

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE FUNDAÇÃO  
OSWALDO CRUZ

Luciene de Oliveira Morais

**EMBALAGENS PARA ALIMENTOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA  
REPRESENTAM PERIGO PARA A POPULAÇÃO HUMANA? UMA REVISÃO  
SISTEMÁTICA COMO SUBSÍDIO PARA AÇÕES DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA**

Rio de Janeiro

2018

Luciene de Oliveira Morais

EMBALAGENS PARA ALIMENTOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA  
REPRESENTAM PERIGO PARA A POPULAÇÃO HUMANA? UMA REVISÃO  
SISTEMÁTICA COMO SUBSÍDIO PARA AÇÕES DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadores: Dra. Isabella Fernandes Delgado

Dr. José Mauro Granjeiro

Rio de Janeiro

2018

Catálogo na fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Morais, Luciene de Oliveira

Embalagens para alimentos contendo nanopartículas de prata representam perigo para a população humana? uma revisão sistemática como subsídio para ações de vigilância sanitária. / Luciene de Oliveira Moraes - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2018.

154 f. : il. ; fig. ; graf. ; tab.

Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

Orientador: Isabella Fernandes Delgado.

Co-orientador: José Mauro Granjeiro.

1. Nanopartículas 2. Prata. 3. Toxicidade. 4. Vigilância Sanitária. 5. Revisão Sistemática. I. Título.

Food packages containing silver nanoarticles represent a danger to the human population? A Systematic Review as Subsidy for Health Surveillance Actions.

Luciene de Oliveira Moraes

EMBALAGENS PARA ALIMENTOS CONTENDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA  
REPRESENTAM PERIGO PARA A POPULAÇÃO HUMANA? UMA REVISÃO  
SISTEMÁTICA COMO SUBSÍDIO PARA AÇÕES DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

Tese apresentada ao curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado: 29 de junho de 2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Maria Helena Simões Villas Bôas (Doutora)

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Vittorio Moraschini Filho (Doutor)

Universidade Federal Fluminense

---

Adriano Arnóbio José da Silva e Silva (Doutor)

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

ORIENTADORES

---

Isabella Fernandes Delgado (Doutora) – Orientadora

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

José Mauro Granjeiro (Doutor) - Co-orientador

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

Ao meu pai (*in memoriam*) e minha querida mãe pela oportunidade que me deram e cujo caminho de retidão guiou meus passos até aqui.

A Laís e Livia que são fontes inesgotáveis de alegria e descontração.

Aos amigos cuja ajuda foi imprescindível em todas as conquistas que tive.

## AGRADECIMENTOS

Alguém já disse que “*a gratidão é a lembrança do coração*”. Faz sentido. Ao longo de nossas vidas sempre aparecem “anjos da guarda” que nos ajudam, e sem os quais nossos objetivos seriam muito difíceis de alcançar, ou seriam até inatingíveis. Estes quatro anos em que fiz esta pesquisa não foi uma jornada breve, mas uma travessia que parecia sem fim, principalmente pelas intercorrências pessoais de toda ordem. Esses percalços, longe de obscurecerem o trajeto, aumentaram-lhe o brilho. E, ao invés de me deterem, impulsionaram-me com mais força. Se o desafio era enorme, as motivações eram grandiosas. Nenhum empreendimento é realizado de forma fácil e sem esforço. Por isso essa parte da tese é tão especial. Quero aqui expressar de coração os meus agradecimentos às seguintes instituições e pessoas:

Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS, pela possibilidade de fazer parte desta Pós-Graduação.

Ao Laboratório Químico-Farmacêutico da Aeronáutica (LAQFA), particularmente nas pessoas dos Coronéis Farmacêuticos Luiz Eduardo Ghetti, Luís Antônio De Angelis Júnior e Jovania Fabiana Ribeiro de Paiva, por entenderem a importância de ter um profissional qualificado.

À minha orientadora, Isabela Fernandes Delgado, pelos ensinamentos passados desde o mestrado, os quais foram, são e serão muito importantes para a minha vida pessoal e profissional. Para mim, foi uma imensa honra e orgulho tê-la como orientadora por mais de sete anos. Não esquecerei a sua inestimável confiança, sua cordialidade e simpatia sempre ao me receber, e a sua orientação sempre tão competente. A você minha eterna gratidão!

Ao meu coorientador José Mauro Granjeiro, por ter depositado confiança em mim para a execução deste trabalho, pelas críticas, correções e sugestões sempre úteis que contribuíram muito para a melhoria do resultado final.

À todos os professores do PPGVS, cujos ensinamentos transmitidos, além de terem contribuído para a minha formação profissional, geraram em meu coração a paixão e o desejo de aprender cada vez mais sobre Vigilância Sanitária.

A Dra. Kátia Leandro, pelo exemplo profissional e pessoal, e por ter me mostrado que na vida de todos nós poderão surgir situações inesperadas. Poderão manifestar obstáculos ou problemas que jamais havíamos imaginado. E justamente nesses momentos devemos ser fortes para enfrentar e vencer as dificuldades em vez de desistir de tudo. Meu muito obrigado de coração!

Aos colegas de doutorado, alguns desde o mestrado, que fizeram das aulas encontros inesquecíveis, de muita alegria, companheirismo e aprendizado.

A Profa. Dra. Maria Inês Bruno Tavares, Coordenadora do Curso de Graduação em Nanotecnologia da UFRJ, por me ensinar de forma simples e precisa o universo das nanopartículas e ao Prof. Dr. Adriano Arnóbio, pelas preciosas aulas de revisão sistemática.

A banca do exame de qualificação pela contribuição inestimável para o aprimoramento deste trabalho e pela participação como membros da banca examinadora da defesa, em especial a Profa. Dra Maria Helena Simões Vilas Boas, que muito contribuiu para esta forma final da tese.

As amigas Luciana e Mariana pelas palavras de incentivo e pela preocupação zelosa comigo e com o término da tese.

