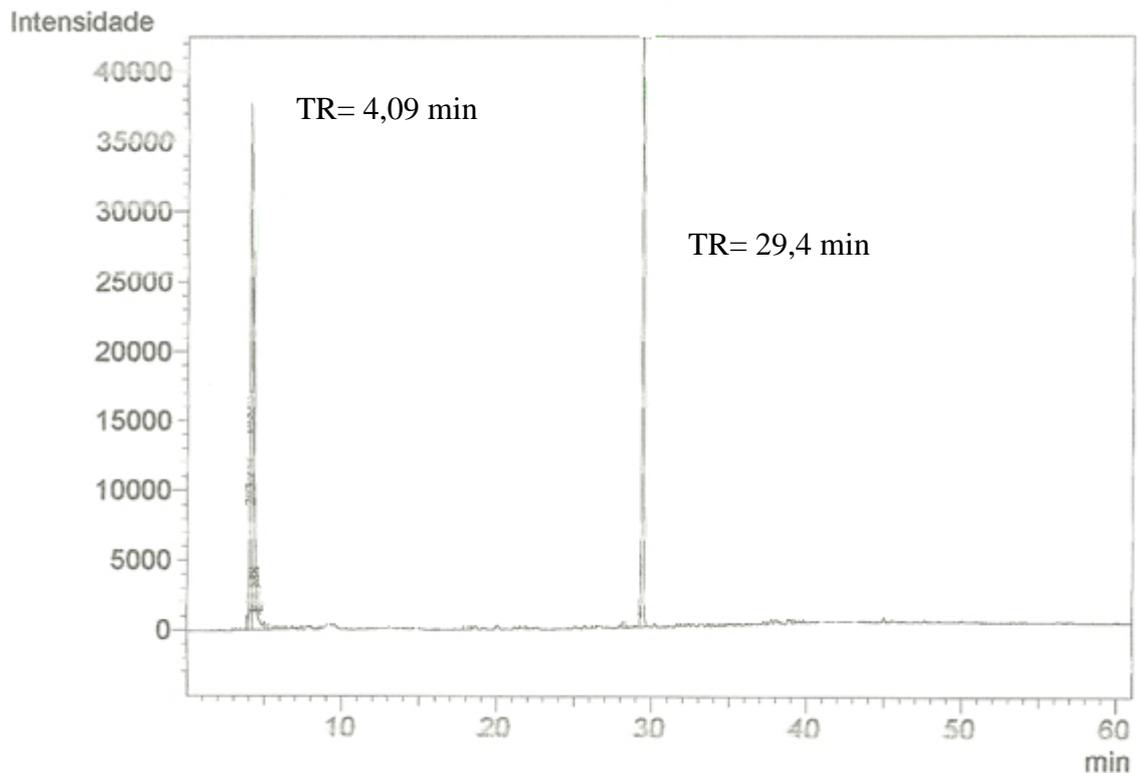


Figura 37. Flocos de PET reciclado

Na Figura 37 o pico a 4,90 min tem área de 324024, e o pico a 4,27 min, área de 220055. Nesta amostra apareceu algo a 29 min, com uma área considerável, e que não havia aparecido antes, na análise com *pellets* de resina reciclada.

As condições de análise dos cromatogramas das figuras de 30 a 33 foram: HD a 150°C, com flocos de garrafa PET-PCR. Temperatura do *headspace*, a 150°C, por 1h; injeção direta no CG (1 min); coluna DB-624; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68 °C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (3 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

No cromatograma das amostras de PET reciclado (Figura 33) apareceu pico no tempo de retenção 4,091 min, o qual está bem próximo do tempo de retenção do acetaldeído, que foi 4,048 min (Figura 32). Comparando as áreas de AA presentes nas amostras de flocos de garrafa PET-PCR com as áreas presentes nas amostras de *pellets* de PET-PCR (Figura 28), observa-se que são maiores nas amostras de flocos de garrafas. Na forma de flocos a extração é facilitada, por haver uma maior difusão de substâncias do que em *pellets*.

MUTSUGA et al (2005) observaram que as garrafas de PET japonesas continham mais AA em níveis elevados do que *pellets* de PET. Daí a importância de se analisar diretamente as garrafas, que são o produto final da fabricação deste tipo de embalagem.

b) Headspace a 60°C, coluna DB-624

A vaporização das amostras a 60°C por 1 h foi feita para verificar se o acetaldeído apresentado nos cromatogramas estava realmente na garrafa de PET-PCR, ou se foi gerado no procedimento de aquecimento no HD. Nesta análise apenas foram utilizadas soluções de acetaldeído, para confirmar seu tempo de retenção.

As Figuras 38, 39 e 40 mostram poucos picos nos cromatogramas do acetaldeído, facilitando a leitura e mostrando que o HD a 60° parece ser uma condição adequada de análise.

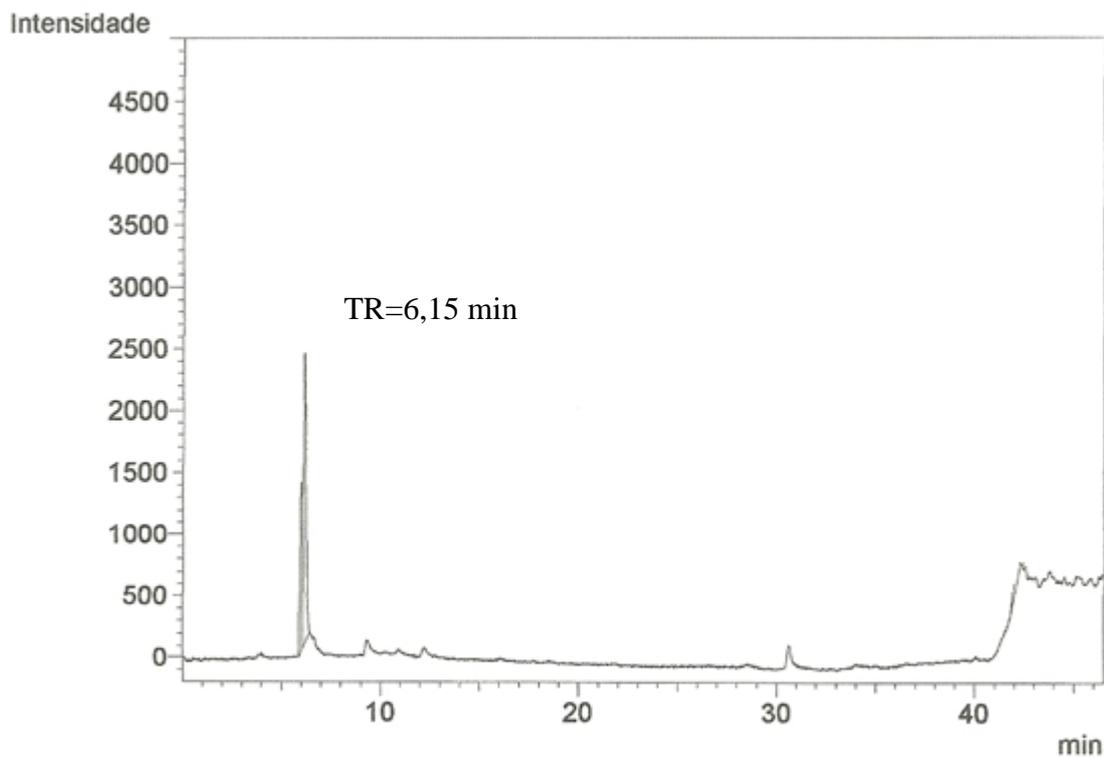


Figura 38. Solução de acetaldeído a 1,0 mg/L – HD/CG, coluna DB-624

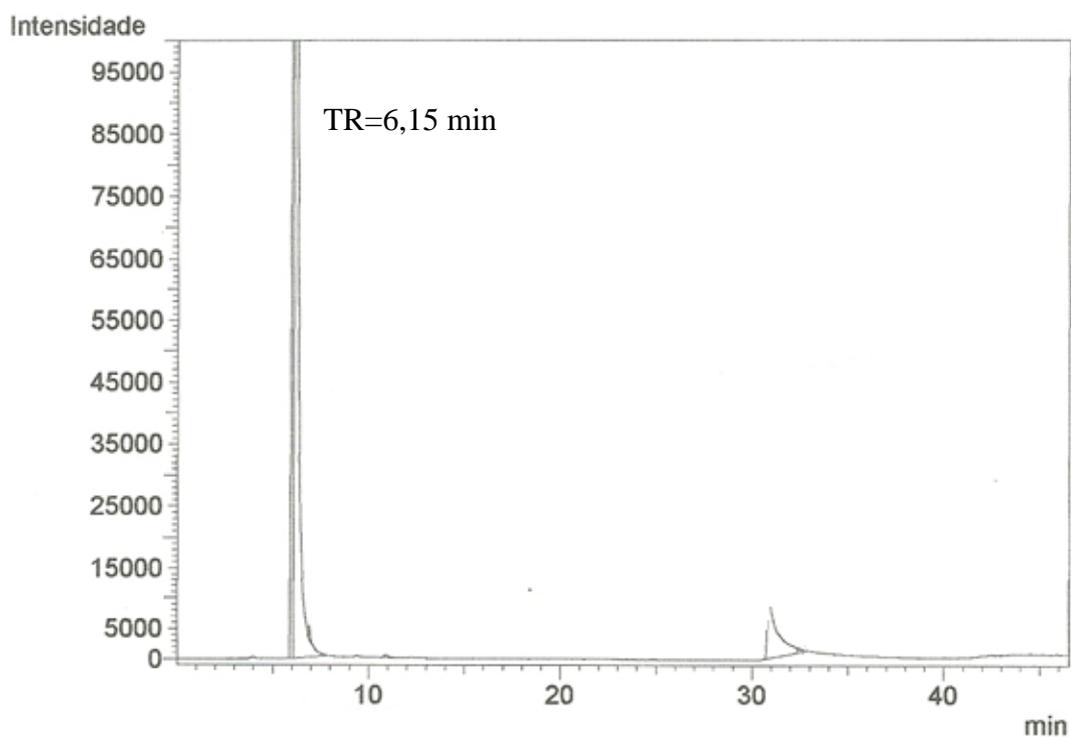


Figura 39. Solução de acetaldeído a 10 mg/L – HD/CG, coluna DB-624

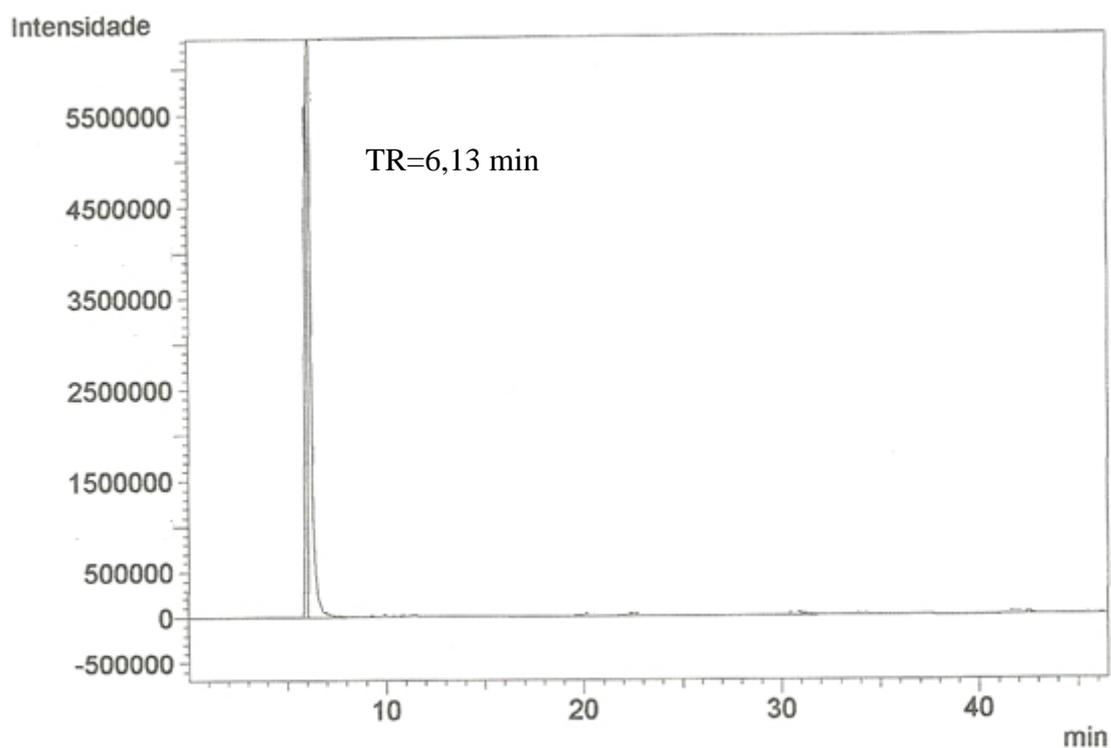


Figura 40. Acetaldeído concentrado (padrão) – HD/CG, coluna DB-624

As condições de análise dos cromatogramas das figuras de 34 a 36 foram: acetaldeído em 3 diferentes concentrações. *Headspace*, a 60°C, por 1h, o padrão e as soluções de acetaldeído foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-624; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68°C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (3 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

O tempo de retenção do AA, nas três soluções, ficou em torno de 6,1 min. No início dos cromatogramas ainda há dois picos muito juntos, parecendo ser um pico que se divide em dois.

c) *Headspace* a 60°C, coluna DB-5

Foi feita alteração da coluna, na tentativa de se obter picos cromatográficos mais separados. Para a identificação do tempo de retenção do acetaldeído foi eficaz, pois em seu cromatograma só apareceu um pico (Figura 41). No entanto, nada apareceu nos cromatogramas das amostras de PET, não havendo integração de nenhum pico. Isto indica que a 60°C não é possível volatilizar substâncias presentes no PET.

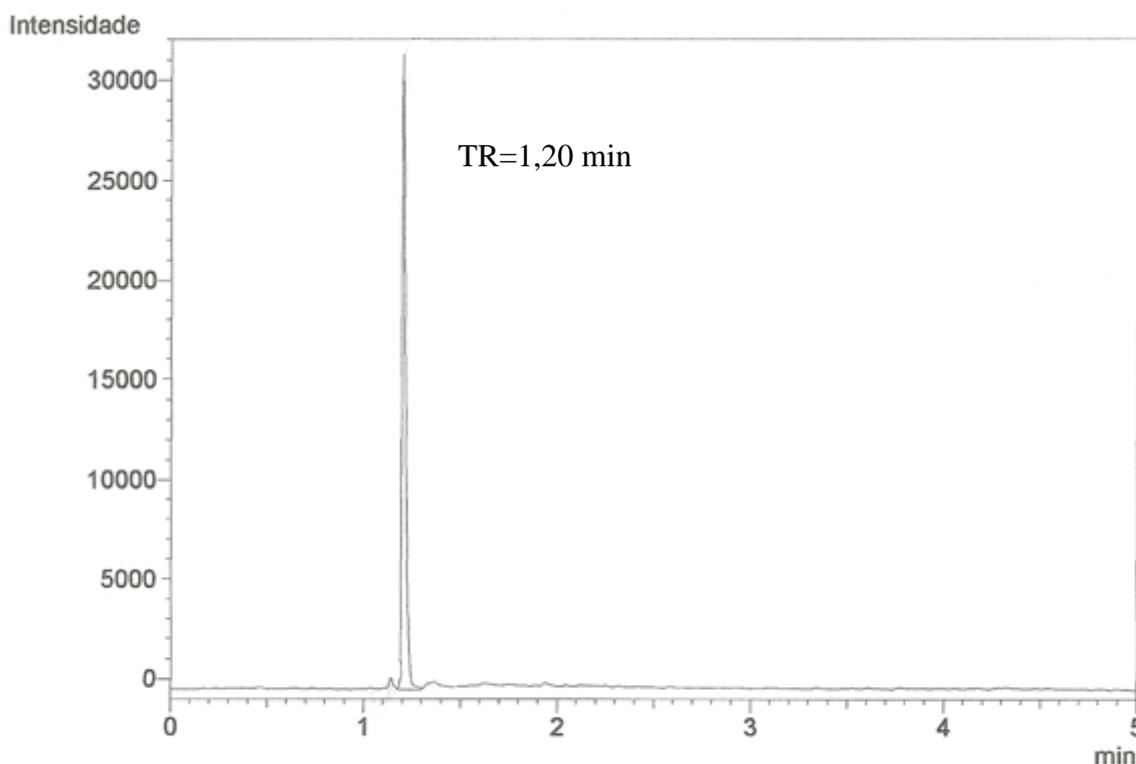


Figura 41. Solução de acetaldeído a 10 mg/L – HD/CG, coluna DB-5

Nesta análise utilizaram-se amostras de PET (virgem e reciclado) e solução aquosa de acetaldeído. As condições foram: *Headspace*, a 60°C, por 1h, o padrão e as soluções de acetaldeído foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-5; rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68°C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (15 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

O fato do tempo de retenção do AA ter sido menor que nas análises anteriores, com coluna DB-624, indica que há uma menor afinidade daquela substância por esta coluna, fazendo com que ela saia antes.

d) *Headspace a 80°C, coluna DB-5*

Nesta análise foi utilizado o mesmo tipo de amostras da análise anterior, porém com uma temperatura mais próxima da temperatura de transição vítrea (Tg) do PET, a fim de facilitar a extração de AA. A temperatura de 80°C está acima da temperatura de transição vítrea do PET (Tg), que é em torno de 71°C (BALDISSERA et al, 2005), e acima da Tg existe maior mobilidade molecular (RABELLO & WELLEN, 2008).

Houve realmente o aparecimento de picos na análise das amostras de PET (*pellet* virgem e flocos de garrafa reciclada), e inclusive, os dois primeiros picos, tanto na análise do plástico quanto na de acetaldeído, apresentaram tempos de retenção muito próximos.

O tempo de retenção do AA ficou bem próximo do tempo dos primeiros picos presentes no gráfico das amostras de PET (Figuras 38 e 39).

Nesta análise também se observa uma semelhança entre os cromatogramas do PET virgem e do PET reciclado, indicando a ocorrência de reciclagem *super-clean*, como a *bottle-to-bottle*. O processo *super-clean*, ou *bottle-to-bottle*, utiliza processos especiais de lavagem, alta temperatura, vácuo, tratamento de superfície, derretimento, filtração, para remover contaminantes do pós-consumo. Por isso o produto do processo *super-clean* pode ser usado para embalar alimentos, em contato direto com os mesmos, por atender aos requerimentos legais e regulatórios. Estes produtos não podem conter mais substâncias migráveis do que as observadas em PET virgem grau alimentício (FRANZ et al, 2004).

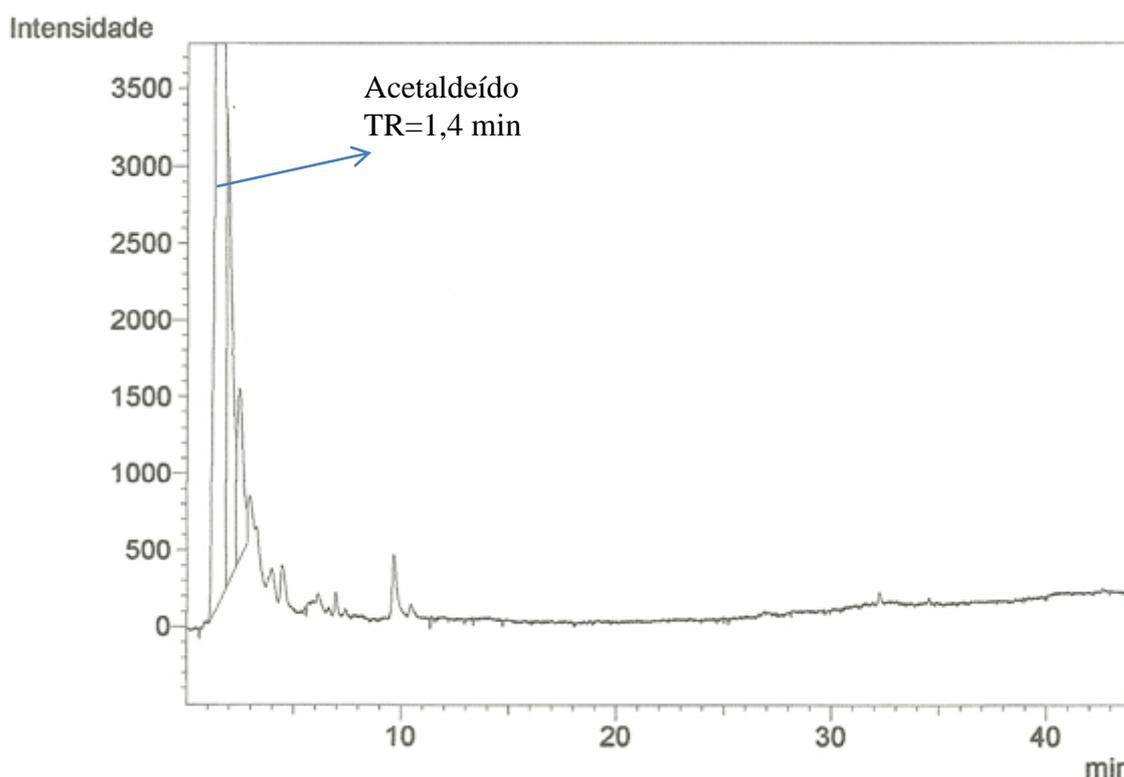


Figura 42. Cromatograma de *pellets* de resina de PET virgem

O pico a 1,43 min tem área de 258160 (Figura 42).