A minha eterna aluna e amiga Tânia Seabra, pelo carinho, pelas orações, pelo ombro amigo, pela confiança, pelas viagens, pelo apoio e incentivo incondicional e por estar sempre torcendo pelas minhas conquistas. Você é um exemplo de generosidade e bondade. Não importa a distância ou o tempo, nossa amizade será eterna. Agradeço o privilégio de ser sua amiga. É como disse Vinícius de Moraes: “Você não faz amigos, você os reconhece”.

À eterna professora e amiga Elizabeth Valverde, que fez parte de todas as minhas conquistas e que incondicionalmente ajudou na concretização desse trabalho com sua experiência, dedicação e disponibilidade em sempre ajudar. Sua participação foi fundamental para a realização desta Tese. Muito obrigado por sempre estar disposta a me ajudar. Você é um exemplo de dedicação, empenho e solidariedade!

Aos amigos do LAQFA, Pamela, Belisário, Gisele e Ivyson Maia, pessoas muito especiais, com quem tive a honra de conviver. Agradeço pelos maravilhosos momentos que tivemos juntos, pelo apoio constante e por terem mostrado que os princípios militares, como lealdade, ética, respeito e companheirismo estão além dos muros da caserna. Vocês são exemplos de generosidade e bondade. Sem vocês esta jornada teria sido muito mais difícil.

A Michele Feitoza, por sempre ter me incentivado a seguir a trilha do conhecimento e por festejar comigo todas as conquistas alcançadas.

Aos meus irmãos Vinícius e Fabinho, por fazerem parte da minha vida, tornando-a mais leve e divertida.

As minhas sobrinhas, “quase filhas”, Laís e Lívia. Não tenho palavras para descrever o quanto vocês são importantes na minha vida. Cada olhar, cada sorriso, cada gesto foram o combustível necessário para ultrapassar os obstáculos da vida.

Ao meu pai Augusto (*in memoriam*), pela grandeza do seu amor por toda a família. Mesmo não estando mais entre nós a sua lembrança permanece viva em nossos corações e a sua valentia em não desistir de lutar pela vida serviram de incentivo e exemplo para mim. Agradeço a Deus por ter escolhido você para ser meu pai.

A minha mãe Nete e minha avó Naná. Tudo que consegui só foi possível graças ao amor, apoio e dedicação que vocês sempre tiveram por mim. Sempre me ensinaram a agir com respeito, simplicidade, dignidade, honestidade, amor ao próximo e me mostraram o quanto era importante estudar, mesmo não tendo elas a mesma oportunidade no passado. Eu sei que vocês sempre se doaram por inteiro para cuidar de mim e dos meus irmãos, e que por muitas vezes renunciaram aos seus sonhos para que pudéssemos realizar os nossos, e por isso não tenho palavras para agradecer, apenas posso afirmar que exerceram brilhantemente o seu papel.

E por último, agradeço a Deus por ter abençoado todos os dias da minha vida, por ter permitido a realização desta tese, pelo conforto nos momentos difíceis, me dando sempre mais força para seguir sempre em frente. Sem Ele nada disto seria possível.

“O cientista não é o homem que fornece as  
verdadeiras respostas; é quem faz as  
verdadeiras perguntas”.  
(Claude Lévi-Strauss)

## RESUMO

As ações de Vigilância Sanitária são de importância fundamental para garantir que a população tenha segurança na utilização dos produtos disponibilizados para consumo. Um exemplo de produtos onde tem sido necessária uma avaliação do risco potencial a saúde humana, são os produtos nanotecnológicos, dentre eles as nanopartículas de prata (NPAg). Devido a sua propriedade antimicrobiana as NPAg têm sido amplamente utilizadas em embalagens para acondicionamento de alimentos. Entretanto, a migração potencial dessa nanopartícula em contato com os alimentos é uma importante preocupação no meio científico devido aos riscos à saúde dos consumidores. Assim, este trabalho objetivou avaliar se há evidência de migração da NPAg presente nas embalagens para os alimentos. Uma revisão sistemática da literatura foi conduzida para identificar todos os estudos publicados em português, inglês e espanhol, que avaliavam a migração da NPAg em embalagem de alimento, nas bases de dados eletrônicas PubMed, Scopus, SciELO, BVS/LILACS e Embase, sem restrição de data, até 21 de agosto de 2017. Também foram realizadas buscas na literatura cinzenta, além de pesquisas nas referências dos estudos incluídos com as palavras-chave: “silver nanoparticles, nanosilver, metallic nanoparticles, nanoparticles of noble metal, food-contact plastics, food packaging, food container” e “migration”. Dentre 665 artigos identificados, 26 atenderam aos critérios de elegibilidade. A migração da NPAg, reportada em 24 estudos avaliados, foi influenciada pelos seguintes fatores: simulantes/alimentos ácidos, tempo de armazenamento, temperatura e tipo de polímero. Deficiências metodológicas importantes em todos os estudos avaliados não permitiram evidenciar a migração da NPAg, impossibilitando responder plenamente à questão formulada. Contudo, o presente estudo permitiu a revisão crítica das publicações sobre migração de NPAg, ficando evidente que trabalhos futuros devem padronizar aspectos metodológicos para a análise da migração de nanopartículas. Tal providência assegurará maior êxito na condução de estudos científicos sobre migração de modo a permitir a tomada de decisão informada e consciente dos órgãos regulatórios nacionais e internacionais.

Palavras-chave: Nanopartículas de Prata. Migração. Embalagem. Vigilância Sanitária. Revisão Sistemática.