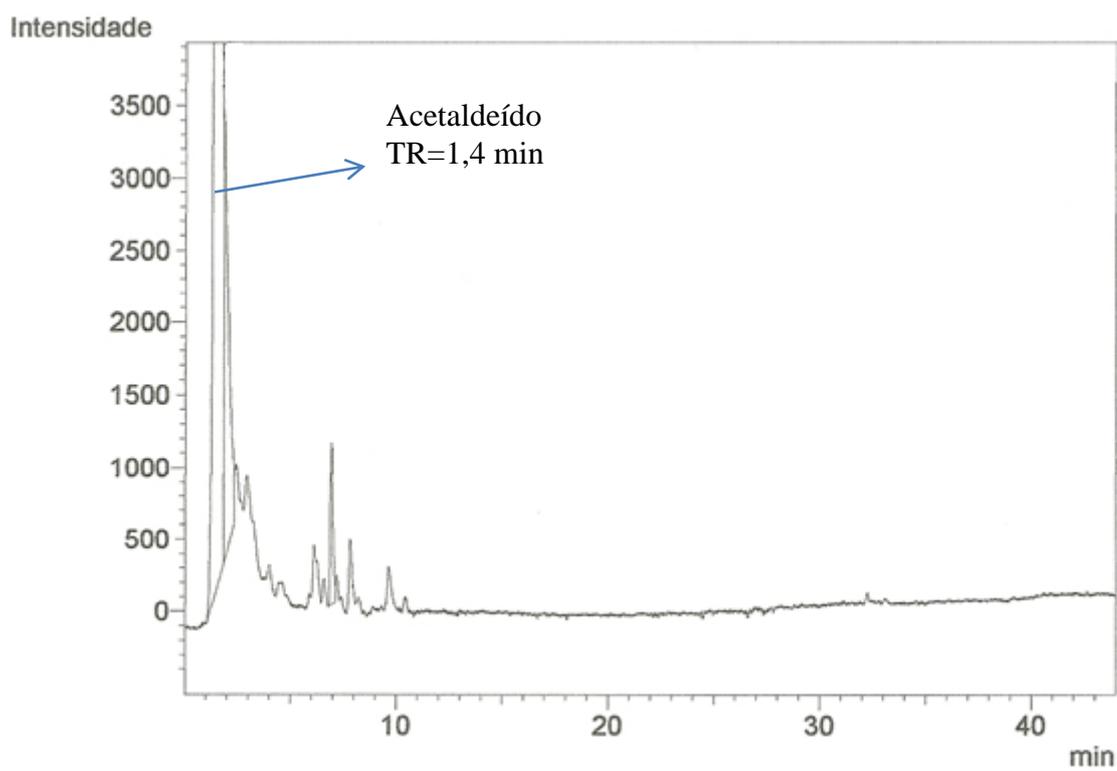


Figura 43. Cromatograma de flocos de garrafa PET-PCR

O pico a 1,43 min tem área de 273316 (Figura 43).

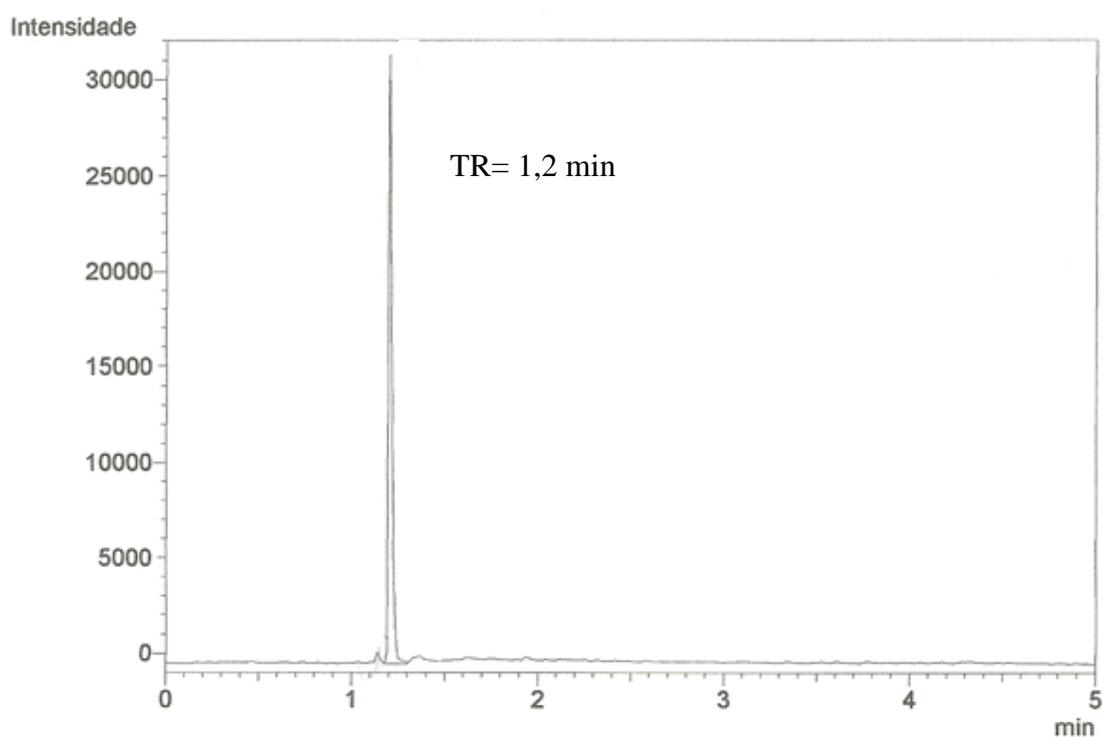


Figura 44. Solução aquosa de AA a 10 mg/L

Na Figura 44 o pico a 1,20 min tem área de 39610. As condições de análise dos cromatogramas do PET virgem, PET reciclado e solução de AA foram *Headspace* a 80°C, coluna DB-5. Rampa da coluna: 50°C (6 min) 5°C/min → 68 °C (3 min) 2°C/min → 88°C(3 min) 5°C/min → 180°C (3 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

e) *CG-EM com injeção direta via Chromatoprobe e adição de DMA*

Através da análise das amostras de PET-PCR com CG-EM, foi possível confirmar a presença de acetaldeído nas embalagens. O cromatograma e fragmentograma correspondentes a esta análise encontram-se nas Figuras 45 e 46.

No cromatograma houve a integração de dois picos. O primeiro corresponde ao acetaldeído, conforme a indicação do fragmentograma. O segundo pico é o DMF, já que a amostra de PET ficou em contato com este reagente por 7 dias, a fim de facilitar a extração de AA.

RAMALHO & BERTAZZOLI (2011) utilizaram chromatoprobe acoplado a injetor de CG com detector EM, para identificação de herbicida em latosolo, e obtiveram resultado satisfatório, conseguindo identificar o herbicida com pico bem definido e de alta intensidade.

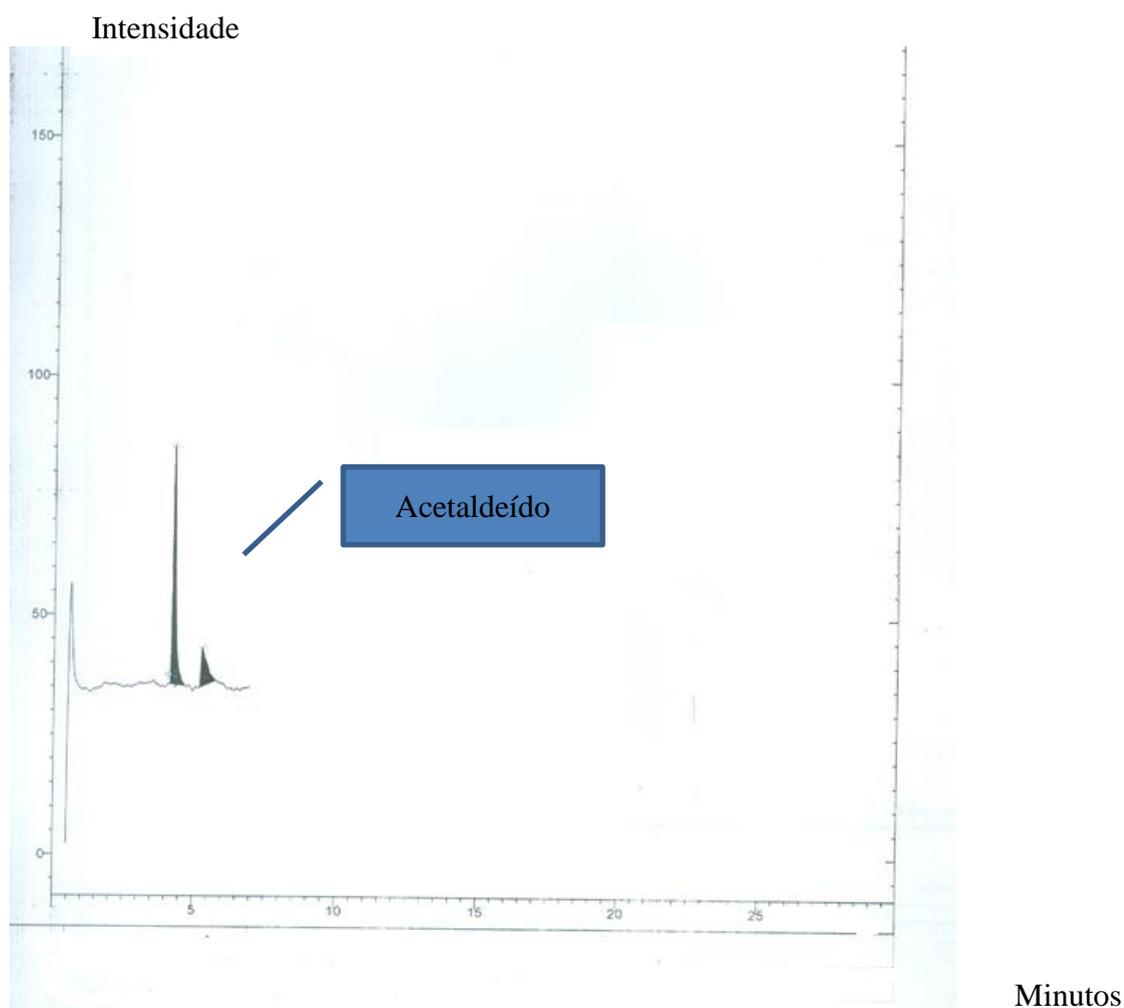


Figura 45. Cromatograma do extrato de flocos de PET-PCR em contato com DMA. Análise por CG-EM.

As condições da análise foram (Figura 45): CG-EM, com injeção em PTV. Rampa: 30°C 10°C/min → 100°C. Rampa da coluna (DB-5) do CG foi: 30°C 10°C/min → 100°C 20°C/min → 300°C.

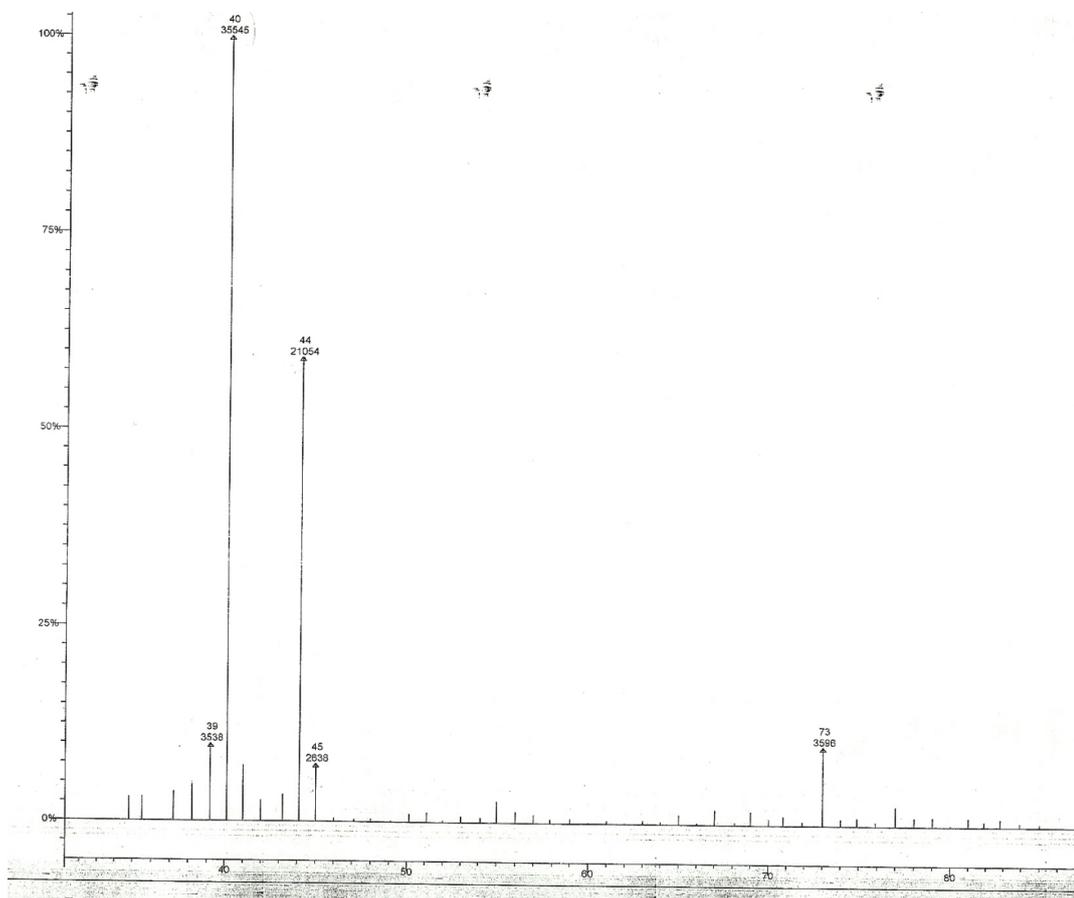


Figura 46. Fragmentograma do extrato de flocos de PET-PCR em contato com DMA. Análise por CG-EM.

O fragmentograma apresentado (Figura 46) assemelha-se ao fragmentograma de acetaldeído apresentado pela biblioteca do equipamento.

A presença de acetaldeído já era de se esperar, visto que o acetaldeído é uma substância típica do PET, por ser um produto de degradação térmica do poli(tereftalato de etileno) (WELLE, 2008), e os processos de fabricação de garrafa e reciclagem utilizam temperaturas muito elevadas.

f) *Headspace a 60°C, coluna DB-5 e uso de DMF para extração*

Foi possível identificar os picos de acetaldeído nas amostras de PET, tanto virgem quanto reciclado, porém os picos do início da corrida continuam muito juntos, gerando a dúvida de que podem ser picos da mesma substância, ou picos de substâncias distintas, porém com tempos de retenção muito próximos (Figura 47).

Desta vez o DMF foi o reagente utilizado para extrair acetaldeído das amostras de PET antes de serem analisados no cromatógrafo associado a *headspace*.

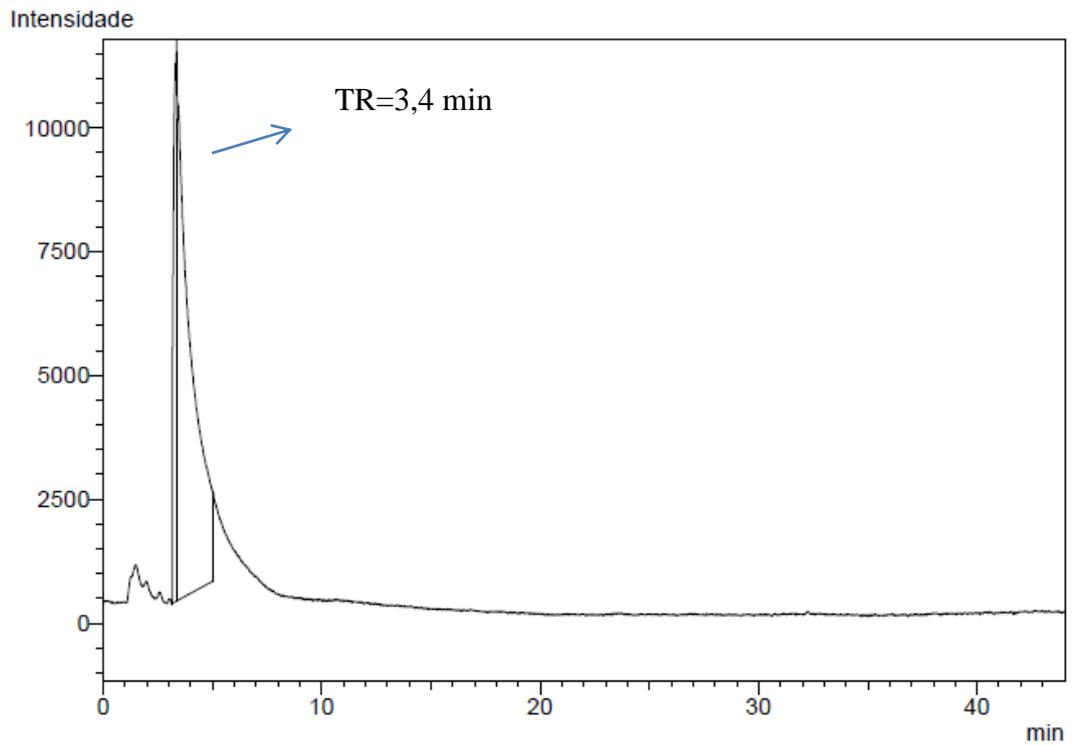


Figura 47. Cromatograma de flocos de PET-PCR

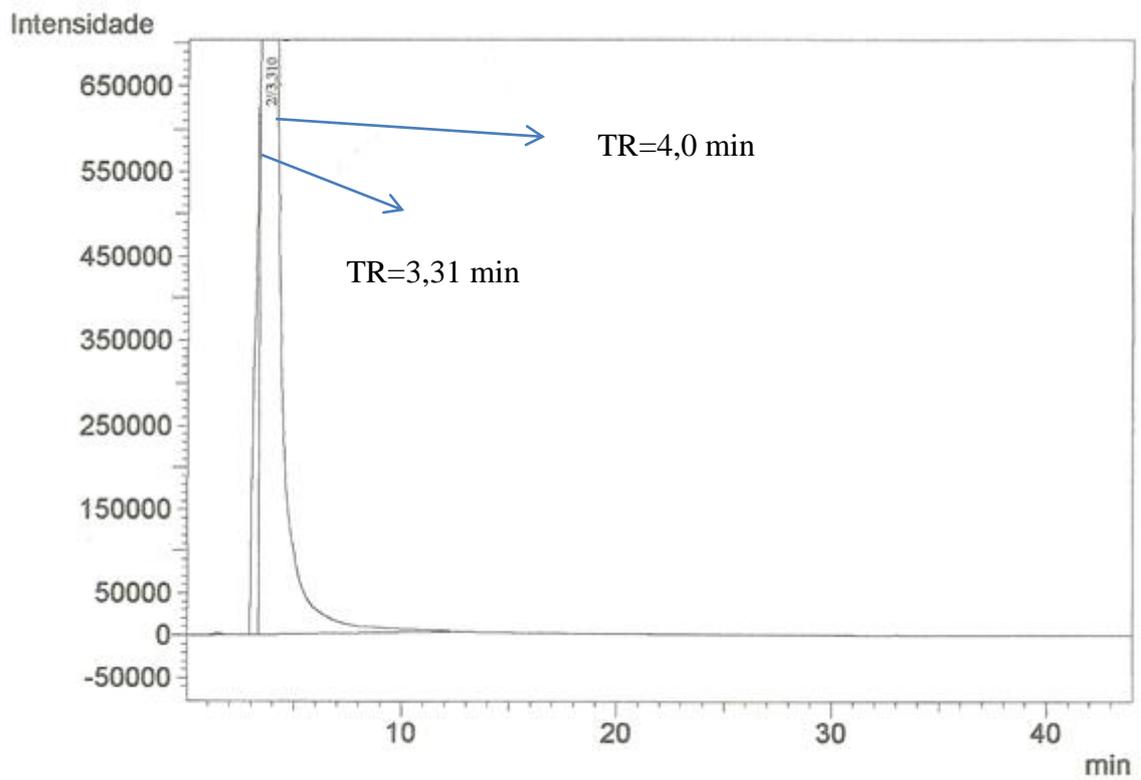


Figura 48. Cromatograma de *pellets* de PET virgem

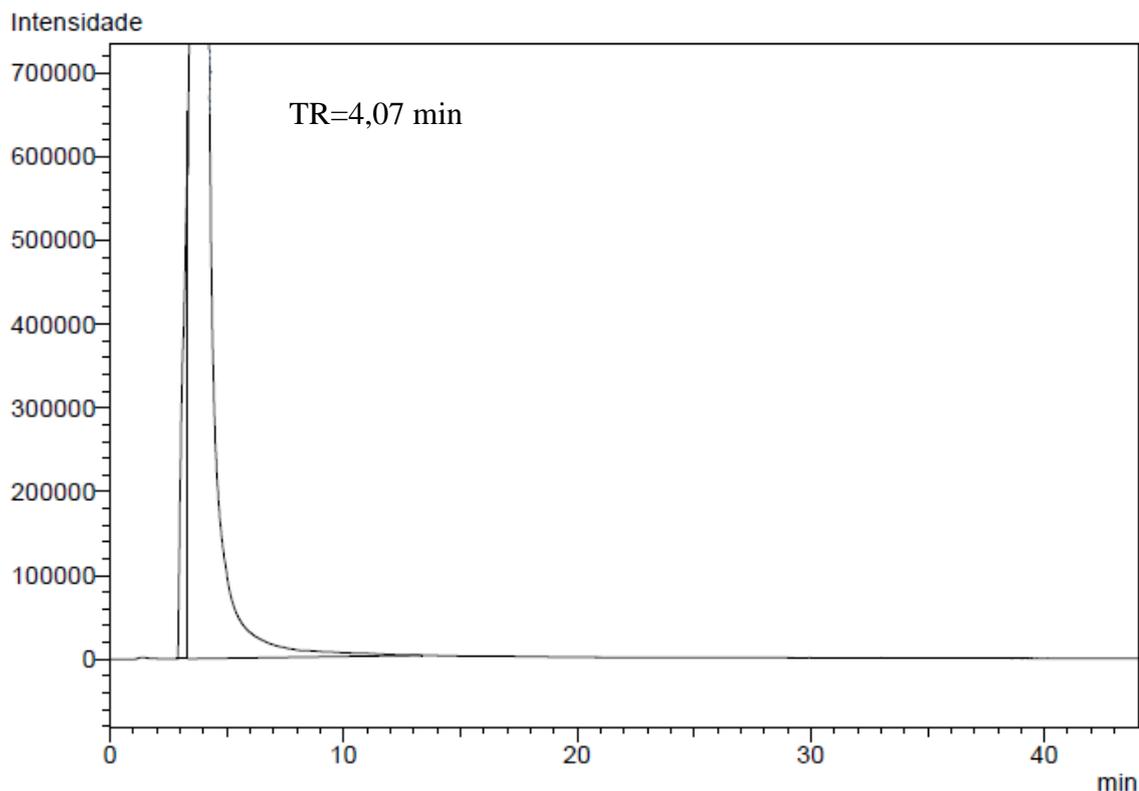


Figura 49. Cromatograma da solução de AA em DMF a 1,5 mg/L

As condições de análise foram: *Headspace*, a 60°C, por 1h, as amostras e solução foram direcionados para o CG, por injeção direta (1 min); coluna DB-5; rampa da coluna: 50°C (6 min) $\underline{5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ → 68 °C (3 min) $\underline{2^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ → 88°C(3 min) $\underline{5^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ → 180°C (3 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

O acetaldeído sai a 4,07 min, e se mostrou presente na análise de amostras de resina de PET virgem saindo a 4,0 min, com área de 71919395. Nas amostras de flocos de PET reciclado, o acetaldeído pareceu sair antes, com tempo de 3,4 min, e com área bem menor: 444491. Espera-se que no PET reciclado haja mais acetaldeído. MANCINI et al (1998) observou mudanças estruturais das macromoléculas (quebra de cadeias) conforme aumentava o número de reciclagens de embalagens PET.

O DMF possui ponto de ebulição de 153°C. Houve mais extração a partir das amostras de resina virgem do que das amostras de PET reciclado, gerando dúvida sobre a eficiência deste solvente como extrator.

- g) *Headspace a 60°C, coluna DB-5, uso de DMF e DMA para extração e rampa iniciando a 30°C*

Para tentar separar os picos do início das análises, foi feita uma alteração na rampa de temperatura da coluna, reduzindo a temperatura inicial de 50°C para 30°C.

Da extração por DMF, é possível observar um pico bem pequeno (área 1030) a 1,45 min na amostra de *pellet* virgem semelhante ao tempo de retenção do AA, que é 1,43 min (Figuras 50 e 51). Já na amostra de PET-PCR não formou nenhum pico que pudesse indicar presença de AA. Da extração por DMA, também não ocorreu nenhum pico indicativo de AA, tanto no PET virgem quanto reciclado.

Esses dois reagentes não são, portanto, adequados para extrair acetaldeído de embalagens de PET, não contribuindo para determinação deste contaminante.

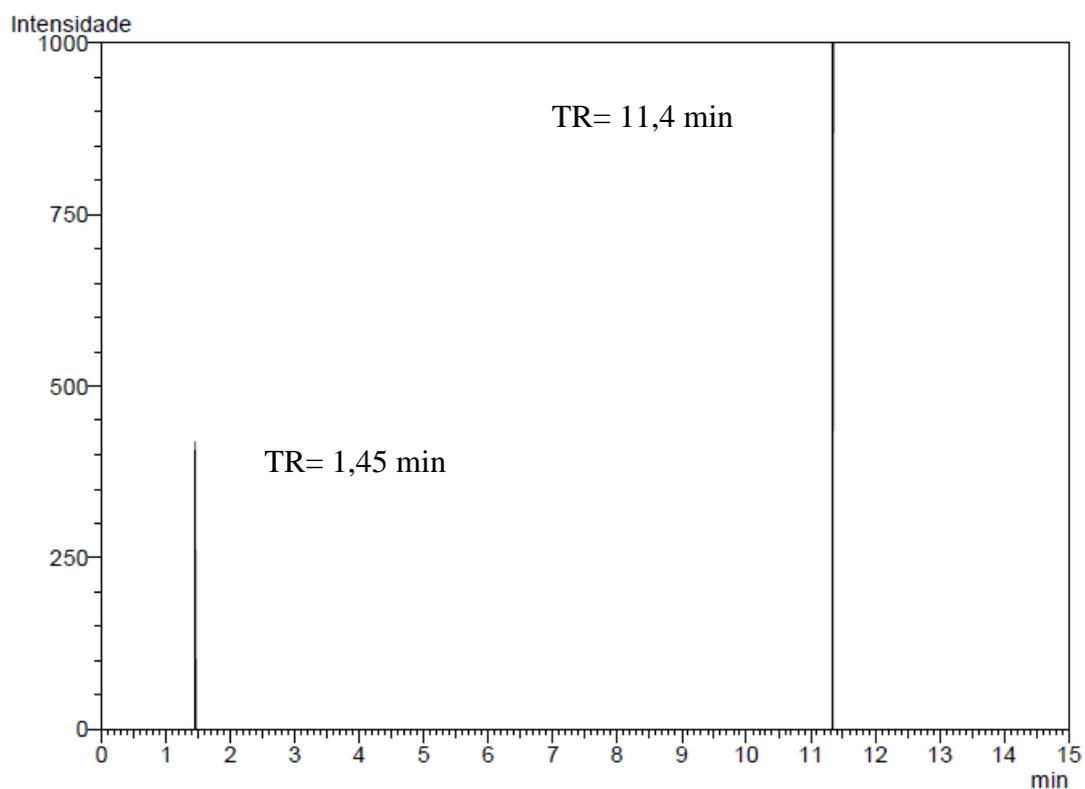


Figura 50. Cromatograma do extrato de PET virgem com DMF, após 48h de contato

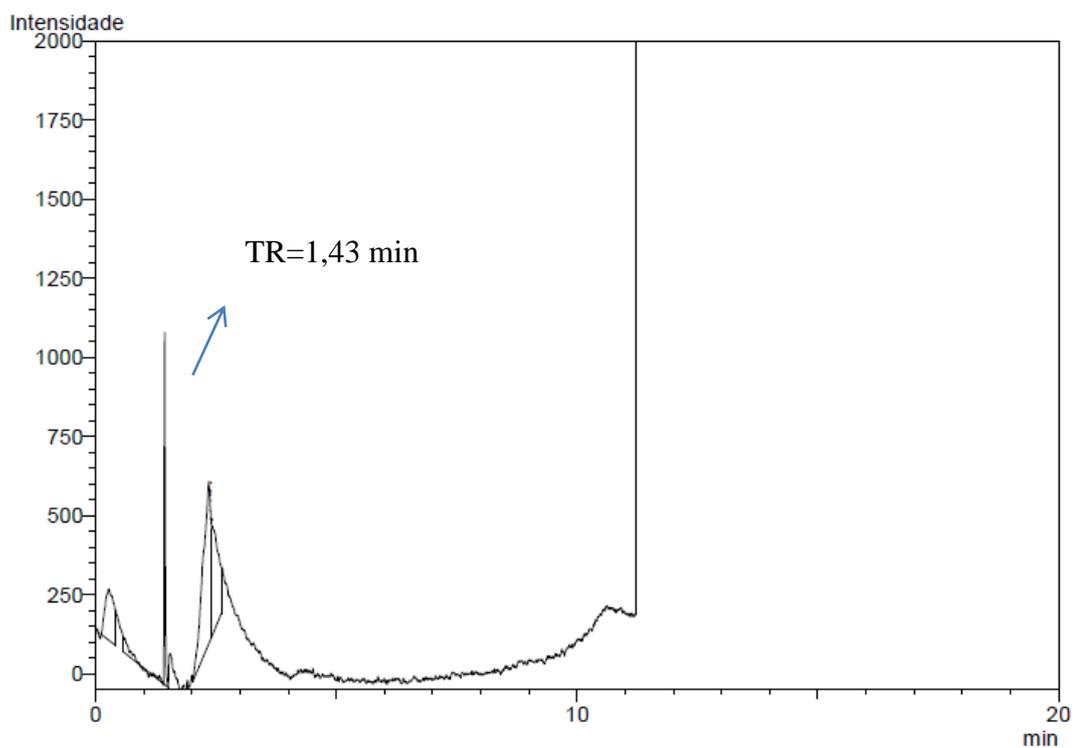


Figura 51. Cromatograma da solução de AA em DMF a 1,0 mg/L

Nestas análises, onde foi feito o uso de DMF e DMA para extração de AA, as condições foram: *Headspace*, a 60°C, por 1h, as soluções foram direcionadas para o CG, por

injeção direta (1 min); coluna DB-5; rampa da coluna: 30°C (6 min) $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 35°C (5 min) $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 37°C (3 min) $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 45°C (3 min) $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 88°C (3 min) $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ \rightarrow 180°C (5 min); fluxo da coluna: 10,53 mL/min; detector DIC a 250°C.

h) Sem headspace, coluna DB-624, extração com isopropanol, novas garrafas de PET-PCR

A partir desta análise passou-se a utilizar garrafas de PET-PCR de outro fabricante, produzidas para acondicionar detergente. A coluna DB-624 foi novamente utilizada, por mostrar maior sensibilidade e afinidade ao acetaldeído (Figuras 52-54), e assim favorecer uma melhor identificação deste contaminante. Foi utilizado o isopropanol como extrator.

O AA apresentou picos com tempo de retenção a 5,27 min e 5,4 min, e o isopropanol puro (padrão) apresentou um pico a 5,54 min, ou seja, bem próximo ao do AA. No cromatograma obtido da análise do extrato de flocos de PET-PCR em contato com isopropanol, foi possível identificar um pico com tempo de retenção igual ao do AA (5,45 min) (Figura 48). Dos três extratores utilizados, o isopropanol foi o que apresentou resultados mais aceitáveis.

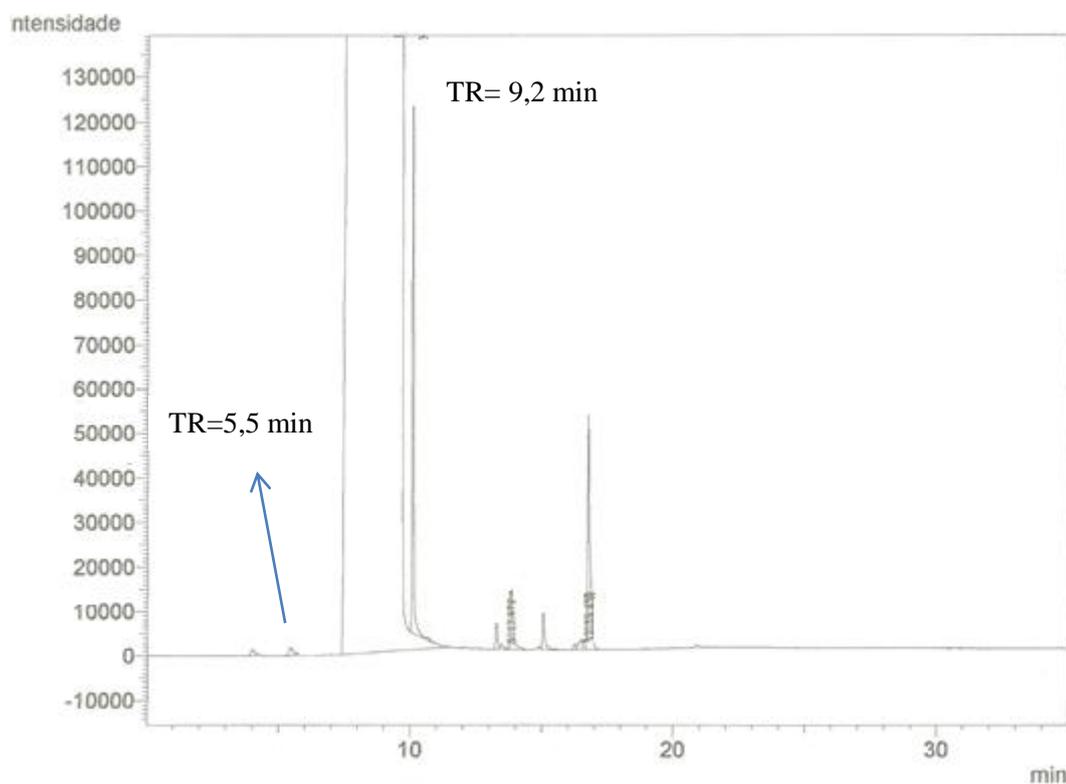


Figura 52. Cromatograma do isopropanol padrão

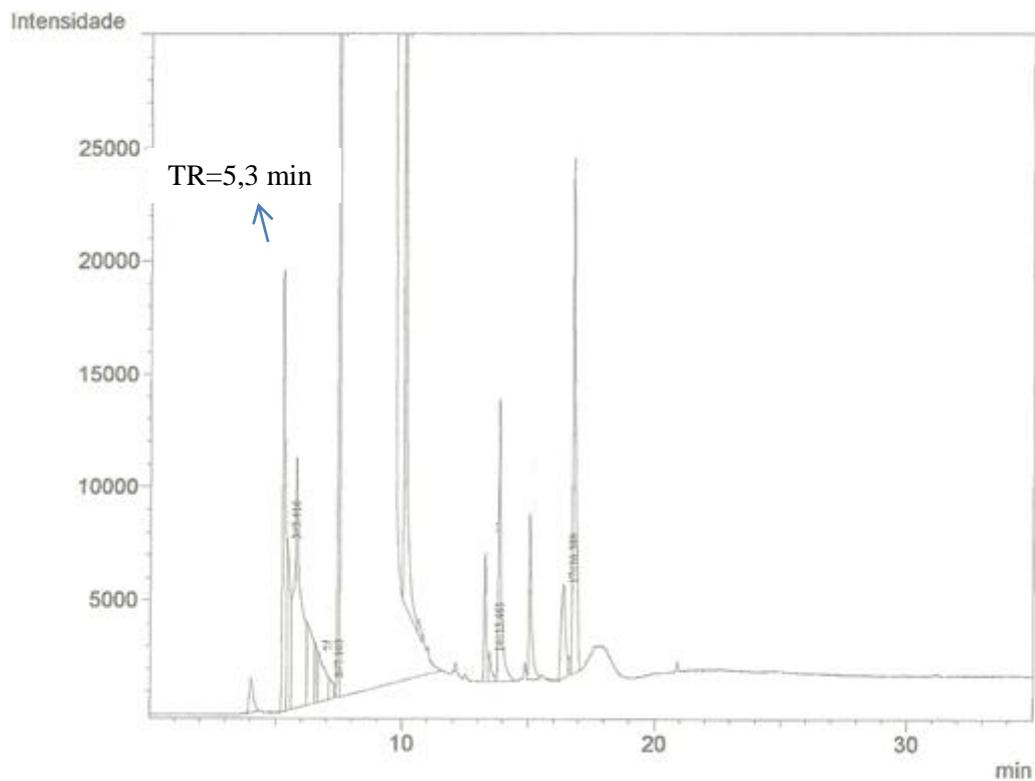


Figura 53. Cromatograma da solução de AA em isopropanol a 6,0 mg/L

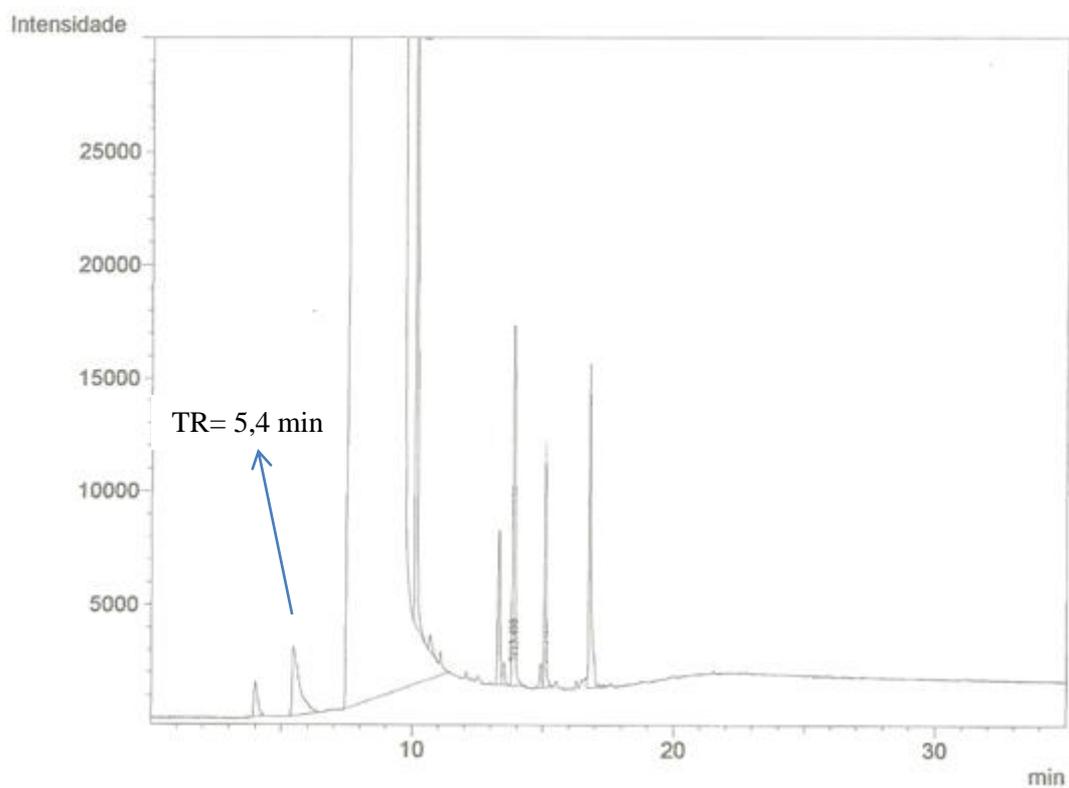


Figura 54. Cromatograma do extrato de PET-PCR com isopropanol

As condições da análise que sucedeu ao uso de isopropanol para extração de AA foram: sem *headspace*. condições cromatográficas: volume de injeção- 2 μ L; *splitless* (injeção direta); temperatura de injeção: 80°C; rampa da coluna: 50°C (5 min) 10°C/min \rightarrow 200°C (15 min)

4.1.3 Métodos de análise de migração de acetaldeído a partir de PET-PCR em bebidas não-alcólicas

a) Uso de cartucho Sep-pak (C 18)

Foram analisados apenas no CG (sem *headspace*) os extratos de isopropanol após passagem de AA em água a 6,0 mg/L por cartucho C18 (SEP-PAK); e de ACN após passagem de AA em ácido acético (a 3%) a 6,0 mg/L. A acetonitrila é também usada para ativar o cartucho, conforme sugere o manual deste.