## ABSTRACT

The actions of Health Surveillance are of fundamental importance to guarantee that the population has security in the use of the products made available for consumption. An example of products where an assessment of the potential risk to human health has been necessary are nanotechnology products, among them silver nanoparticles (NPAg). Due to its antimicrobial property, NPAgs have been widely used in packaging for food packaging. However, the potential migration of this nanoparticle into contact with food is one of the most important concerns because of the health risks to consumers. This work aimed to evaluate if there is evidence of NPAg migration present in food packaging. A systematic review of the literature was conducted to identify all the studies published in Portuguese, English and Spanish, which evaluated the migration of NPAg in food packaging, in the electronic databases PubMed, Scopus, SciELO, BVS / LILACS and Embase without restriction. Also, searches in the gray literature, as well as research on the references of the studies included with the keywords: "silver nanoparticles, nanosilver, metallic nanoparticles, nanoparticles of noble metal, food-contact plastics , food packaging, food container and migration. Of the 665 articles identified, 26 met eligibility criteria. The NPAg migration, reported in 24 studies evaluated, was influenced by the following factors: acidic simulants / foods, storage time, temperature and type of polymer. However, important methodological deficiencies in all the studies evaluated did not allow evidence of NPAg migration, making it impossible to fully answer the question. However, the present study allowed the critical review of publications on NPAg migration, making it clear that future work should standardize methodological aspects for the NP migration analysis. This will ensure greater success in conducting scientific studies on migration in order to enable informed and informed decision-making by national and international regulatory bodies.

Keywords: Silver nanoparticles. Migration. Packaging. Health Surveillance. Systematic Review

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Etapas da análise e avaliação do risco.....	28
Figura 2 – Diagrama do paradigma do risco.....	29
Figura 3 - Etapas para fazer uma revisão sistemática.....	40
Figura 4 - Quão pequeno é o nanômetro? A escala das coisas e comparações de tamanho.....	46
Figura 5 - Capa da revista do california institute of technology – caltech que apresenta um artigo adaptado da palestra de feynman intitulada “ <i>There’s plenty of room at the bottom</i> ”.....	47
Figura 6 - Aplicação de nanotecnologia em diversas áreas do conhecimento.....	50
Figura 7 - Imagem da taça de <i>Lycurgus</i> .....	51
Figura 8 - Técnica <i>bottom-up</i> .....	52
Figura 9 - Técnica <i>top-down</i> .....	52
Figura 10 - Matriz de aplicação da nanotecnologia na ciência e tecnologia de alimentos.....	55
Figura 11 - Representação da ligação dissulfeto na molécula da proteína, e a quebra dessa ligação pelos íons de prata.....	58
Figura 12 - Interação dos íons Ag <sup>+</sup> em bactérias Gram positivas e negativas.....	59
Figura 13 - Mecanismos de interação entre nanopartículas de prata e as células de bactérias.....	59
Figura 14 - Representação esquemática da indução da apoptose provocada pelas NPAs.....	61
Figura 15 - Número de produtos listados no Inventário de Produtos de Consumo de Nanotecnologia que possuem NP em sua composição, agrupados em cinco categorias principais.....	62
Figura 16 - Possíveis mecanismos de liberação das nanopartículas.....	66
Figura 17 – Fluxograma das etapas de seleção dos estudos adaptado do PRISMA.....	88

Figura 18 - Lista das técnicas de caracterização de nanopartículas .....	105
--	-----

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Ano de publicação dos estudos elegíveis.....	89
--	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Definições de nanotecnologia utilizadas por diversas organizações internacionais.....	48
Tabela 2 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados .....	79
Tabela 3 - Resultados da estratégia de busca nas bases de dados selecionadas e o número de artigos identificados sobre ensaio de migração de NPAg .....	85
Tabela 4 – Síntese dos estudos elegíveis.....	91
Tabela 5 – Maior concentração de NPAg encontrada nos estudos de migração .....	112
Tabela 6 - Países fabricantes de embalagens contendo NPAg .....	114

## LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Å	Angström
AA	Ácido Acético
ANSES	Agência Nacional Francesa de Segurança Alimentar
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Ag	Prata
Ag <sup>+</sup>	Íons de Prata
NPAg	Nanopartícula de Prata
ASTM	<i>American Society of Testing and Materials</i>
BET	Área superficial específica
BHE	Barreira hemato-encefálica (BHE)
BIREME	Biblioteca Regional de Medicina
BNDES	Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social
BPA	Bisfenol-A
BPL	Boas práticas de laboratório
BraCVAM	Centro Brasileiro de Validação de Métodos Alternativos
BSI	<i>British Standards Institution</i>
BVS	Biblioteca Virtual em Saúde
CLP	<i>Classification, Labelling and Packaging-</i>
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
dm <sup>2</sup>	Decímetro quadrado
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DOSY-RMN	Espectroscopia ordenada por difusão com Ressonância Magnética Nuclear
DRX	Difração de raios-X

EC	<i>European Commission</i>
ECHA	<i>European Chemicals Agency</i>
ECRs	Ensaio Clínicos Randomizados
EDX	Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
ELD	Eletroforese Laser-Dopler
ELS	Espalhamento da Luz Eletroforética
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
ET	Etanol
EUA	Estados Unidos da América
EURL- ECVAM	<i>European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing</i>
EUS	Espectroscopia Ultrassônica
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fe	Ferro
FFF	Fracionamento por Campo e Fluxo
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HDPE	Polietileno de alta densidade
HTS	<i>High-throughput Screening</i>
ICCVAM	<i>Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods</i>
ICP-OES	Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado
ICP-MS	Espectrometria de plasma / massa acoplada indutivamente
IEC	<i>Internacional Electrotechnical Comission</i>

INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
IO	Iso-octano
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
IL	Interleucina
Kg	Kilograma
L	Litro
LC	Cromatografia Líquida
LDPE	Polietileno de baixa densidade
LME	Limite de Migração Específica
MBE	Medicina Baseada em Evidência
MCTI	Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação
m	Metro
mg	miligrama
Mg	Magnésio
µg	micrograma
ME	Microscopia eletrônica
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MFA	Microscopia de Força Atômica