Na extração com isopropanol o tempo de retenção do acetaldeído foi de 5,2 min (Figura 55). Na extração com ACN o tempo de retenção de AA também ficou em 5,2 min (Figura 56). O tempo de retenção do isopropanol é de aproximadamente 9,0 min, e o da ACN é de 9,3 min.

Nas duas extrações, a área do AA foi 12434, e 18905, respectivamente. Os dois extratores apresentaram, portanto, comportamento semelhante, porém em quase todas as corridas pelo CG, aparecia algo a 5,4 min, ou seja, tempos de retenção bem próximos ao do AA. Tal fato levanta a hipótese de que deve ter ocorrido contaminação dos solventes pelo AA presente no ar do laboratório, mascarando, assim, os resultados.

Além disso, o grau de extração por estes reagentes mostrou-se muito pequeno (vide áreas do AA obtidas da extração), tornando este método inadequado para uma futura detecção e quantificação da migração de AA.

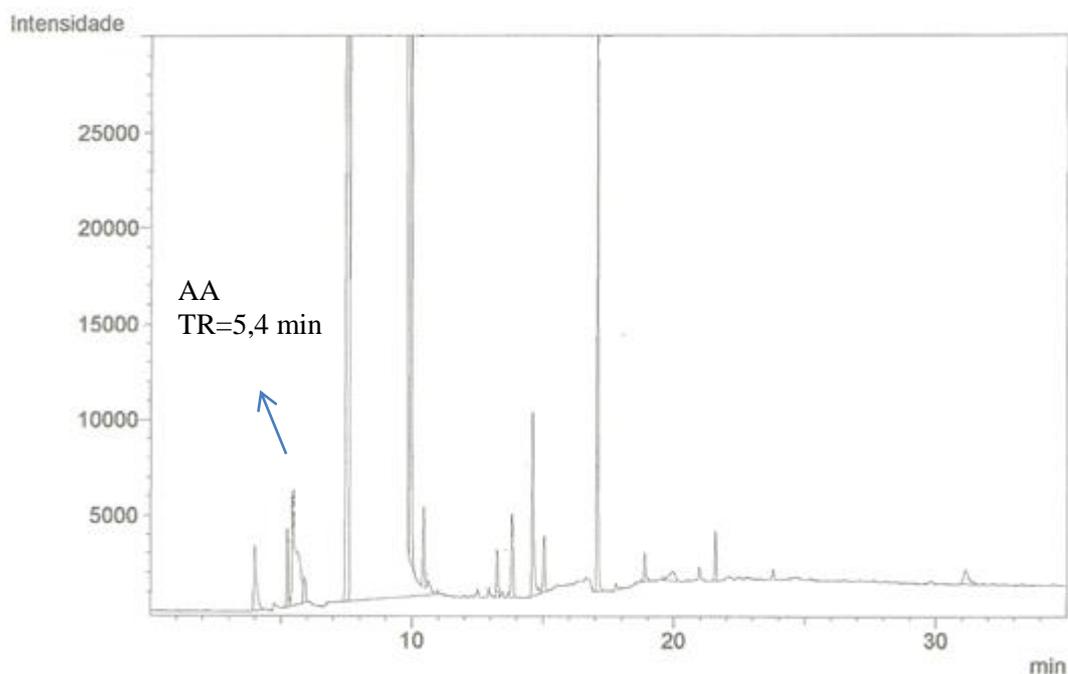


Figura 55. Cromatograma da solução aquosa de AA a 6,0 mg/L após passagem pelo cartucho e extração com isopropanol

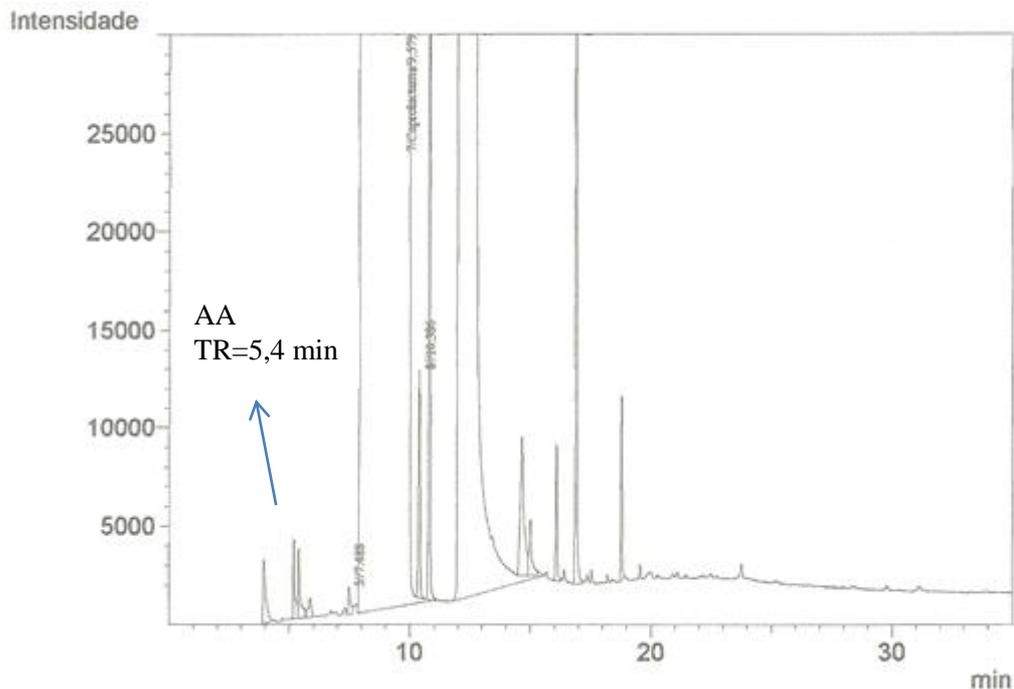


Figura 56. Solução de AA em ácido acético 3%, a 6,0 mg/L após passagem pelo cartucho e extração com ACN

b) Reagente Purpald

Este método com utilização do reagente Purpald, e posterior análise em espectrofotômetro, mostrou-se ineficaz. Após a reação entre o reagente Purpald e a solução contendo acetaldeído houve formação de composto amarelado, porém muito instável; cinco minutos depois já ficava incolor, não sendo possível fazer a leitura no espectrofotômetro, para quantificação.

c) Derivatização por HBA

A metodologia que se mostrou mais adequada foi a que se baseia na derivatização de acetaldeído a partir da reação com ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA), e posterior análise de absorvância do composto formado no espectrofotômetro. Na Figura 57 encontra-se a curva de calibração obtida neste estudo experimental, o qual se mostrou eficiente na detecção da concentração de acetaldeído.

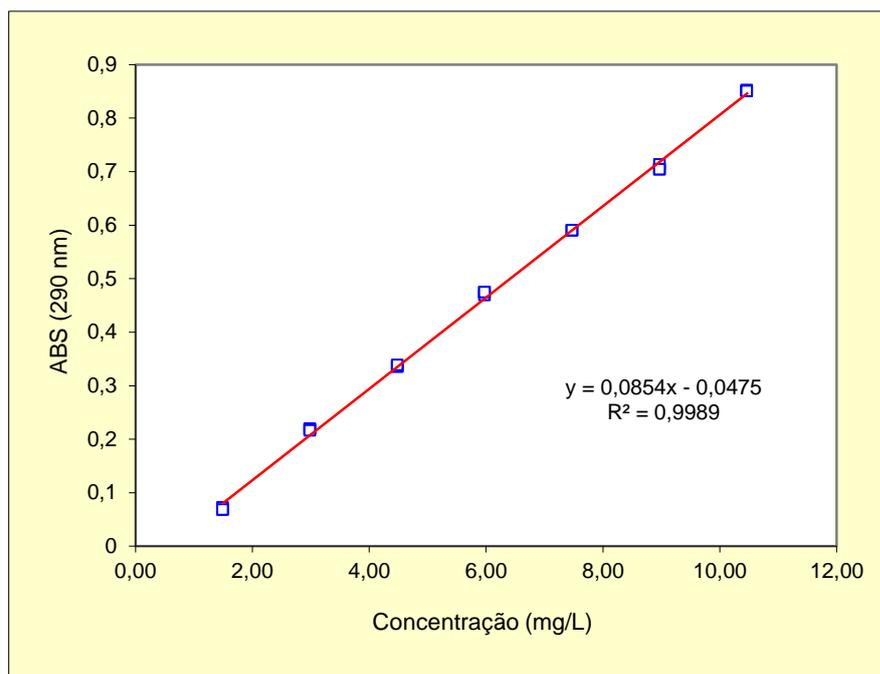


Figura 57. Curva de calibração obtida para teste do método, a partir da reação química dos simulantes, contendo acetaldéido em 7 diferentes concentrações, com HBA.

De acordo com o estudo de PEREIRA et al (2004) é possível quantificar aldeídos de baixo peso molecular a partir da derivatização com ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA). Aldeídos reagem com HBA conforme o esquema apresentado na Figura 6.

Os derivados são aniônicos e detectáveis a 290 nm, podendo ser analisados em eletroforese capilar. No estudo citado acima, as condições de reação foram cuidadosamente otimizadas. No presente estudo, o aldeído de interesse é o acetaldéido, que ao reagir com o HBA forma uma hidrazona detectável no espectrofotômetro.

A análise das absorvâncias de simulantes contendo AA a 6 mg/L, envasados nas garrafas PET-PCR, antes e depois de condicionamento em estufa a 60°C, por 4h (uma das condições de migração), para avaliar o grau de interferência do tempo de preparo do HBA e das amostras nos resultados encontra-se na Tabela 6, com as situações analisadas e as concentrações obtidas.

Tabela 6. Diferentes situações na reação de HBA com os simulantes contendo concentração conhecida de acetaldéido (6 mg/L) (continua).

BA + AA 6 mg/L em ácido acético		
Amostra	Abs 290 nm	Conc. mg/L
Situação I		
Garrafa 1	0,3453	4,60
Garrafa 2	0,3543	4,70
Situação II		
Garrafa 1	0,3347	4,47

Tabela 6. Continuação

Garrafa 2	0,3507	4,66
Situação III		
Garrafa 1	0,3303	4,42
Garrafa 2	0,3357	4,49
Situação IV		
Garrafa 1	0,3203	4,30
Garrafa 2	0,3463	4,61
Situação V		
Garrafa 1	0,3400	4,54
Garrafa 2	0,3467	4,61

Onde,

- **Situação I:** HBA e amostras preparadas no mesmo dia
- **Situação II:** HBA antigo e amostras após 15 h em temperatura ambiente
- **Situação III:** HBA novo e amostras após 15h em temp. ambiente
- **Situação IV:** HBA antigo e amostras após 4h em estufa a 60°C
- **Situação V:** HBA novo e amostras após 4h em estufa a 60°C

A comparação dos resultados obtidos com HBA e amostras recentes, situação I, foi feita com os resultados das situações II, III, IV e V utilizando comparação de médias pelo teste *t*.

Isto significa que as condições de temperatura e tempo de preparo do HBA, não tem muita interferência no resultado da reação química, podendo ser preparado na véspera das análises. O fato de deixar os simulantes em contato com a garrafa PET-PCR a temperatura ambiente, horas antes de ir para estufa aquecida, também não altera os resultados.

4.1.4 Estudo conclusivo

Neste último estudo, já com garrafas PET-PCR próprias para o envase de água mineral, foi feita primeiramente a confirmação da presença de acetaldeído no material plástico, e descarte da presença dos contaminantes etilenoglicol, dietilenoglicol, trietilenoglicol, 1,3-dioxolano e 2-metil-1,3-dioxolano. Em seguida testes de migração foram realizados, a fim de verificar se há o cumprimento da legislação, na qual o limite de migração para acetaldeído em alimentos é de 6,0 mg/L.

Os resultados obtidos, que confirmam a presença de acetaldeído no material plástico, estão na Figura 58; e nas Figuras 59 e 60 encontram-se os cromatogramas de uma solução contendo apenas acetaldeído em água, e amostras de PET-PCR fortificadas com esta solução, respectivamente, a fim de confirmar a presença de acetaldeído nas amostras plásticas. O pico referente ao tempo de retenção do acetaldeído está circulado.

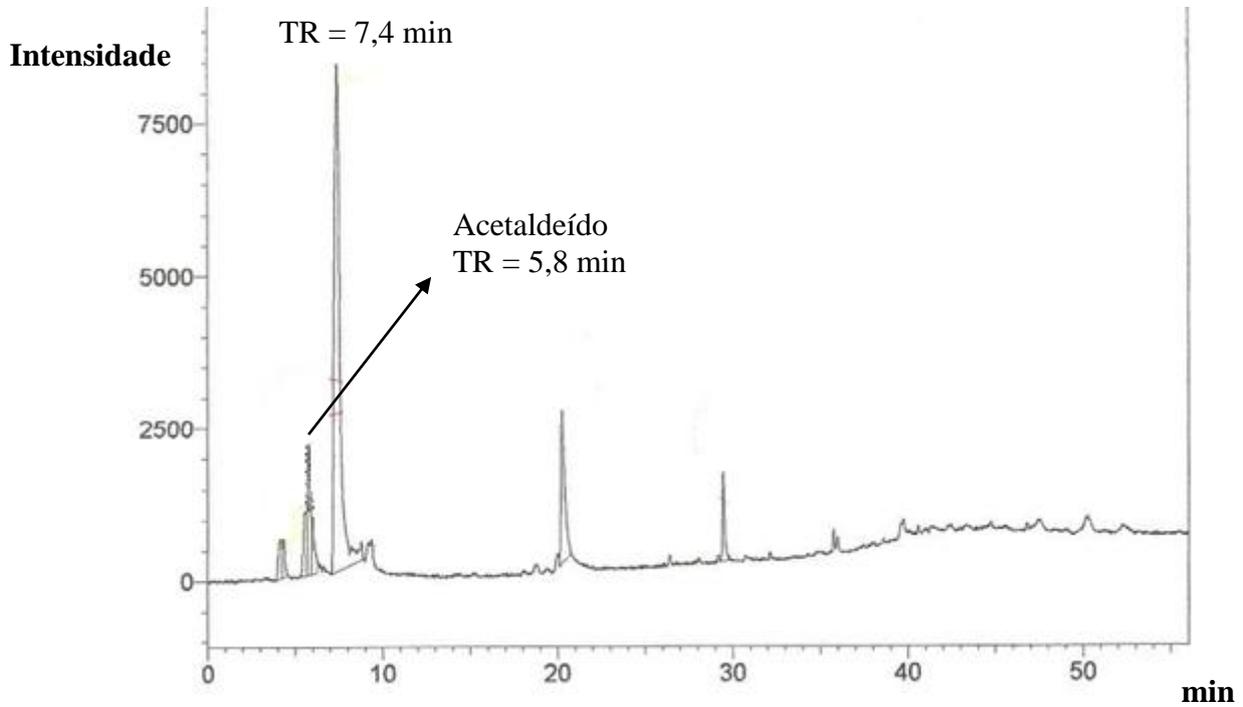


Figura 58. Cromatograma de flocos de garrafa PET PCR, com resina 100% reciclada

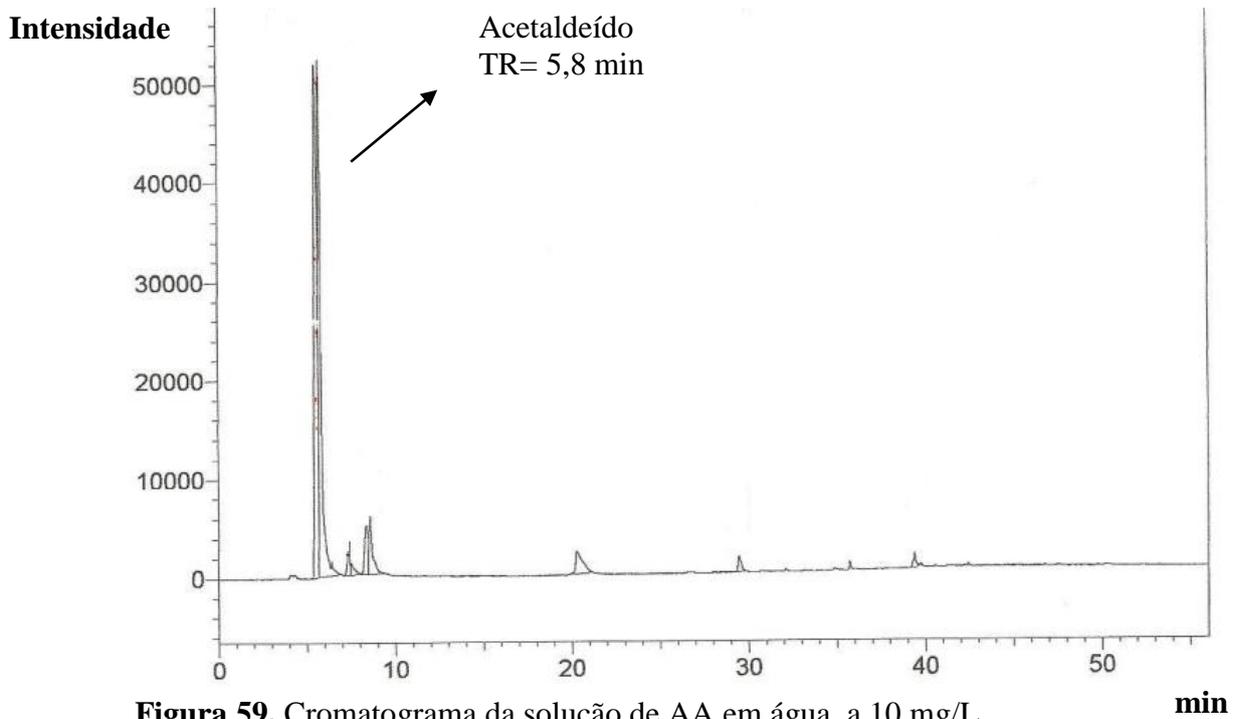


Figura 59. Cromatograma da solução de AA em água, a 10 mg/L

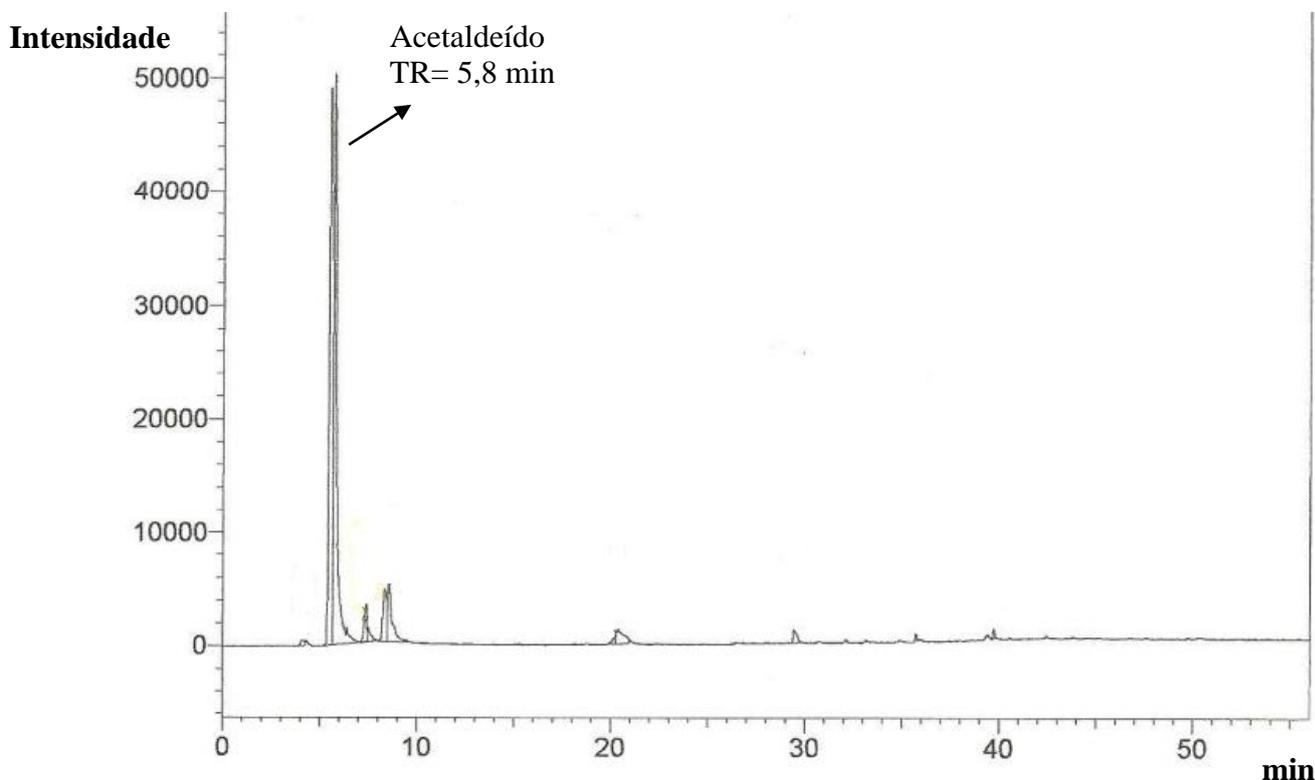


Figura 60. Cromatograma de flocos de garrafa PET fortificados com solução de AA em água a 10 mg/L

As condições de análise dos cromatogramas das figuras 58 a 60 foram: *Headspace* a 60° C, por 1h; coluna DB-624; rampa de temperatura da coluna: 50°C (15 min) 5°C/min → 180°C (15 min).

Os outros padrões analisados (2-metil-1,3-dioxolano; 1,3-dioxolano; etilenoglicol e dietilenoglicol), não apareceram nas amostras de PET-PCR. O acetaldeído corresponde ao pico com tempo de retenção de 5,8 minutos na análise dos flocos de garrafa PET PCR (Figuras 58-60).

Chama a atenção a ocorrência do pico com tempo de retenção de aproximadamente 7,4 minutos, na Figura 58; sua área representa 62% do total, e não se assemelha com nenhum dos padrões utilizados.

Para elucidar qual seria este outro componente presente na garrafa PET-PCR, em quantidade considerável, foi feita a 2ª análise, onde foi usado detector por Espectrometria de Massa (EM). A Figura 61 apresenta uma comparação entre os gráficos da água, do PET-PCR e do frasco de vidro para *headspace* vazio, a fim de elucidar o que aparece em torno de 7,4 min.

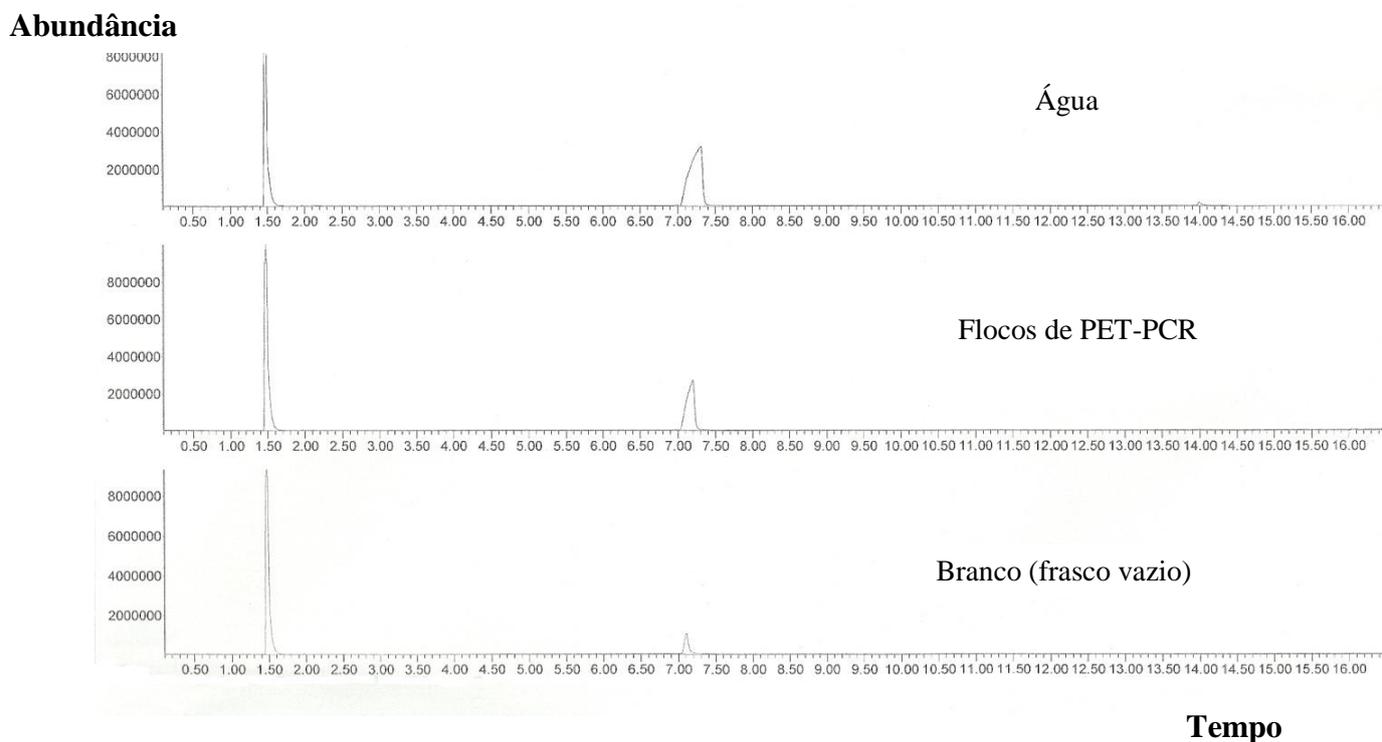


Figura 61. Comparação dos cromatogramas de água, flocos de garrafa PET-PCR e frasco vazio, com destaque para o tempo de retenção de aproximadamente 7,4 min.

Nas Figura 62 e 63 encontram-se cromatogramas dos flocos da garrafa PET-PCR por detector de EM, sendo possível visualizar a composição total do plástico, em duas diferentes escalas. Nesta 2ª análise foi possível confirmar a presença do acetaldeído, através de cromatograma e fragmentograma (Figura 64), e elucidar que outros componentes estão presentes no PET reciclado.

Abundância

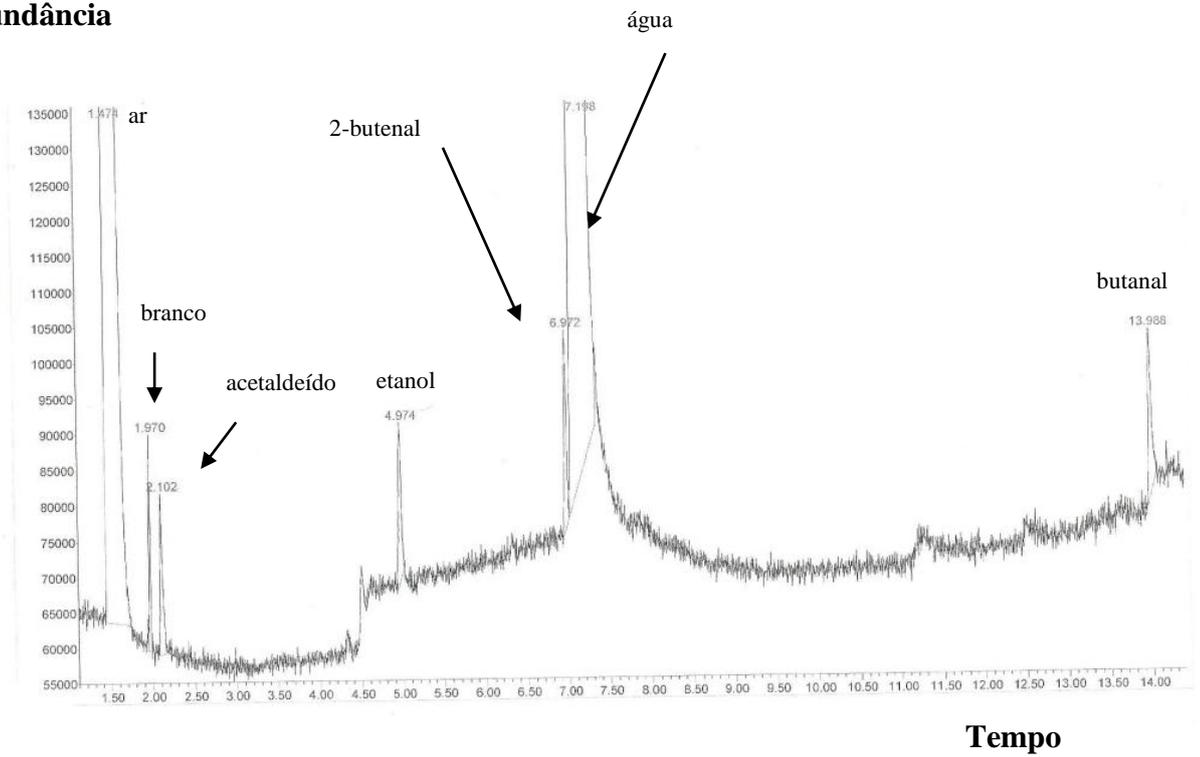


Figura 62. Cromatograma dos flocos da garrafa PET reciclada, em menor escala. Análise em *headspace* – CG - EM.

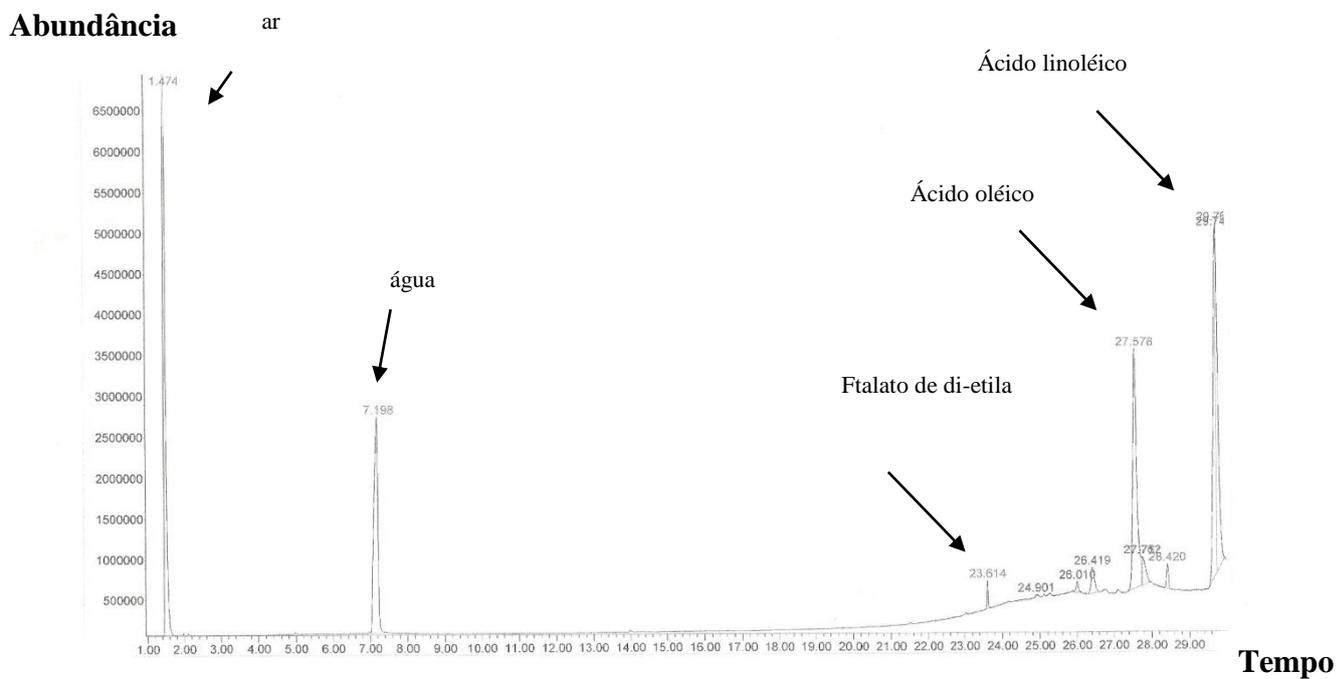


Figura 63. Cromatograma dos flocos da garrafa PET reciclada, em maior escala. Análise em *headspace* – CG-EM.

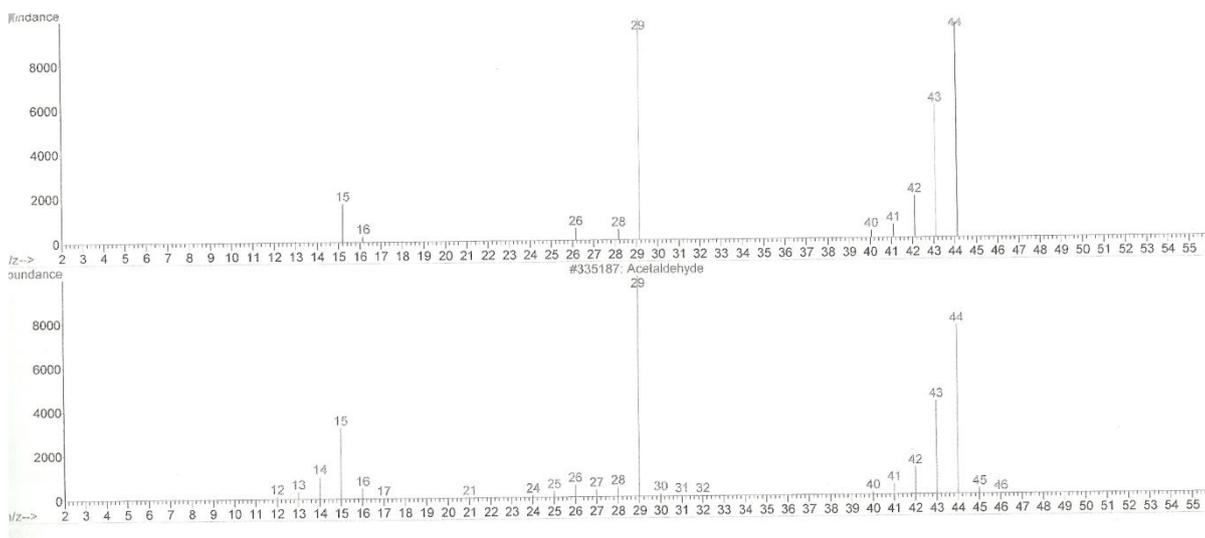


Figura 64. Fragmentograma do AA: comparação da análise com a biblioteca do equipamento

No estudo de SUGAYA et al (2001), foi usado *headspace* acoplado a CG e EM para determinar quantidades traços de acetaldeído em água. A determinação por estes equipamentos mostrou-se ser rápida, acurada e muito mais sensível do que a obtida por extração com solvente.

Os métodos CG com detector DIC e CG com detector EM, apresentados no estudo de HUBER & FRANZ (1997), foram considerados úteis na investigação da pureza de materiais plásticos reciclados. O polietileno reciclado de alta densidade, como o PET-PCR, apresentou alto conteúdo de substâncias migráveis que não estão presentes em material virgem.

A Figura 61 indica que o componente que aparece nos flocos de garrafa PET-PCR na Figura 58 a 7,4 min nada mais é do que água. Na Figura 63 é identificada a presença de ftalato de di-etila (DEP). Ftalatos com pesos moleculares relativamente baixos, como o DMP, o DEP e o DBP, são utilizados em solventes e em adesivos, tintas, cosméticos, ceras, inseticidas, produtos farmacêuticos e de uso pessoal (SONNENSCHNEIN & SOTO, 1998).

A taxa de transferência dos ftalatos, a partir dos plásticos, para o meio (como alimentos e materiais líquidos e gasosos) depende de diversos fatores, como: a concentração dos ftalatos no material, o tempo de estocagem produto em contato com o plástico, a temperatura, o grau de agitação e a natureza do material, sendo que materiais gordurosos tendem a absorver os ftalatos com mais facilidade (SCHETTLER, 2006).

É possível observar na Figura 65 abaixo, a presença de DEP até mesmo no cromatograma do frasco de vidro para *headspace* (*vial*) vazio, ou seja, no frasco usado como branco. Isto indica que o DEP, no presente estudo, pode não ter vindo da embalagem de PET-PCR, e sim de algo presente em todos os frascos utilizados nas análises: o septo.

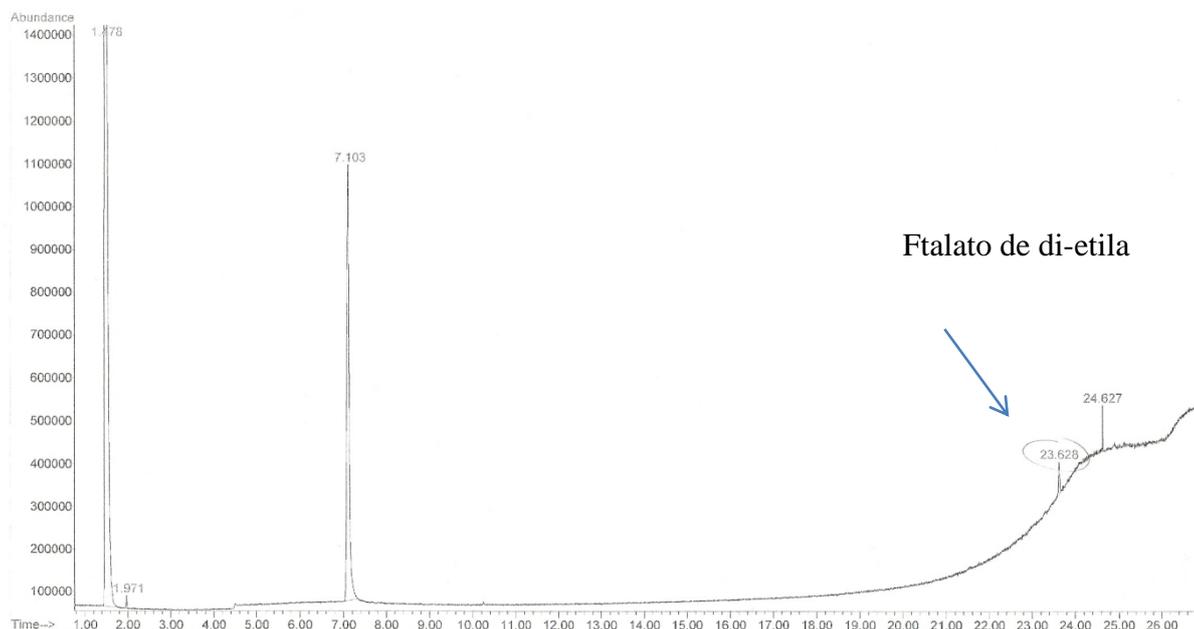


Figura 65. Cromatograma por CG-EM de frasco vazio, indicando presença de ftalato de di-etila.

Na análise por CG-EM também apareceram etanol, 2-butenal e butanal (Figura 62). O etanol é obtido da redução do acetaldeído. O 2-butenal, também chamado de crotonaldeído, é produzido pela condensação aldólica do acetaldeído (KIELHORN, 2008). Está presente em uma variedade de produtos alimentícios, como azeite de soja, e é usado como precursor de conservantes alimentares, como ácido ascórbico e trimetil-hidroquinona (precursor da vitamina E). O butanal é um aldeído, e pode ser assimilado pelo corpo por inalação dos

vapores e pode obstruir as vias respiratórias. Causa irritação nos olhos e na pele (DUNLEVY, 2001).

A presença de ácido linoleico e ácido oleico na garrafa PET-PCR (Figura 63) sugere que antes da reciclagem, estes óleos foram introduzidos nas garrafas ainda virgens, e que o processo de lavagem não foi capaz de removê-los.

Uma vez confirmada a presença de acetaldeído nas embalagens de PET reciclado, torna-se necessário saber o quanto deste contaminante pode migrar para a bebida envasada nestas embalagens, tendo em vista que é um dos contaminantes mais carcinogênicos e mutagênicos citados pela bibliografia referente ao PET.