NCGC	National Institute of Health Chemical Genomics Center
NRC	<i>National Research Council</i>
NSF	National Science Foundation
NTC	Nanotubos de Carbono
Nano-ZnO	Nano-óxido de zinco
Nano-TiN	Nanopartículas de nitreto de titânio
Nano- TiO <sub>2</sub>	Nano-dióxido de titânio
NICEATM	<i>Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods</i>
NIOSH	<i>National Institute of Occupational Safety and Health</i>
NMs	Nanomateriais
NNI	<i>National Nanotechnology Initiative</i>
NP	Nanopartícula
NPs	Nanopartículas
NTP	<i>National Toxicology Program</i>
OECD	<i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBE	Prática baseada em evidências
PBS	Poli (butil-succinato)
pc	Peso corporal
PC	Policarbonato
PCL	Policaprolactona
PCN	Produtos de Consumo de Nanotecnologia
PE	Polietileno
PES	Polifenileno éter sulfona
PET	Tereftalato de polietileno

PHAs	Polihidroxicanoatos
PHB	Polihidroxibutirato
PL	Projeto de Lei
PLA	Poli (ácido láctico):
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
PVC	Cloreto de Polivinila
QSAR	<i>Quantitative structure activity relationship</i>
REACH	<i>Regulation on Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals</i>
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RENAMA	<i>Rede Nacional de Métodos Alternativos</i>
RS	Revisão Sistemática
ROS	Espécies reativas de oxigênio (do Inglês, <i>Reactive Oxygen Species</i> )
SAR	<i>Structure-Activity Relationship</i>
SC	Sedimentação por centrifugação
S-CNC	Nanocristais de celulose modificados
Si	Silício
SNC	Sistema Nervoso Central
SNVS	Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária
sp-ICP-MS	espectrometria de massa de plasma acoplado por indução de partículas únicas
STM	Microscopia de tunelamento com varredura
SUS	Sistema Único de Saúde
TBE	Toxicologia baseada em evidências

UE	União Europeia
USFDA	<i>United States Food &amp; Drug Administration</i>
W	Água
XPS	Espectroscopia Fotoeletrônica de Raio-x
ZnO	Óxido de Zinco

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>22</b>
<b>1.1</b>	<b>O papel da vigilância sanitária .....</b>	<b>22</b>
<b>1.2</b>	<b>Segurança sanitária de produtos .....</b>	<b>23</b>
<b>1.3</b>	<b>Análise e avaliação do risco .....</b>	<b>26</b>
<b>1.4</b>	<b>Estudos toxicológicos.....</b>	<b>31</b>
<b>1.5</b>	<b>A toxicologia do século 21 .....</b>	<b>35</b>
<b>1.6</b>	<b>Revisão sistemática como método da prática baseada em evidências .....</b>	<b>37</b>
1.6.1	Etapas para elaboração de uma RS.....	39
<b>1.7</b>	<b>Revisão sistemática na avaliação do risco químico.....</b>	<b>42</b>
<b>1.8</b>	<b>As nanotecnologias .....</b>	<b>45</b>
1.8.1	Métodos de produção.....	51
<b>1.9</b>	<b>Embalagem.....</b>	<b>52</b>
1.9.1	Aplicações de nanotecnologias em embalagens de alimentos.....	54
<b>1.10</b>	<b>Nanopartículas de prata (NPAg) .....</b>	<b>57</b>
<b>1.11</b>	<b>Migração das nanopartículas.....</b>	<b>64</b>
<b>1.12</b>	<b>Regulação de nanotecnologia em embalagens para alimentos .....</b>	<b>68</b>
<b>1.13</b>	<b>Justificativa.....</b>	<b>72</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>74</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>74</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>74</b>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>75</b>
<b>3.1</b>	<b>Estratégias para construção da revisão sistemática.....</b>	<b>75</b>
3.1.1	Desenho do estudo.....	75
3.1.2	Questão norteadora .....	76
3.1.3	Critérios de elegibilidade.....	77
3.1.3.1	<i>Critérios de inclusão .....</i>	<i>77</i>
3.1.3.2	<i>Critérios para exclusão dos artigos.....</i>	<i>77</i>
3.1.4	Fontes de informação e estratégia de busca para identificação dos estudos.....	78
3.1.5	Seleção dos estudos .....	81
3.1.6	Extração dos dados de cada artigo.....	82
3.1.7	Análise de risco de viés.....	83

3.1.8	Síntese dos dados.....	83
3.1.8.1	<i>Codificação dos artigos elegíveis.....</i>	84
3.1.9	Implicações éticas.....	84
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSÃO.....</b>	<b>85</b>
<b>4.1</b>	<b>Busca e identificação dos estudos .....</b>	<b>85</b>
<b>4.2</b>	<b>Seleção dos estudos .....</b>	<b>86</b>
<b>4.3</b>	<b>Avaliação do risco de viés.....</b>	<b>88</b>
<b>4.4</b>	<b>Características dos estudos.....</b>	<b>89</b>
<b>4.5</b>	<b>Síntese e análise dos estudos da pesquisa sistemática.....</b>	<b>89</b>
4.5.1	Avaliação da Migração.....	90
4.5.1.1	<i>Avaliação da migração por tipo de simulante.....</i>	95
4.5.1.2	<i>Avaliação da migração em função do tempo e temperatura.....</i>	100
4.5.1.3	<i>Avaliação do efeito do tamanho da nanopartícula na taxa de migração.....</i>	101
4.5.1.4	<i>Avaliação da metodologia utilizada para extração da NPAg.....</i>	103
4.5.1.5	<i>Avaliação das técnicas de caracterização da nanopartícula de prata.....</i>	104
4.5.1.6	<i>Avaliação da migração por tipo de Polímero.....</i>	108
<b>4.6</b>	<b>Estudos de migração da NPAg como modelo de avaliação de exposição .....</b>	<b>111</b>
<b>4.7</b>	<b>Avaliação dos riscos de exposição à NPAg.....</b>	<b>113</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>116</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>119</b>
	<b>APÊNDICE A - TESTE DE RELEVÂNCIA I (Aplicado ao título e ao resumo dos Estudos) .....</b>	<b>147</b>
	<b>APÊNDICE B - TESTE DE RELEVÂNCIA II (Aplicado aos estudos na íntegra).....</b>	<b>148</b>
	<b>APÊNDICE C - ROTEIRO PARA EXTRAÇÃO DE INFORMAÇÕES DOS ESTUDOS.....</b>	<b>149</b>
	<b>APÊNDICE D- AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS.....</b>	<b>150</b>
	<b>ANEXO A – Checklist do PRISMA.....</b>	<b>151</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 O papel da vigilância sanitária