4.2 Validação dos Ensaio de Migração

4.2.1 Linearidade e curva analítica

A avaliação da linearidade e a confecção das curvas analíticas, para cada simulante (Figuras 66 e 67), foram realizadas através do método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO). Para a utilização do MMQO, devem-se efetuar alguns testes de modo a confirmar as premissas do método. As premissas devem ser satisfeitas, caso contrário, o MMQO não pode ser realizado. Estas se relacionam aos resíduos da regressão e dizem respeito a testes de normalidade, independência, homogeneidade dos resíduos, além da análise de regressão e desvio da linearidade dos resíduos, que foram realizados inicialmente. Os valores aberrantes foram analisados previamente. A cada exclusão, os testes eram novamente executados. A metodologia consta no item 3.9.1.

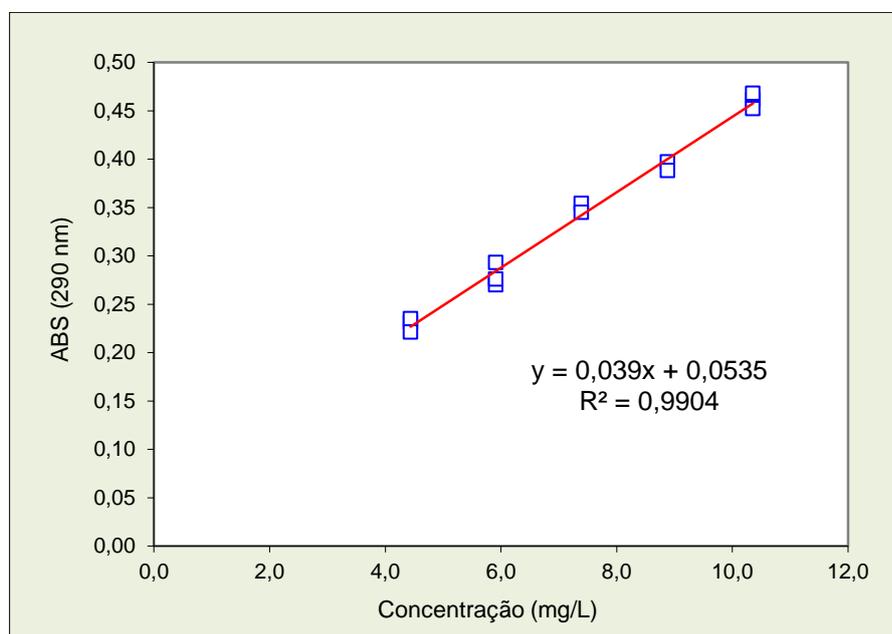


Figura 66. Curva analítica de acetaldeído em água (Concentração x Absorvância)

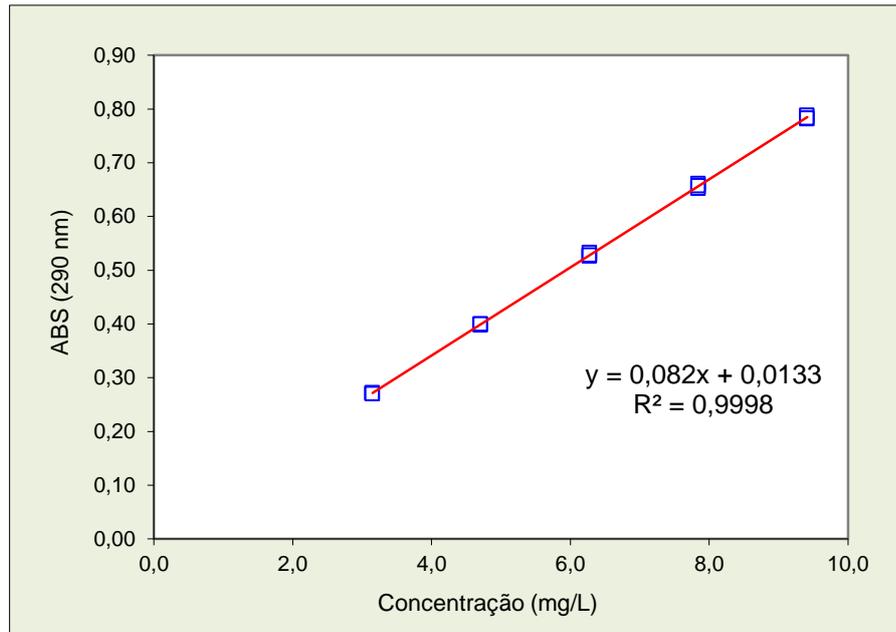


Figura 67. Curva analítica de acetaldeído em ácido acético a 3% (Concentração x Absorvância)

Tratamento de valores aberrantes

Após realização do teste de resíduos padronizados Jackknife, alguns dados foram rejeitados (vide Figuras 68 e 69), permanecendo dentro do limite de 22,2% das mensurações estabelecido por HORWITZ (1995). O MMQO assim como a identificação de valores aberrantes eram recalculados a cada rejeição de dados.



Figura 68. Gráfico exploratório dos resíduos da regressão da curva analítica de acetaldeído em água



Figura 69. Gráfico exploratório dos resíduos da regressão da curva analítica de acetaldeído em ácido acético a 3%

Teste de normalidade dos resíduos

As figuras 66 e 67 demonstram que os dados seguem a distribuição normal. Isso pode ser constatado de duas formas. Uma pelo coeficiente de correlação Ryan-Joiner (teste Ryan-Joiner). O coeficiente de correlação calculado para a curva da Figura 66 (AA em água) foi 0,98, e para a curva da Figura 67 (AA em ácido acético 3%) foi também 0,98. Ambos foram superiores ao valor crítico estabelecido: 0,93 (AA em água) e 0,94 (AA em ácido acético 3%) ($\alpha = 0,05$), não havendo razões para rejeitar a hipótese nula de que os dados seguem a distribuição normal.

Teste de homogeneidade das variâncias dos resíduos da regressão

O teste de Levene adaptado por Brown-Forsythe para avaliar a homogeneidade das variâncias dos resíduos foi realizado. As estatísticas de análise são os valores de t_L e a significância p . O valor de t_L calculado para a curva de AA em água foi igual a 0,193 e, para a curva de AA em ácido acético a 3% foi igual a -0,968. Ambos foram inferiores ao t_L tabelado de 2,20 e 2,16, respectivamente. A significância p calculada foi 0,850 e 0,351 (em água e em ácido acético a 3%, respectivamente), superiores a significância 0,05. Como os valores de t_L e da significância p calculados satisfizeram os critérios, é aceita a hipótese nula de que as variâncias dos resíduos da regressão são constantes e conclui-se que há homogeneidade das mesmas.

Teste de independência dos resíduos

A independência dos resíduos foi avaliada pelo teste de Durbin-Watson. A estatística do teste é o valor de d , inferiores ou superiores. O valor de d calculado para a curva de AA em água foi igual a 2,43; e para a curva de AA em ácido acético 3% foi igual a 2,99, ambos acima dos valores críticos para d_L e d_U , respectivamente, 1,01 e 1,34 ($\alpha = 0,05$), no caso do simulante água; e 1,08 e 1,36 ($\alpha = 0,05$), para o simulante ácido acético 3%. Portanto, a hipótese nula não foi rejeitada e se confirmou a independência dos resíduos da regressão. As Figuras 70 e 71 representam graficamente a independência dos resíduos da regressão.

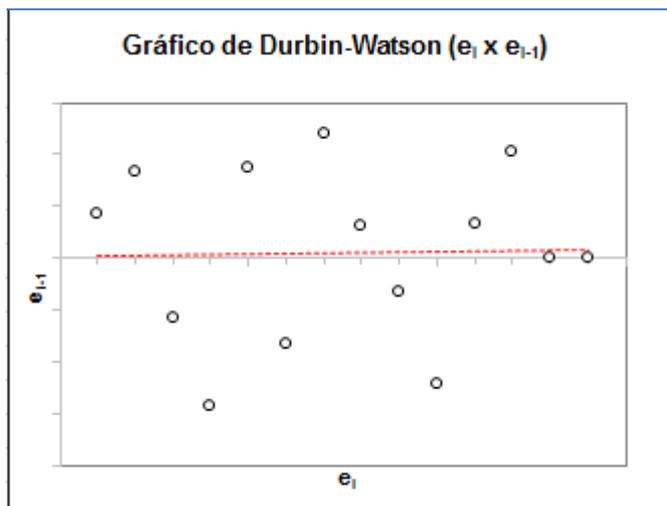


Figura 70. Gráfico de Durbin-Watson da curva analítica ($e_i \times e_{i-1}$) de AA em água

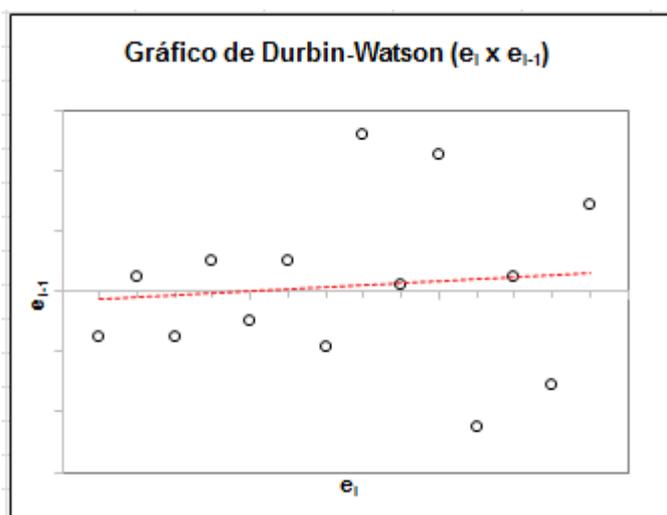


Figura 71. Gráfico de Durbin-Watson da curva analítica ($e_i \times e_{i-1}$) de AA em ácido acético a 3%

Análise de variância dos resíduos da regressão e desvio da linearidade

A regressão linear bem como o ajuste ao modelo foi confirmada através da ANOVA. Os dados são apresentados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Resultados da análise de variância para significância da regressão e desvio de linearidade ($\alpha = 0,05$) para AA em água

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>Significância</i>
Regressão	1	$9,66 \times 10^{-2}$	$9,66 \times 10^{-2}$	$1,14 \times 10^3$	$1,85 \times 10^{-12}$	$p < 0,001$
Resíduos	11	$9,33 \times 10^{-4}$	$8,48 \times 10^{-5}$			
Ajuste	3	$3,35 \times 10^{-4}$	$1,12 \times 10^{-4}$	1,49	$2,89 \times 10^{-1}$	$p > 0,05$
Erro puro	8	$5,98 \times 10^{-4}$	$7,48 \times 10^{-5}$			
Total	12	$9,76 \times 10^{-2}$				

Tabela 8. Resultados da análise de variância para significância da regressão e desvio de linearidade ($\alpha = 0,05$) para AA em ácido acético

<i>FV</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>Significância</i>
Regressão	1	4,95E-01	4,95E-01	6,34E+04	2,31E-25	$p < 0,001$
Resíduos	13	1,02E-04	7,81E-06			
Ajuste	3	8,84E-06	2,95E-06	3,18E-01	8,12E-01	$p > 0,05$
Erro puro	10	9,27E-05	9,27E-06			
Total	14	4,95E-01				

Regressões significativas ($p < 0,001$) e o ajuste ao modelo linear ($p > 0,05$) foram observados nos testes de F. Ao final, a linearidade do método foi comprovada na faixa de trabalho de 4,437 a 10,358 mg/L, para acetaldeído em água, e 3,150 a 9,412 mg/L para acetaldeído em ácido acético. As equações finais de regressão foram: $y = 0,0535 + 0,039x$, e $y = 0,0133 + 0,082x$, respectivamente, sendo y a absorvância do composto resultante da reação química com HBA, e x a concentração do acetaldeído na solução.

Uma questão que pode ser discutida é o fato de que na curva analítica de acetaldeído em ácido acético (Figura 67), ao se considerar os 07 níveis equivalentes aos 07 pontos de concentração diferentes de acetaldeído (1,5; 3,0; 4,5; 6,0; 7,5; 9,0; 10,5), ocorre desvio de linearidade, existindo autocorrelação dos resíduos: $d < dL$ ($\alpha = 0,05$), assim, não sendo aprovada na avaliação de linearidade. Ao reduzirmos para 05 níveis, retirando os valores das extremidades (o primeiro e o último) a curva analítica deixa de ter desvio de linearidade, passa a não existir mais autocorrelação dos resíduos, e a curva é aprovada.

Como a curva analítica só pode ter pontos iguais ou maiores que o limite de quantificação, na curva de AA em água (Figura 66) também houve redução do número de níveis de concentração, chegando a 05 níveis. O limite de quantificação de AA em água passou a ser 2,10 mg/L, e os níveis de concentração (faixa de trabalho) ficou restrito a 4,437 mg/L – 10,358 mg/L.

A curva analítica de acetaldeído em água também foi sendo reduzida em níveis de concentração até que o limite de detecção

4.2.2 Confirmação

Através de CG acoplada a EM foi identificado pico de acetaldeído nos cromatogramas de amostras de garrafa PET-PCR, e confirmada a presença de acetaldeído (Figura 62), para definir se realmente poderia se utilizar as garrafas supracitadas, nos ensaios de migração posteriores. O pico molecular apresentado no fragmentograma (Figura 64) foi o m/z 44 com fragmentos base 29 e 43, confirmando ser o acetaldeído.

O ácido 4-hidrazinobenzóico (HBA) mostrou-se específico para compostos carbonílicos (PEREIRA et al, 2004). Os aldeídos reagem com o HBA e formam hidrazonas detectáveis a 290 nm. É um método que apresentou sensibilidade, simplicidade, oferecendo seletividade para identificação e quantificação do acetaldeído, conforme apresentado nas curvas analíticas das Figuras 66 e 67.

4.2.3 Limites de detecção e quantificação

As Figuras 72 e 73 ilustram e demonstram a metodologia utilizada para a estimativa dos limites. As curvas analíticas de equação $y = 0,0535 + 0,039x$ (de AA em água) e $y = 0,0123 + 0,0807x$ foram utilizadas para a determinação dos limites. As linhas vermelhas indicam os limites superiores e inferiores do intervalo de confiança.

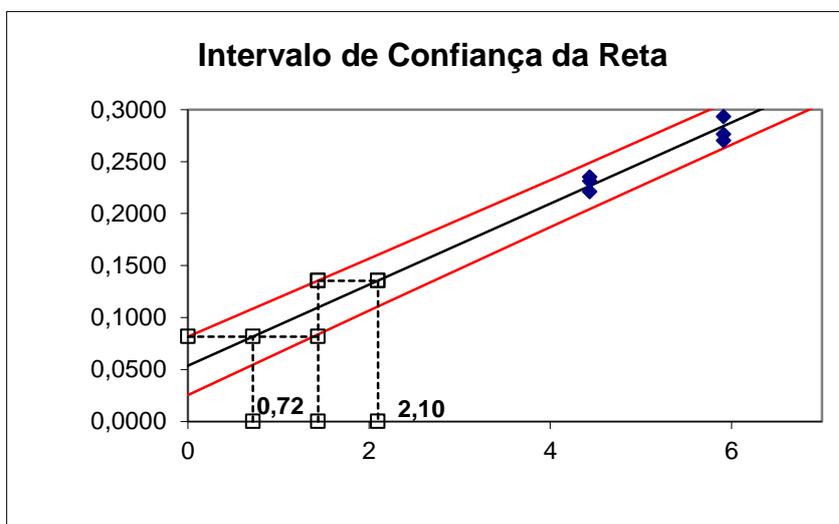


Figura 72. Determinação dos limites de detecção e quantificação a partir da curva de calibração de acetaldeído em água (STATSOFT, 2004)

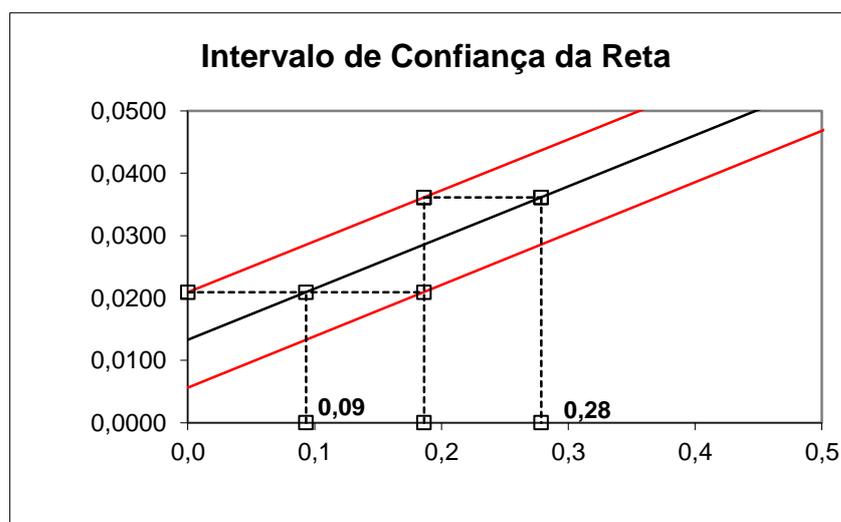


Figura 73. Determinação dos limites de detecção e quantificação a partir da curva de calibração de acetaldeído em ácido acético a 3% (STATSOFT, 2004)

4.3 Resultados das amostras

Os ensaios realizados através de garrafas PET-PCR de 500 mL, com os simulantes água e ácido acético 3% aproximam-se da realidade de armazenamento e transporte das bebidas não-alcoólicas, antes de chegarem ao consumidor.

O primeiro teste de migração foi feito com três garrafas PET-PCR contendo água desionizada, colocadas em estufa a 40°C, por 10 dias, para simular o tempo de prateleira em ambiente sem refrigeração, em lugares de clima quente. Após esse período, alíquotas dos simulantes foram retiradas das garrafas, e adicionadas em tubos de ensaios, para ocorrer a reação química com HBA, e assim produzir um tipo de hidrazona capaz de ser lido e quantificado em espectrofotômetro. Na Figura 74 encontra-se a ilustração de onde ocorreram as reações.

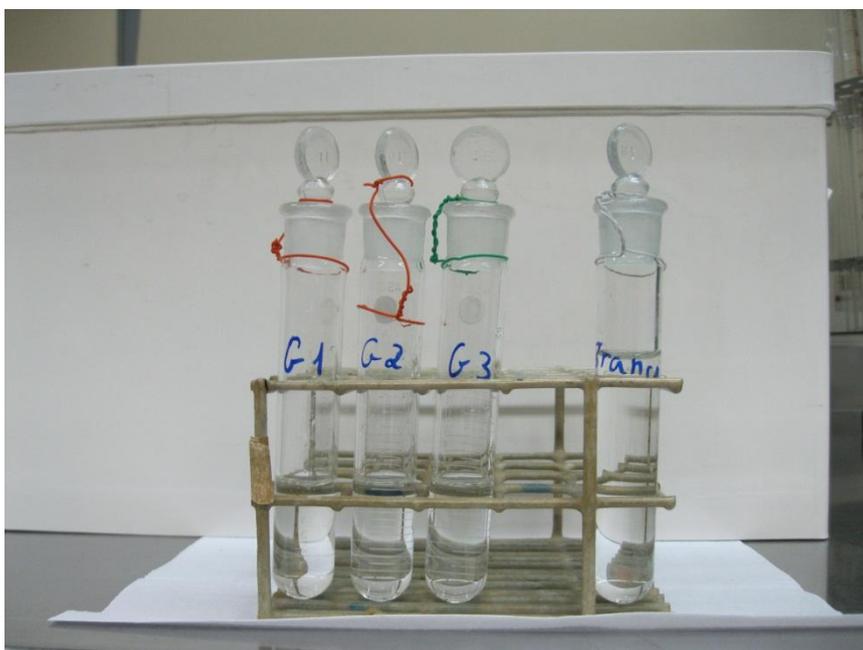


Figura 74. Tubos de ensaio contendo o produto da reação entre o simulante água, após condicionamento na garrafa PET-PCR, HBA trabalho e água tipo I, para formação de hidrazona após 15 min de reação.

Os resultados obtidos da reação citada acima estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Absorvância de amostras de água em garrafas PET-PCR, em condição que simula armazenamento (40° por 10 dias).

Prática (HBA + PET com água) 10 dias a 40°C				
Amostra	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Conc. mg/L
Garrafa 1	0,008	-0,001	-0,008	<LD
Garrafa 2	-0,023	0	-0,008	<LD
Garrafa 3	0,015	0,008	0,023	<LD

Os dados acima indicam que ainda que a água estivesse em contato com a garrafa PET-PCR por tempo prolongado (10 dias), em temperatura elevada (40°C), não houve migração de acetaldeído. As concentrações apresentadas na Tabela 9 estão abaixo do limite de detecção.

Na simulação de transporte, em dias quentes, onde 3 garrafas PET-PCR, contendo também água desionizada, foram colocadas na estufa a 60°C, por 4h, os resultados obtidos foram os apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Absorvância de amostras de água em garrafas PET-PCR, em condição que simula transporte (60° por 4 h).

Prática (HBA + PET com água) 4h a 60°C				
Amostra	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Conc. mg/L
Garrafa 1	-0,006	-0,013	0,007	<LD
Garrafa 2	0,021	0,021	0,021	<LD
Garrafa 3	-0,013	0	-0,014	<LD

Os dados da Tabela 10 revelam que também não houve migração, ou pelo menos está abaixo do limite de detecção, de acetaldeído da embalagem PET-PCR para a água em temperatura elevada (60°), num período relativamente curto, mas próximo do tempo que um caminhão distribuidor de bebidas levaria para chegar aos pontos de venda.

Repetindo esses testes de migração com o simulante de refrigerantes e sucos de fruta (ácido acético 3%), foram obtidos os resultados que se encontram nas Tabelas 11, referente às garrafas que ficaram em estufa a 40°C, por 10 dias; e na Tabela 12, referente às garrafas que ficaram em estufa a 60°C, por 4h.

Tabela 11. Absorvância de amostras de ácido acético 3% em garrafas PET-PCR, em condição que simula armazenamento (40°C, 10 dias).

Prática (HBA + AA em ácido acético) 10 dias, 40°C				
Amostra	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Conc. mg/L
Garrafa 1	-0,014	-0,015	-0,014	<LD
Garrafa 2	-0,009	-0,006	-0,006	<LD
Garrafa 3	-0,01	-0,008	-0,01	<LD

Tabela 12. Absorvância de amostras de ácido acético 3% em garrafas PET-PCR, em condição que simula transporte (60°C, 4h).

Prática (HBA + AA em ácido acético) 4h, 60°C				
Amostra	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Conc. mg/L
Garrafa 1	0,009	0,008	0,009	<LD
Garrafa 2	0,01	0,011	0,009	<LD
Garrafa 3	0,016	0,016	0,015	<LD

As Tabelas 11 e 12 mostram que também não houve migração significativa de acetaldeído no simulante ácido acético a 3% nas condições de armazenamento e transporte, pois a concentração obtida está abaixo do limite de detecção (LD).

Os resultados da situação hipotética, que seria armazenamento a 60°C por 10 dias, para verificar quando ocorre a migração de acetaldeído para a bebida não-alcoólica, encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13. Absorvância da solução de água com a acetaldeído, a 6 ppm, em condições extremas: 60°C, por 10 dias.

Prática (HBA + AA em água) 10 dias, 60°C				
Amostra	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Abs 290 nm	Conc. mg/L
H ₂ O 1	0,431	0,421	0,43	9,29
H ₂ O 2	0,412	0,389	0,38	8,47
H ₂ O 3	0,402	0,445	0,445	9,37
ACETALDEÍDO 6 ppm - Garrafa 1	0,545	0,658	0,577	13,36
ACETALDEÍDO 6 ppm - Garrafa 2	0,577	0,554	0,524	12,34

O uso de condições extremas (60°C, por 10 dias) levou a um acentuado aumento na migração de acetaldeído para o conteúdo da garrafa. A concentração de acetaldeído nas duas soluções de água e acetaldeído, a 6 ppm (6 mg/L), praticamente dobrou (13,36 e 12,34 mg/L). E nas amostras contendo apenas água, a concentração de acetaldeído ficou em torno de 9,0 mg/L, estando bem acima do limite de migração estabelecido pela Comissão de Diretiva da União Européia (EC, 2002), que é de 6,0 mg/L.

EBERHARTINGER et al (1990) já havia observado a migração de acetaldeído de garrafas PET para refrigerantes, contendo ácido carbônico. Eles viram que a 40°C a difusão de AA a partir do PET atingia um nível constante a partir de 4 dias, sendo 10% do valor residual de AA. Aumentando a temperatura com 20°C a mais, este nível aumentou para 50%. Em suas análises de AA em refrigerantes contendo ácido carbônico, observaram que a migração de AA não foi suficiente para alterar o gosto dos refrigerantes, porém houve um efeito negativo em água mineral e soda quando expostas a altas temperaturas (mais de 40°C) por um longo período.

A presença de AA no PET-PCR e sua migração para a bebida, em condições extremas, fazem despertar para a necessidade de monitorar e fiscalizar a produção dessas garrafas, a fim de minimizar o risco à saúde advindo do uso frequente deste tipo de embalagem.

Outros estudos têm apresentado os efeitos toxicológicos de substâncias químicas que migram para bebidas acondicionadas em garrafas PET. EVANDRI et al. (2000) verificaram o efeito toxicológico de substâncias químicas que migraram para água mineral acondicionada em garrafas PET sob diferentes condições de armazenamento (à 40°C no escuro, à 25°C com e sem exposição à luz solar), usando o teste com *Allium cepa*. Os resultados revelaram que as substâncias químicas migradas induziram aberrações citogenéticas independentemente das condições de estocagem, as quais foram evidenciadas após oito semanas de armazenamento e portanto, dentro do prazo de validade do produto.

De FUSCO et al. (1990) já haviam realizado ensaio de mutagenicidade em água mineral acondicionada em garrafas PET sob diferentes condições de armazenamento (no escuro e expostas à luz solar, em diferentes períodos de tempo), usando o teste de Ames. Os resultados mostraram atividade mutagênica na água mineral estocada por 1 mês, que foi

atribuída à presença de substâncias químicas que migraram da embalagem de PET para a água mineral.

WAGNER & OEHLMANN (2010) confirmaram que a atividade estrogênica das garrafas de PET que embalam água foi aproximadamente duas vezes mais alta que a dos produtos das garrafas de vidro. Isto aumentou a hipótese de que a estrogenicidade foi causada por substâncias químicas que migraram da embalagem plástica.

Assim como estudos anteriores, o presente trabalho confirma a presença de acetaldeído nas embalagens PET, tanto virgens quanto recicladas, apresentando uma metodologia simples e prática para determinação da migração daquele contaminante em bebidas não-alcoólicas.

5 CONCLUSÃO

- O método por reação química com HBA, desenvolvido e testado para detecção e quantificação da migração de acetaldeído para simulantes de bebidas não alcoólicas foi considerado adequado ao propósito. Os parâmetros avaliados como faixa de trabalho, linearidade, confirmação, limites de detecção e quantificação apresentaram resultados satisfatórios. A linearidade foi comprovada nas faixas de concentração: 4,437-10,358 mg/L, para o simulante água; 3,150-9,412 mg/L para o simulante ácido acético. O limite de detecção e quantificação estabelecidos foram de: 0,718 mg/L e 2,10 mg/L respectivamente, para acetaldeído em água; 0,093 mg/L e 0,279 mg/L respectivamente, para acetaldeído em ácido acético. Um estudo de validação mais completo para as metodologias sugeridas se faz necessário.
- Garrafas PET pós-consumo recicladas, destinadas ao acondicionamento de água mineral, sucos e refrigerantes foram avaliadas quanto à migração de acetaldeído. Nas condições de armazenamento, 10 dias a 40°C, e nas condições de transporte, 4h a 60°C, não houve migração quantificável de acetaldeído, tanto em simulante água quanto em simulante ácido acético 3%. Porém, em situação extrema, considerando armazenamento por 10 dias, a 60°C, houve elevada migração de acetaldeído para o simulante, ultrapassando o limite de migração estabelecido pela legislação, que é de 6,0 mg/L.
- Os resultados das análises de garrafas PET-PCR favorecem a aplicação da Lei Federal nº 12.305, sancionada no dia 02 de agosto de 2010, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos (PNRS). Ao provarem que não há migração de acetaldeído, contaminante de alta toxicidade, da garrafa PET pós-consumo reciclada para as bebidas, empresas e fabricantes do ramo poderão se sentir estimulados a adotarem a logística reversa de garrafas PET, embora seja prudente a realização de estudos que investiguem uma possível migração de outros tipos de contaminantes.
- Este estudo proporciona, através das análises e testes, elementos importantes para atividades práticas em laboratório, tais como: o ácido 4-hidrazinobenzóico apresentou estabilidade e condições de ser usado em reações após 24h de preparo; o acetaldeído, por ser muito volátil, espalha pelo ar e contamina o ambiente de trabalho, contaminando por consequência, outros solventes e reagentes, e assim interferindo no resultado de análises que fazem uso de *headspace* acoplado a cromatógrafo a gás e detector por ionização em chama; o septo de frascos de vidro próprios para análise em *headspace* (*vial*) liberam ftalato de di-etila durante o aquecimento do forno; os solventes N,N-dimetilformamida e N,N-dimetilacetamida não são bons extratores de acetaldeído a partir de materiais de poli(tereftalato de etileno); água é detectável em cromatografia gasosa, tanto com detector por ionização em chama quanto por espectrometria de massas.
- No presente estudo as garrafas PET pós-consumo recicladas (PCR), que passaram pelo processo *bottle-to-bottle*, mostraram-se aptas para uso e liberadas para o

contato direto com bebidas não-alcoólicas, sem oferecer o risco de migração de acetaldeído para as bebidas. No entanto, é necessário ter cuidado com o armazenamento destas garrafas, evitando-se períodos muito longos de contato com o alimento (10 dias ou mais), e evitando a exposição das mesmas em ambientes quentes, com temperaturas elevadas (60°C). Além disso, outros estudos capazes de garantir ausência de migração de outros possíveis contaminantes são necessários.

6 RECOMENDAÇÕES DE PESQUISA

Nutricionalmente, através da ingestão de antioxidantes, é possível proteger o organismo da ação tóxica de algumas substâncias químicas, incluindo o acetaldeído.

O licopeno se mostrou um agente antioxidante bastante eficaz aos danos provocados pelo acetaldeído na membrana plasmática e no DNA dos fibroblastos, diminuindo os níveis de lipoperoxidação e conseqüentemente fragmentação (GARCIA, 2010). O licopeno é um carotenóide sem a atividade pró-vitamina A, lipossolúvel, composto por onze ligações conjugadas e duas ligações duplas não conjugadas. Atualmente é considerado como o carotenóide que possui a maior capacidade sequestrante do oxigênio singlete, possivelmente devido à presença das duas ligações duplas não conjugadas, o que lhe oferece maior reatividade (KRINSKY, 2001; DI MASCIO et al, 1989). É o carotenóide predominante no plasma e nos tecidos humanos, sendo encontrado em um número limitado de alimentos de cor vermelha (COSTA & MONTEIRO, 2009).

Tomates e derivados aparecem como as maiores fontes de licopeno (DJURIC & POWELL, 2001). O tomate cru apresenta, em média, 30 mg de licopeno/kg do fruto; o suco de tomate cerca de 150 mg de licopeno/litro; e o *catchup* contém em média 100 mg/kg. Outras fontes de licopeno são a goiaba vermelha e melancia (SHAMI & MOREIRA, 2004).

Voluntários saudáveis (3 homens e 3 mulheres) receberam 150 mL de suco de tomate, contendo 0 a 100 mg/kg L-metionina (aminoácido sulfurado), à noite, e às 8h do dia seguinte os voluntários receberam L-metionina (0 ou 100 mg/kg) em suco de tomate contendo frutose (350 mg/kg). Uma hora depois, na manhã, após a dose de metionina ou placebo, os participantes receberam 0,5g de etanol/kg. Amostras da respiração foram coletadas em diferentes momentos. Aqueles que ingeriram metionina exibiram cerca de 22% de redução nos níveis de acetaldeído (TABAKOFF et al, 1989).

Diante dos riscos da presença de acetaldeído no ar, nas embalagens e em alimentos, analisar o grau de proteção que micronutrientes, como o licopeno, podem oferecer ao organismo seria de grande relevância científica.

Propõe-se avaliar através de ensaio cometa a concentração de acetaldeído com sua atividade genotóxica, e em paralelo estabelecer a atividade anti-genotóxica do licopeno em relação ao acetaldeído, também por ensaio cometa. Este ensaio poderia proporcionar um bom prognóstico para identificar possíveis substâncias genotóxicas e com potencial carcinogênico em animais, incluindo em humanos, pois detecta danos nas fitas de DNA (OZAKI et al, 2004).

Outro ensaio, que também poderia ser empregado, é o ensaio de micronúcleo *in vitro* em células sanguíneas humanas ou em células CHO, ou V79 (células pulmonares de hamsteres chineses), que detecta a presença de micronúcleos no citoplasma das células, e que são provenientes de fragmentos de cromossomos ou de perda de cromossomos durante a divisão celular (MONTEITH, & VANSTONE, 1995). Neste segundo ensaio pode-se usar o mesmo procedimento de tratamento descrito para o cometa.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

^aABEPET - Associação Brasileira dos Fabricantes de Embalagens de PET. O lado químico do PET. **Folheto avulso**, São Paulo, 2002.

^bABEPET - Associação Brasileira dos Fabricantes de Embalagens de PET. Fundamentos do PET. **Folheto avulso**, São Paulo, 2002.

ABIPET- Associação Brasileira da Indústria de PET. Pré-formas – Fabricação/2010. Disponível em: <http://www.abipet.org.br/index.html?method=mostrarInstitucional&id=66>. Acesso em 03/05/2011.

^aABIQUIM – Associação Brasileira da Indústria Química. Mercado brasileiro de transformados plásticos / percentual por aplicação. Disponível em: <http://www.abiquim.org.br>. Acesso em: 14 de junho de 2011.

^bABIQUIM – Associação Brasileira da Indústria Química. Mercado brasileiro de transformados plásticos / percentual por tipo de resina. Disponível em: <http://www.abiquim.org.br>. Acesso em: 14 de junho de 2011.

ABINAM – Associação Brasileira da Indústria de Águas Minerais. Consumo mundial de água supera o de refrigerantes. **Edições anteriores**, abril de 2009. Disponível em: http://www.abinam.com.br/materias.php?cd_secao=33&codant=42 . Acesso em: 31 de maio de 2011.

ABRE – Associação Brasileira de Embalagem. Documento Eletrônico. Participação das embalagens no mercado de bebidas. **Revista Embanews**, n. 172, p.34, nov. 2004. Disponível em: http://www.abre.org.br/abre/pesquisa_bib_est_linux.php . Acesso em: 04/08/2009.

ALMEIDA, P.J.; RODRIGUES, J.A.; GUIDO, L.F.; SANTOS, J.R.; BARROS, A.A.; FOGG, A.G.. **Electroanalysis**, 15, p.587, 2003.

ANJOS, C.A.R.. Influência do processo de transformação na geração de acetaldeído e níveis residuais em embalagens de poli(etileno tereftalato) (PET) e em bebidas – artigo de revisão. **BioEng**, Campinas, 1 (3), p. 277-290, set/dez, 2007.

ANVISA - Agência Nacional de Saúde Suplementar, Documento de Trabalho para Discussão na Reunião do GT Embalagem. **Sugestões para Norma sobre Reciclagem de PET (ABREPET)**, 13 de março de 2006.

BALDISSERA, A.F.; PEZZIN, A.P.T.; DUEK, E.A.R.; TESSIER, M.; FRADET, A.; EINLOFT, S.. Reciclagem química de PET pós-consumo: síntese de copolímeros alifático-aromáticos (PET-co-PEA). **Revista Matéria**, v.10, n.4, p. 577-585, 2005.

BELSEY, D.A.; KUH, E.; WELSCH, R.E. **Regression diagnostics: identifying influential data and sources of collinearity**. New York: Wiley. 292 p., 1980.

^aBRASIL. Resolução nº 51, de 26 de novembro de 2010. Dispõe sobre migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 22 de dezembro de 2010.

^bBRASIL Lei nº 12305, de 02 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, ano CXLVII, nº 147, seção 1. Brasília, DF, 03 de agosto de 2010.

BRASIL. Resolução nº 20, de 26 de março de 2008. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre embalagens de polietilenotereftalato (PET) pós-consumo reciclado grau alimentício (PET-PCR) destinados a entrar em contato com alimentos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2008/rdc/20_260308rdc.htm

BRASIL Decreto-Lei nº 5940, de 25 de outubro de 2006. Institui a separação dos resíduos recicláveis descartados pelos órgãos e entidades da administração pública federal direta e indireta, na fonte geradora, e a sua destinação às associações e cooperativas do catadores de materiais recicláveis, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2006. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5940.htm. Acesso em: 20 de out de 2010.

BRASIL. Resolução nº 173, de 13 de setembro de 2006. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Industrialização e Comercialização de Água Mineral Natural e de Água Natural e a Lista de Verificação das Boas Práticas para Industrialização e Comercialização de Água Mineral Natural e de Água Natural. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, Brasília, DF, 2006.

BRASIL. Resolução RDC nº 91 de 11 de maio de 2001. Aprova regulamento técnico – critérios gerais e classificação de materiais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 15 de maio de 2001.

BRASIL. Decreto nº 3.510, de 16 de junho de 2000. Altera dispositivos do Regulamento aprovado pelo Decreto no 2.314, de 4 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 19 de junho de 2000.

BRASIL. Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999. Aprova os regulamentos técnicos e disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 20 de maio de 1999.

BRASIL. Portaria nº 868, de 3 de novembro de 1998. O Secretário de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, no uso de suas atribuições legais e considerando: a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de

alimentos visando a proteção à saúde da população e a necessidade de fixar os requisitos mínimos de características e qualidade a que devem obedecer o COMPOSTO LÍQUIDO PRONTO PARA CONSUMO. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 05 de novembro de 1998.

BRASIL. Portaria nº 27, de 18 de março de 1996. Anexo: Regulamento técnico – critérios gerais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, nº55, p.4696, 20 de mar. 1996, seção 1.

BROWN, M.B.; FORSYTHE, A.B. Robust tests for the equality of variances. **Journal of The American Statistical Association**. v.69, p. 364-67, 1974.

CEMPRE – Compromisso Empresarial para Reciclagem. Disponível em: <http://www.cempre.org.br>. Acesso em: 10 de julho de 2009.

CIPAD – Council of International Plastics Association Directors. Estatística sobre Consumo de plásticos / quilogramas per capita ao ano. 2005. Disponível em: <http://www.cipad.org>. Acesso em: junho de 2011.

CIPOLLA, L.E.; NEVES, M.F.; AMARAL, T.M.. Mercado brasileiro de alimentos líquidos nos anos 90 e perspectivas futuras. **Revista técnico-científica de citricultura**, Centro Avançado de Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Citros Sylvio Moreira. Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, v.23, n.01, p.282-305, 2002.

COMMITTEE ON TOXICITY OF CHEMICALS IN FOOD, CONSUMER PRODUCTS AND THE ENVIRONMENT. Statement on terephthalic and isophthalic acids from cam coatings, 2000. Disponível em: <http://archive.food.gov.uk/fsainfsheet/2000/nv7/7annx.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2003.

COSTA, P.R.F.; GIRIBONI, A.R.. Benefícios dos antioxidantes na alimentação. **Revista Saúde e Pesquisa**, v.2, n.1, p.87-90, jan/abr, 2009.

CZAJKOWSKA, T.; KRYSIAK, B.; POPIŃSKA, E. **Experimental studies of toxic effects of 1,3,5-trioxane and 1,3-dioxolane**. *Medycyna pracy*, 38 (3), p.184-90. Disponível em: <http://toxnet.nlm.nih.gov/> . Acesso em: 10/07/2011.

DAIGNAULT, E.; ELIEL, L.. "2-Cyclohexyloxyethanol (involves acetalisation of cyclohexanone)". Disponível em: <http://en.wikipedia.org/wiki/Dioxolane> . Acesso em: 20/09/2011.

DASKALOPOULOS, E.; BADR, O.; PROBERT, S.D. **Applied Energy**, 58, p.209, 1997.

DE FUSCO, R. et al. Leaching of mutagens into mineral water from polyethyleneterephthalate bottles. **Sci. Total Environ.**, v.90, p.241-248, 1990.

DELLARCO, V. L. A mutagenicity assessment of acetaldehyde. **Mutat. Res.**, v.195, p. 1-20, 1988.

DEVLIEGHERE, F; DE MEULENAER, B; SEKITOLEKO, P; ESTRELLA GARCIA, A; HUYGHEBAERT, A. Evaluation, modelling and optimization of the cleaning processo of contaminated plastic food refillables. **Food Additivies and Contaminants**, v. 4, n° 6-7, p. 671-683, 1997.

DIAS, F.. Política Nacional de Resíduos Sólidos – Câmara Técnica de Meio Ambiente. **Informativo CRQ-III**, p. 3-4, jul/ago, 2010.