Com a finalidade de satisfazer às necessidades do consumidor e de ganhar espaço na competitividade do mercado, as indústrias têm investido de forma maciça no desenvolvimento de produtos para suprir à demanda de consumo. O processo de desenvolvimento tecnológico tem ocasionado o rápido surgimento de novos produtos colocados à disposição da população, tornando a avaliação do risco um grande desafio (HANCOCK; FISK; ROGERS, 2001; MAYHORN *et al.*, 2004; WIEDEMANN; SCHÜTZ, 2005).

Neste contexto, a Vigilância Sanitária desenvolve um conjunto de ações complexas e intercomplementares, que são de importância fundamental para garantir que a população tenha segurança na utilização dos produtos disponibilizados para consumo. A garantia da segurança dos produtos sujeitos ao controle sanitário visa eliminar ou diminuir os riscos à saúde da população, conforme previsto pela Lei Orgânica da Saúde (BRASIL, 1990a; SILVA; LANA, 2014). Pode-se afirmar que essas ações constituem tanto uma ação de saúde quanto um instrumento da organização econômica da sociedade, ou seja, este componente do sistema de saúde adquire uma feição mediadora entre os interesses da saúde e os interesses econômicos. Estas ações decorrem da grande produção e circulação de bens, fruto de uma sociedade capitalista e, conseqüentemente, consumista de novos materiais, novos produtos, novas tecnologias e novas necessidades, ampliando os riscos à saúde. As conseqüências de produtos colocados no mercado, cujos riscos não tenham sido plenamente avaliados, podem afetar a saúde de milhões de consumidores, podendo extrapolar as fronteiras de um país, afetando a credibilidade nos produtos e nas instituições de controle sanitário, provocando, assim, enormes prejuízos econômicos (COSTA, 1999; LUCCHESI, 2001; SOUZA; COSTA, 2010).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004), define risco<sup>1</sup> como “a possibilidade de um evento adverso ocorrer sob condições específicas”. Dessa forma, o conceito probabilístico de risco está associado ao potencial de perdas e danos, além de estar associado a magnitude das suas conseqüências (FREITAS, 2002). Entretanto, segundo Giddens (2000) o termo “risco” reflete a dinâmica da sociedade

---

<sup>1</sup> O termo “risco” tem sua origem na palavra italiana *risicare*, segundo Freitas e Gomez (1997) ou na palavra grega *rhiza*, segundo Covello e Munpower (1985). Para os dois autores, essas palavras foram introduzidas, com o objetivo de avaliar as possibilidades de perdas nas viagens marítimas e tinham o significado original de navegar entre rochedos.

moderna que busca determinar o seu próprio futuro, trazendo consigo o pressuposto da possibilidade de prevenção de determinadas situações ou eventos por meio da possibilidade de conhecimento dos parâmetros da distribuição de probabilidades de acontecimentos (FREITAS, 2002; FREITAS; SÁ, 2003; GIDDENS, 2000).

No que se refere à área da saúde, minimizar o risco através de medidas preventivas é promover e proteger a vida e diante da multiplicidade de riscos a que a sociedade moderna está exposta. O governo brasileiro estabeleceu, por meio da Constituição Federal em 1988, que o Estado tem o dever de promover políticas, sociais e econômicas, com a finalidade de redução do risco de doença e de outros agravos, garantindo a todos os cidadãos o direito à saúde. Portanto, a natureza regulatória da Vigilância Sanitária a mantém necessariamente nas competências exclusivas do Estado, pois, a este cabe a garantia dos interesses sanitários da coletividade, conforme descrito nos preceitos constitucionais (BRASIL, 1988; COSTA; ROZENFELD, 2000).

Essa Constituição também instituiu o Sistema Único de Saúde (SUS), que tem como competência as atividades de Vigilância Sanitária e sua função precípua é atuar no sentido de eliminar ou minimizar o risco sanitário envolvido na produção, circulação e consumo de certos produtos, processos e serviços (BRASIL, 1988, 1990a).

A própria criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), autarquia especial vinculada ao Ministério da Saúde, pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999, regulamentada pelo Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999, reafirmou a responsabilidade da Vigilância Sanitária no Brasil, no que diz respeito à atuação, por parte do SUS, em circunstâncias especiais de risco à saúde da população (BRASIL, 1999a, 1999b).

Destarte, a Vigilância Sanitária é a forma mais ampla e complexa de existência da Saúde Pública, principalmente devido ao caráter preventivo de suas ações, dentre as quais está a identificação de fatores de risco associados à saúde humana e relacionados aos produtos e insumos da área da saúde; sendo a identificação desses fatores imprescindível para garantir a segurança sanitária (BRASIL, 1999a; COSTA; ROZENFELD, 2000).

## **1.2 Segurança sanitária de produtos**

O termo “segurança sanitária” foi colocado em evidência no contexto brasileiro, pela primeira vez, através do Decreto Lei nº 212, de 27 fevereiro de 1967, que dispõe sobre medidas de segurança sanitária do país. Entretanto, esta norma de 1967 não abrangia todos os

produtos de âmbito sanitário, que foram contemplados somente pela Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976 (BRASIL, 1967, 1976).

Esta Lei estabelece, que a qualquer momento, poderá ser feita a suspensão da fabricação e venda de qualquer produto que, mesmo já tendo o registro, desde que se torne suspeito de ter efeitos nocivos à saúde humana (BRASIL, 1976). Posteriormente, a partir do final da década de 1990, a expressão “segurança sanitária” ganhou visibilidade após a criação da Anvisa (BRASIL, 1999a).

Atualmente, o conceito de segurança sanitária só é possível ser entendido analisando-se em conjunto a teoria da sociedade do risco, o princípio da precaução<sup>2</sup> e o gerenciamento do risco em relação aos produtos de cuidado da Vigilância Sanitária (BARBOSA, 2006).

De acordo com Beck (1992), a sociedade do risco é caracterizada pela distribuição dos riscos presentes na produção e distribuição de bens e serviços e que podem afetar toda a população, independente de classe social, econômica ou localização geográfica. Portanto, o conceito de sociedade de risco se cruza diretamente com o de globalização e pode-se afirmar que os riscos são democráticos, afetando nações e classes sociais sem respeitar fronteiras de qualquer tipo. Além disso, para Beck (1992), o rápido desenvolvimento de diferentes áreas da ciência e da tecnologia contribuiu decisivamente para criar novos riscos associados à exposição e ao consumo de produtos e serviços, e, atualmente, geram consequências de alta gravidade para a saúde humana e para o meio ambiente.

Diante deste fato, fica evidente a importância de se invocar o princípio da precaução sempre que seja necessária uma intervenção urgente em face a um possível risco para a saúde humana, animal ou vegetal, quando as evidências científicas, ainda não possibilitam uma avaliação completa do risco (DALLARI, 2002).

Para Dallari (2002) este princípio deve ser aplicado, sobretudo, para os casos de saúde pública, e permite, por exemplo, impedir a distribuição de produtos passíveis de causarem dano à saúde humana. Portanto, o princípio da precaução é um conceito importante para o acompanhamento da evolução tecnológica, constituindo uma espécie de jurisprudência científica e, enfim, refletindo e compreendendo de modo progressivo os efeitos de novos modos de produção. Segundo Costa (2009), o princípio da precaução constitui hoje uma

---

<sup>2</sup> "A invocação do princípio da precaução é uma decisão exercida quando a informação científica é insuficiente, não conclusiva ou incerta e haja indicações de que os possíveis efeitos sobre o ambiente, a saúde das pessoas ou dos animais ou a proteção vegetal possam ser potencialmente perigosos e incompatíveis com o nível de proteção escolhido" (MACHADO, 2008).

reivindicação social dos segmentos mais afinados com preocupações em torno da segurança sanitária global.

É importante citar que, a declaração de Wingspread, de 1998, que consagrou o princípio da precaução, estabelece que a adoção deste princípio deve ser aberta, informada e democrática, sendo necessária a participação das partes potencialmente afetadas. Deve também promover um exame de todo o espectro de alternativas, inclusive a da não-ação, sob pena de que no futuro o não-agir traga consequências quase que irreversíveis para o meio ambiente e, assim também, para a saúde coletiva<sup>3</sup>.

No direito brasileiro, o princípio da precaução encontra fundamento no artigo 225, §1º, incisos II, IV e V da Constituição da República Federativa do Brasil de 1988, sendo que o inciso V prevê ao Estado: “[...] controlar a produção, a comercialização e o emprego de técnicas, métodos e substância que comportem risco para a vida, a qualidade de vida e o meio ambiente” (BRASIL, 1988). Esse princípio também está expresso na Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005, Lei de Biossegurança, no seu artigo 1º, na parte final do *caput*, quando faz referência explícita à observância do princípio da precaução para o meio ambiente. O artigo 1º estabelece que:

[...] normas de segurança e mecanismos de fiscalização sobre a construção, o cultivo, a produção, a manipulação, o transporte, a transferência, a importação, a exportação, o armazenamento, a pesquisa, a comercialização, o consumo, a liberação no meio ambiente e o descarte de organismos geneticamente modificados - OGM e seus derivados, tendo como diretrizes o estímulo ao avanço científico na área de biossegurança e biotecnologia, a proteção à vida e à saúde humana, animal e vegetal, e à observância do princípio da precaução para a proteção do meio ambiente (BRASIL, 2005a).

Desta forma, são obrigações tanto do Estado como da sociedade garantir a redução dos riscos de doenças. O princípio da precaução deve ser utilizado como base para desenvolver políticas sociais que busquem minimizar os riscos existentes. Ou seja, a adoção de medidas preventivas pelos órgãos públicos e órgãos empresariais privados, podem alcançar o objetivo de mitigar potenciais riscos à saúde (BRASIL, 1988, 2005a). O princípio de precaução apresenta uma concepção norteadora de ações diante de riscos de danos graves e irreversíveis, representados, por exemplo, pelo uso de nanotecnologias (TAVARES; SCHRAMM, 2015).

---

<sup>3</sup> Disponível em: <https://acpo.org.br/ambiente-e-saude/fundamentos-do-principio-da-precaucao/>. Acesso em 18 mar 2018.

Cabe ressaltar que a aplicação do princípio da precaução não pode ser feita a partir de suposições alarmistas de grupos tecnocientóforos que, em nome da preservação ambiental e da conservação das espécies, tentam convencer a sociedade de que certas atividades humanas, como por exemplo, o desenvolvimento tecnocientífico, são inerentemente ameaçadoras e que, por essa razão, devem ser ao menos paradas (TAVARES; SCHRAMM, 2015). Mas sim buscar, diante da incerteza científica<sup>4</sup>, as evidências necessárias para o processo de tomada de decisão de forma coerente com os princípios bioéticos da dignidade e saúde humana e dos direitos humanos, da ponderação benefício-dano, bem como da proteção do meio ambiente, da biosfera e da biodiversidade, visando proteger saúde humana e o meio ambiente, sem, no entanto, atrasar o desenvolvimento científico-tecnológico (TAVARES; SCHRAMM, 2015; UNESCO, 2005).