DIAS, M. L.. Reciclagem de PET. **Curso administrado no IMA-UFRJ**. 2007

DIAS, S.L.F.G.; TEODÓSIO, A.S.S.. Reciclagem do PET: desafios e possibilidades. **XXVI ENEGEP**, Fortaleza, CE, 9-11 out, 2006.

DI MASCIO P, KAISER S, SIES S. Lycopene as the most efficiente biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 274(2), p.532-8, 1989.

DJURIC, Z.; POWELL, L.C.. Antioxidant capacity of lycopene-containing foods. **International Journal Food of Scientific Nutrition**, 52, p.143-9, 2001.

DRAPER, N.R.; SMITH, H. **Applied regression analysis**. New York: Wiley. 706 p., 1998.

DUARTE, G. M. B. **Determinação do limiar de detecção absoluto e avaliação dos níveis residuais de acetaldeído em águas minerais acondicionadas em garrafas de polietileno tereftalato (PET)**. 2001. 85f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 2001.

DUCHIN, F.; LANGE, G.M.. **Structural Changes and Economic Dynamics**, 9^a ed., 307 p., 1998.

DUNLEVY, B.. Chemical Butanal, prepared 29/11/01 – pages 1 to 5. Disponível em: http://chemistry.slss.ie/resources/downloads/ph_sd_md_butanal.pdf . Acesso em: 10/07/2011.

DURBIN, J.; WATSON, G.S. Testing for serial correlation in least squares regression. **Biometrika**, v.38, p. 159-78, 1951.

EBERHARTINGER, S.; STEINER, I.; WASHUTTI, J.; KROYER, G.. The migration of acetaldehyde from polyethylene terephthalate bottles for fresh beverages containing carbonic acid. **Z Lebensm Unters Forsch**, 191 (4-5), p. 286-9, 1990.

EC - Comunidade Européia. Directive 82/711/CEE, 18 de outubro de 1982. Estabelece as regras de base necessárias à verificação da migração dos constituintes dos materiais e objectos em matéria plástica destinados a entrar em contacto com os géneros alimentícios. **Official Journal of the European Communities**, L. 340, 1982.

EC - European Commission. Directive 2002/72/EC. Relating to plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, 6 August 2002.

EEC, Council Directive 82/711/EEC. Laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. **Official Journal of the European Communities**, L297, 26-30, 1982.

ELERT, G. Viscosity. **The Physics Hypertextbook**. Retrieved on 2007-10-02. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Wikip%C3%A9dia:P%C3%A1gina_principal (Wikipedia). Acesso em: 05 de julho de 2011.

EPA/OFFICE OF POLLUTION PREVENTION AND TOXICS. High Production Volume (HPV) Challenge Program's Robust Summaries and Test Plans for 1,3-Dioxolane (November 2000). Disponível em: <http://cfpub.epa.gov/hpv-s/> . Acesso em: 08 de julho de 2011.

EU-Project FAIR-CT98-4318 "**Recyclability**", Institut Verfahrenstechnik und Verpackung - February, 2003.

EWENDER, J.; WELLE, F.. Determination of the migration of acetaldehyde from PET bottles into non-carbonated and carbonated mineral water. **Institut Verfahrenstechnik und Verpackung – Fraunhofer**, nov 2008.

EVANDRI, M. G. et al. Toxicological evaluation of comercial mineral water bottle in polyethylene terephthalate: a cytogenetic approach with *Allium cepa*. **Food Additives & Contaminants.**, v.17, p.1037-1045, 2000.

FERNANDES, M.H.C.; GARCIA, E. E. C.; PADULA, M.. **Migração de componentes de embalagens plásticas para alimentos**, ITAL, Campinas, SP, 153 p., 1987.

FERRAROLI, F. et al.. Polímeros do future – tendências e oportunidades: palestras técnicas (II). **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.12, n.4, p. 4-43, 2002.

FDA - U.S. Food and Drug Administration. Guideline for Submitting Documentation for Packaging for Human Drugs and Biologics. Feb, 1987. Disponível em: <http://www.v.fda.Qov/cderlguidance/packaQe.htm>. Acesso em: 26/09/2006.

FLANCO exposto. **Plásticos em revista**, p.28, jun., 2001.

FORMIGONI, A. F.; CAMPOS, I. P. A.. Reciclagem de PET Bottle-to-Bottle. **In: 1st International Workshop / Advances in Cleaner Production**, 2004.

FRANZ, R.; BAYER, F.; WELLE, F.. Guidance and criteria for safe recycling of post consumer polyethylene terephthalate (PET) into new food packaging applications. **European Commission**, 2004.

FRANZ, R; MAUER, A; WELLE, F. European survey on post-consumer poly(ethylene terephthalate) (PET) materials to determine contamination levels and maximum consumer exposure from food packages made from recycled PET. **Food Additives and Contaminants**, v. 21, n° 3, p. 265-286, 2004.

FREIRE, M.T.A.; BOTTOLI, C.B.G.; FABRIS, S.; REYES, F.G.R.. Contaminantes voláteis provenientes de embalagens plásticas: desenvolvimento e validação de métodos analíticos. **Química Nova**, v.31, n.6, p.1522-1532, 2008.

FREIRE, M.T.A.; CASTLE, L.; REYES, F.G.R.; DAMANT, A.P.. Thermal stability of polyethylene terephthalate food contact materials: formation of volatiles from retail samples and implications for recycling. **Food Additives and Contaminants**, v.15, n.4, p.473-480, 1998.

FREIRE, M.T.; REYES, F.G.R. A importância do polietileno tereftalato (PET) na indústria de embalagens para alimento. **Boletim do SbCTA**, v.31, p.129-136, 1997.

FREHSE, H.; THIER, H.P. **Die ermittlung er nachweisgrenze und bestimmungsgrenze bei ruck standanalysen nach dem neuen.** DFG-Konzept. GIT Fachzeitschrift für das Laboratorium. v.35, p. 285-91, 1991.

GARCIA, C.C.M.. Quantificação de danos em DNA induzidos por acetaldeído. Potencial biomarcador de poluição ambiental. 2010. 239 p. **Tese de doutorado** – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

GESTIS - Substance DatabaseHidrazina. Disponível em: [http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_en/h/002010.xml?f=templates\\$fn=default.htm\\$3.0](http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_en/h/002010.xml?f=templates$fn=default.htm$3.0)
Acesso em: 20/09/2011.

GIMENEZ, K.. **Plásticos em revista**, p.22, maio, 2002.

GOBATO, E.A.A; LANÇAS, F.M. Comparação entre Injeção na Coluna e Headspace Dinâmico na determinação de Benzeno, Tolueno e Xilenos em Amostras de Água. **Química Nova**, v.24, n.2, p. 176-179,2001.

GRAMICCIONI, L.; MILANA, M.R.; DI MARZIO, S.; LO RUSSO, S.. GC determination of traces of acetaldehyde in aqueous matrix: a rapid headspace method. **Chromatographia**, 21, p. 9-11, 1986.

HEIDARY, S.; GORDON, B.. Hydrolyzable Poly(ethylene terephthalate). **Journal of Environmental Polymer Degradation**, v.2, p.19-26, 1994.

HERNANDEZ, R.J.; SELKE, S.E.M.; CULTER, J.D.. Plastics packaging – properties, processing, applications and regulations. **Hanser**, Munich, 2000.

HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies. **Pure Applied Chemistry**. v. 67, p. 331-43, 1995.

HUBER, M.; FRANZ, R.. Identification of migratable substances in recycled high density polyethylene collected from household waste. **Journal of High Resolution Chromatography**, v.20, 1997.

IARC - International Agency for Research on Cancer/ World Health Organization. Dry Cleaning, some Chlorinated Solvents and Other Industrial Chemicals. In: **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans**, v. 63, p.443, 1995.

IARC - International Agency for Research on Cancer/ World Health Organization. Alcohol Drinking. In: **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans**, v. 44, p.35, 1998.

IARC - International Agency for Research on Cancer. Man-made fibers and radon. In: **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans**. Lyon, France: v.43, 300 p., 1988.

IARC - International Agency for Research on Cancer. Studies of Cancer in Humans. **IARC Monographs**, v.71, 321p., (1987).

ILSI. International Life Sciences Institute. **Report on packaging materials: 1. Polyethylene terephthalate (PET) for food packaging applications**. Belgium, 2000. Disponível em: <http://europe.ilsa.org/file/ILSIPET.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2003.

International Laboratory Accreditation Conference. Disponível em: <http://www.ilac.org>. Acesso em: 19 de julho de 2009).

ISO GUIDE 35- **Reference Material – General and Statistical principles for certification**. International Organization for Standardization. Geneva, 3 rd edition, 2006.

JAGENDA DA XXV REUNIÃO ORDINÁRIA DO SGT-3 / Comissão de Alimentos. Proposta de Regulamentação de PET-RPC no Mercosul, Buenos Aires, 15-19 de maio de 2006. Disponível em: <http://www.mercosur.int/EMweb/principal/contenido.asp>. Acesso em 28 set. 2006.

KIELHORN, J.; MANGELSDORF, I.; ZIEGLER-SKYLAKAKIS, K.. 2-butenal. World Health Organization, United Nations Environment Programme, International Labour Organisation, International Program on Chemical Safety, Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals Publisher World Health Organization, V. 74 of Concise international chemical assessment document 2-butenal, 2008 ISBN924153074X, 9789241530743, 47 p., 2008.

KINT, D., MUNÓZ-GUERRA, S., “In A Review on The Potential Biodegradability of poly(ethylene terephthalate)”, **Polymer International**, v. 48, p. 346-352, 1999.

KONDO, T.; HASEGAWA, K.; UCHIDA, R.; ONISHI, M.. **Science of the Total Environment**, 224, p. 121-132, 1998.

KRINSKY, N.I.. Carotenoids as antioxidants. **Nutrition**, 17, p.815-7, 2001.

KUNUGITA, N.; ISSE, T.; OYAMA, T.; KITAGAWA, K.; OGAWA, M.; YAMAGUCHI, T.; KINAGA, T.; KAWAMOTO, T.. Increased frequencies of micronucleated reticulocytes and T-cell receptor mutation in ALDH2 knockout mice exposed to acetaldehyde. **Journal of Toxicological Sciences**, 33 (1), p. 31-36, 2008.

LAN, J.. Consumo de água mineral no país em 2010. **Mercado**, 14 de janeiro de 2011. Disponível em: http://www.mktmais.com/2011/01/mercado-consumo-de-agua-mineral-no-pais.html?utm_source=feedburner&utm_medium=feed&utm_campaign=Feed%3A+Mktmais+%28MKTmais+-+estrat%C3%A9gia%2C+marketing+e+novos+neg%C3%B3cios%29. Acesso em: 31 de maio de 2011.

LAMBERT, B.; Acetaldehyde-induced mutation at the hprt locus in human lymphocytes in vitro. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, 16 (2), p. 57-63, 1990.

LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: OLKIN, I; GHURYE, S.G.; HOFFDING, W.; MADOW, W.G.; MANN, H.B. (Ed.). **Contributions to probability and statistics**. Stanford University Press, 278-92, 1960.

LO RUSSO, S.L.; GRAMICIONI, S.; DI MARZIO, M.R.; PROSPERO, P.; PAPETTA, A.. Acetaldehyde from polyethyleneterephthalate (PET) containers. GC determinations and toxicological assessment. **Annali di Chimica**, 75, p. 403-414, 1985.

MANCINI, S.; MATOS, I.G.; ALMEIDA, R.F.. Determinação da Variação da Viscosidade Intrínseca do Poli (Tereftalato de Etileno) de embalagens. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.14, n.2, p.69-73, 2004.

MANCINI, S.D.; BEZERRA, M.N.; ZANIN, M.. Reciclagem de PET advindo de garrafas de refrigerante pós-consumo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, abr/jun, p. 68-75, 1998.

MERCOSUL e outros Países Latino-americanos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 14, n.1, 2004.

MERCOSUL. Determinação da migração específica etilenoglicol (EG) e dietilenoglicol (DEG) em embalagens e equipamentos de polietileno tereftalato destinados a entrar em contato com alimentos. **Resolução 11/95 do Grupo Mercado Comum**, Montvidéo, 1995.

MÍDIO, A. F.; MARTINS, D. I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 295p.

MONTEITH, D. K.; VANSTONE, J. Comparison of the microgel electrophoresis assay and other assays for genotoxicity in the detection of the DNA damage. **Mutation Research**, Amsterdam, v.345, n. 3-4, p. 97-103, 1995.

MONTEIRO M., et al. A GC/MS method for determining UV stabilizers in PET bottles. **High-resolution Chrome**, v.21, n.5, p.317-320, 1998.

MUTSUGA, M., TOJIMA, T., KAWAMURA, Y., TANAMOTO, K. Survey of formaldehyde, acetaldehyde and oligomers in polyethylene terephthalate food-packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, 22 (8), p. 783-789, August 2005.

NASSER, A.L.M.; LOPES, L.M.X.; MONTEIRO, M.. Oligômeros em embalagem de PET para água mineral e suco de fruta. Uma revisão. **Alimentos e Nutrição**, v.16, n.2, p.183-194, abr / jun 2005.

NERIN, C; ALBINANA, J; PHILO, M.R; CASTLE, L; RAFFAEL, B; SIMONEAU,C. Evaluation of some screening methods for the analysis of contaminants in recycled polyethylene terephthalate flakes. **Food Additives and Contaminants**, v. 20, n° 7, p. 668-677, 2003.

NETTO, G.C. Cervejas entram na era PET. **Jornal da UNICAMP**, p.9, 3 a 16 de jul, 2006.

OZAKI, A.; YAMUCHI, Y.; FUJITA, T.; KURODA, K.; ENDO, G.. Chemical analysis and genotoxicological safety assesment of paper and paperboard used for packangng. **Food and Chemical Toxicological**, 42, p. 1323-1337, 2004.

OLIVEIRA, F.S; LEITE, B.C.; ANDRADE, M.V.S.; KORN, M.. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 16, p.87, 2005.

PADULA, M; CUERVO, M.. Legislação de Embalagem para Contato com Alimentos: Embalagem e Segurança dos Alimentos. **Artigo on line**, 2006. Disponível em: http://www.cetea.ital.org.br/cetea/informativo/v18n2/v18n2_artigo2.html. Acesso em: 17/02/2008.

PAPASPYRIDES, C.D.; TINGAS, S.G. Comparison of isopropanol and isooctane as food simulants in migration tests. **Food and Additive Contaminants**. v. 15, n°5, p. 681-689, 1998.

PEREIRA, E.A.; REZENDE, M.O.O.; TAVARES, M.F.M.. Analysis of low molecular weight aldehydes in air samples by capillary electrophoresis after derivatization with 4-hydrazinobenzoic acid. **Journal of Separation Science**, 27, p. 28-32, 2004.

PIRINGER, O; FRANZ, R; HUBER, M; BEGLEY, T.H; Mc NEAL, T.P. Migration from Food Packaging Containing a Functional Barrier: Mathematical and Experimental Evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p. 1532-1538, 1998.

Plastivida. **Reciclagem**. Disponível em: <www.plastivida.org.br>. Acesso em: 06 set. 2005.

PLASTICS EUROPE – Association of Plastics Manufactures Índice de reciclagem mecânica de plásticos (IRMP) em países da União Européia e Brasil. Disponível em: <http://www.plasticseurope.org/> 2007. Acesso em: 10 de junho de 2011.

PÖSCHL, G.; SEITZ, H.K.. Alcohol and Cancer - Review. **Alcohol & Alcoholism**, v.39, n.3, p. 155-165, 2004.

QMCWEB - Revista Eletrônica do Departamento de Química. Moléculas Quirais. Disponível em: <http://W.NWqmc.ufsc.br/qmcweb/artioos/drooasquirais.html>. Acesso em 28/09/2006.

QUESENBERRY, M.S.; LEE, Y.C.. A rapid formaldehyde assay using Purpald reagente: application under periodation conditions. **Analytical Biochemistry**, 234, p. 50-55, 1996.

RABELLO, M.S.; WELLEN, R.M.R.. Estudo da cristalização a frio do poli (tereftalato de etileno) (PET) para produção de embalagens. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.3.2, p.01-09, 2008.

RAMALHO, M.A.S.; BERTAZZOLI, R.. Determinação de ametrina em amostras de solo por CG/MS com injeção direta via Chromatoprobe. 34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ). **Trabalhos da área química ambiental**, maio de 2011.

REVLOG. **The European working group on reverse logistics**. Disponível em: <http://www.fbk.eur.nl/OZ/REVLOG/Introduction.htm>. Acesso em: janeiro de 2009.

RODGHER, V.S.; STRADIOTTO, N.R.; ZANONI, M.V.B.. Eletroanálise de derivados acetaldéido com hidrazina e determinação em amostras de álcool combustível por voltametria de onda quadrada. **Química Nova**, v.29, n.4, p.665-665, 2006.

ROLIM, A. M.; NASCIMENTO, L. F.. Oportunidades na Reciclagem de PET e Inovação: Estudo de Dois Casos
In: Simpósio de Gestão da Inovação Tecnológica, 21., São Paulo, 7 a 10 de nov. 2000. Anais... XXI Simpósio de Gestão da Inovação Tecnológica.

ROWE, V.K.; WOLF, M.A.. Glycols In: CLAYTON, G. D.; CLAYTON, F. E.. **Patty's industrial hygiene and toxicology**, 3 ed., New York, Wiley-Interscience, v.2c, p. 3817-3838, 1982.

RYAN, T.A.; JOINER, B.L. **Normal probability plots and tests for normality**. The States College: Pennsylvania State University, 15 p., 1976.

SANTOS, AS. F; AGNELLI, J.A M; MANRICH, S. Aspectos Toxicológicos sobre o Uso do Plástico Reciclado para Contato Direto com Alimentos. **Revista Brasileira de**

Toxicologia, v. 16, n. 2, p. 95-100, 2003.

SANTOS, A.S.F.; AGNELLI, J.A.M.; MANRICH, S.. Tendências e desafios da reciclagem de embalagens plásticas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 14, n.5, p.307-312, 2004.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. et al. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. p. 24-27.

SAUVANT, M. P.; PEPIN, D.; BOHATIER, J. Chemical and *in vitro* toxicological evaluations of water packaged in PVC and PET bottles. **Food Addit. Contam.**, v.12, 194, p.584-586, 1995.

SCHETTLER, T.. Human exposure to phthalates via consumer products. **International Journal of Andrology**, 29, 134-9, 2006.

SHAMI, N.J.I.E.; MOREIRA, E.A.M.. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, 17 (2), p.227-236, abr/jun, 2004.

SHEEHAN, R.J. Terephthalic acid, dimethyl phthalate and isophthalic acid. In: Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. 5th completely revised ed, v. 26. **VCH Verlagsgesellschaft**, p. 193-204, 1995. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Wikip%C3%A9dia:P%C3%A1gina_principal . Acesso em: 10/04/2011.

SONNENSCHNEIN, C., SOTO, A.M. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, 65, p.143-150, 1998.

SPINACÉ, M. A. S; PAOLI, M. A Tecnologia da Reciclagem de Polímeros. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 65-72, 2005.

STRYER, L. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A.; 869 p., 1992.

SUGAYA, N.; et al.. Analysis of aldehydes in water by headspace-GC-EM. **Journal of Health Science**, 47 (1), p.21-27, 2001.

TABAKOFF, B. et al.. Methionine lowers circulating levels of acetaldehyde after ethanol ingestion. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, 13 (2), p.164-71, 1989.

TIMBRELL, J. A. Principles of Biochemical Toxicology. **Informa Health Care**, Fourth Edition, 2008.

TIMBRELL, J. A. Introduction to Toxicology. **CRC Press**, third Edition, 2002. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Wikip%C3%A9dia:P%C3%A1gina_principal .

Acesso em: 10/04/2011.

WELLE, F.. Decontamination efficiency of a new post-consumer poly(ethylene terephthalate) (PET) recycling concept. **Food Additives and Contaminants**, 25(1), p.123-131, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO; Environmental Health Criteria 167: Acetaldehyde. pp. 19-26 (1995)

WOUTERSEN, R.A.; APPELMAN, L.M.; FERON, V.J.; VAND DER HEIDJEN, C.A.. Inhalation toxicity of acetdaldehyde in rats. **Toxicology**, 31 (2), p. 123-133, 1984.

WYATT, D.M.. Semi-automation of headspace as applied to determination of acetaldehyde in PET bottles. **Journal of Chromatography Science**, Niles, IL, v.21, n.11, p.509-511, 1983.

YAO, H.H.; PORTER, W.H.. Simultaneous determination of ethyleneglycol and its major toxic metabolite, glycolic acid, in serum by gas chromatography. **Clinical Chemistry**, v.42, n.2, p.292-297, 1996.