O princípio da precaução é um instrumento muitas vezes necessário para o processo de avaliação e gerenciamento do risco, pois, através dele é possível estabelecer um processo complexo de ações multidisciplinares que tem como propósito implantar um sistema de avaliação mais ampla em relação aos que estão em desenvolvimento, antes de sua comercialização, seguindo os seus efeitos, e desta forma garantindo a segurança necessária para que os produtos ofereçam o mínimo de riscos à saúde dos usuários (DALLARI, 2002; MACHADO, 2008).

### **1.3 Análise e avaliação do risco**

Segundo Klaassen e Watkins (1999), avaliação do risco é um processo onde se estima a probabilidade de um determinado agente produzir efeitos adversos em um dado segmento populacional, sob determinadas condições de exposição, e que fornece uma base racional para as decisões de Saúde Pública.

Conforme demonstrado na Figura 1, “Avaliação do risco” e “análise do risco” são termos utilizados geralmente como sinônimos, contudo a análise do risco é, na verdade, um processo mais vasto, pois inclui os aspectos de gestão e comunicação do risco (JARDIM; CALDAS, 2009). Avaliação do risco é um processo organizado de forma metodológica, utilizado para descrever e estimar a possibilidade de ocorrência de um efeito adverso para a saúde a partir da exposição a determinados agentes (químico, físico, biológico e outros),

---

<sup>4</sup> No que tange a incerteza científica, tem-se que, a partir dela, elemento relevante no gerenciamento de riscos, que se vai despertar o interesse de todo aquele que maneja e estuda o princípio da precaução, porque a incerteza científica é o elemento que autoriza a aplicação do princípio e não a certeza (WEDY, 2008).

processos industriais, tecnologia ou processo natural. Este processo é realizado em quatro fases: (i.) identificação do perigo, (ii.) avaliação da relação dose-resposta, (iii.) avaliação de exposição e (iv.) caracterização do risco. Independentemente do tipo de material que se quer avaliar os riscos (compostos químicos, ingredientes isolados, nanomateriais [NM] ou outros), os passos para a sua avaliação serão sempre os mesmos (BREAKWELL, 2000; SANTOS *et al.*, 2014).

A avaliação do risco é a etapa mais científica do processo de análise do risco e cada uma dessas quatro fases possui atribuições específicas (FAO; WHO 2005; LUCCHESE, 2001).

- 1) Identificação do perigo – determina os fatores suspeitos de causar agravos, ou seja, substâncias cuja presença significa certo grau de risco.
- 2) Caracterização do perigo – determina a relação entre a magnitude da exposição e a variação do agravo (avaliação dose - resposta).
- 3) Avaliação da exposição – estima a magnitude da exposição humana. Quantas pessoas estão expostas? Em que doses? Por quanto tempo? Onde?
- 4) Caracterização do risco – descrição da natureza e magnitude do risco humano (LUCCHESE, 2001).

É somente a partir dessa última etapa da avaliação do risco, *i.e.* a caracterização do risco, que são tomadas as decisões para o desenvolvimento de estratégias na etapa de gerenciamento de riscos, havendo aí mais explícita interferência dos fatores culturais, sociais, políticos e econômicos, em que as decisões, objetivando a redução de riscos, se encontram mediadas por processos que levam em consideração, além dessas informações técnicas relevantes relacionadas ao dano à saúde e ao risco, fatores sociais, políticos e econômicos (BREAKWELL, 2000; KOLLURU *et al.*, 1996; KLAASSEN; WATKINS, 1999; MOLAK, 1997; ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1996; PAUMGARTTEN, 1993).

A etapa última etapa da análise do risco é a comunicação do risco, definida por Jardim e Caldas (2009) como sendo a troca de informações sobre o risco entre avaliadores, gerenciadores, mídia, partes interessadas (*Stakeholders*) e público em geral (Figura 1).

Figura 1 - Etapas da análise e avaliação do risco

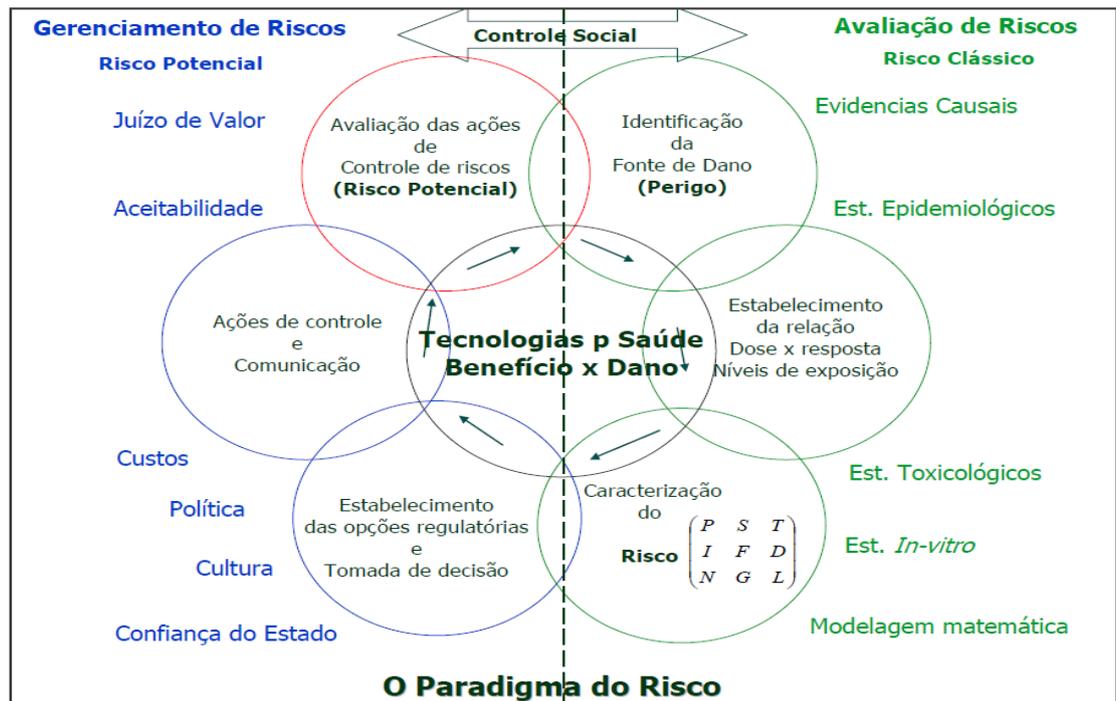


Fonte: JARDIM; CALDAS, 2009.

Como as intervenções da Vigilância Sanitária são norteadas pela noção de risco, seja este um risco potencial ou dano real oriundos dos processos de produção e consumo, a análise e o gerenciamento do risco tornaram-se uma ferramenta valiosa no processo de proteção da saúde (BRASIL, 1999a, 1999b). Um diagrama do paradigma dos riscos aplicado à área da Vigilância Sanitária está representado na Figura 2.

Para o senso comum, “risco” refere-se a eventos negativos possíveis e prováveis de se realizarem (TAVARES; SCHRAMM, 2015). A Vigilância Sanitária, por lidar com a constante incorporação tecnológica e saberes de diversas áreas do conhecimento, as várias faces do conceito de risco não só se ampliam, mas também se articulam, seja com noções e conceitos inerentes à esfera da proteção da saúde, tais como, finalidade, eficácia, efetividade, nocividade, qualidade e segurança, ou seja, com princípios que resguardam a ética sanitária, como o princípio bioético do benefício e a responsabilidade pública (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008). Já como termo técnico, “risco” corresponde à probabilidade de ocorrência que um indivíduo tem de experimentar o efeito de um perigo, ou seja, a probabilidade de ocorrer um evento adverso e a magnitude de suas consequências (SILVA; LANA, 2014).

Figura 2 – Diagrama do paradigma do risco



Fonte: NAVARRO, 2007.

No campo sanitário, os eventos adversos podem ser entendidos como, um efeito não desejado em humanos decorrente do uso de produtos sob Vigilância Sanitária, ou seja, é um dano ocasionado à saúde de um indivíduo que ocorre durante o uso rotineiro de um produto, tendo a sua utilização realizada nas condições e parâmetros prescritos pelo fabricante no processo de registro deste produto na Anvisa (BRASIL, 2009a).

Conforme a Resolução da Diretoria Colegiada da Anvisa (RDC) n° 4, de 10 de fevereiro de 2009, os eventos adversos podem ser classificados como graves e não-graves. Os eventos graves são aqueles que podem levar o indivíduo a óbito, causar deficiência ou dano permanente em uma estrutura do organismo; irão requerer intervenção médica ou cirúrgica com a finalidade de prevenir o comprometimento permanente de uma função ou estrutura do organismo, podendo exigir hospitalização do paciente ou prolongamento da hospitalização e, por último, levar a perturbação, morte ou risco fetal, ou a uma anomalia congênita (BRASIL, 2009a).

Portanto, para que um produto (ou seus ingredientes) possa(m) ser utilizado(s) com segurança, é preciso submetê-lo (s) a uma bateria de ensaios toxicológicos pré-clínicos, previamente à sua liberação de uso pela população, com o objetivo de se obter informações que têm por finalidade avaliar aspectos relacionados a sua segurança (KLAASSEN; WATKINS, 1999; MOLAK, 1997). Esses ensaios toxicológicos são realizados através de

experimentos laboratoriais, utilizando principalmente modelos animais e são usados na avaliação do risco determinando-se então a probabilidade do homem, sob condições de exposição hipotéticas, sofrer tais efeitos adversos (DERELANKO; HOLLINGER, 1995; KLAASSEN, 2001).

Ao longo da história da humanidade, a experiência com os fármacos e outros xenobióticos tem mostrado a necessidade da realização de testes toxicológicos em animais como fontes essenciais de informação para a adequada avaliação dos riscos que podem estar associados com a exposição às substâncias químicas. Desde o trágico incidente ocorrido com a talidomida, entre os anos de 1950 e 1960, que as exigências quanto aos estudos de segurança, passaram a ser mais rigorosas, incluindo a avaliação dos efeitos adversos decorrentes da exposição crônica em estudos de duas gerações conduzidos em duas espécies animais (roedor e não roedor) e da avaliação dos efeitos adversos sobre o desenvolvimento, a reprodução (incluindo estudos de teratogenicidade) e o comportamento (NEUBERT; CHAHOUD, 1995).

A insulina, descoberta em 1923, é outro exemplo da necessidade de se estimar parâmetros relacionados à exposição segura. Embora tenha permitido controlar uma enfermidade que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, a ausência de uma avaliação plena do risco, ocasionou o seu uso em doses não precisas, levando a um aumento considerável dos danos causados aos olhos, aos rins e ao sistema nervoso de indivíduos expostos. Outra vez, a tecnologia impôs o ônus de uma vigilância permanente e a necessidade de pensar a respeito da avaliação do risco (LUCCHESI, 2001).

Fato semelhante aconteceu com o uso de anti-inflamatórios não esteroides de segunda geração, como o Rofecoxib/Vioxx®, que apresentava como vantagem um menor risco de complicações gástricas, efeitos colaterais comuns dos anti-inflamatórios e analgésicos então existentes. Entretanto, em 30 de setembro de 2004, a corporação farmacêutica e Merck & Co. Inc. retirou voluntariamente do mercado em todo o mundo esse medicamento após a constatação do aumento da incidência de eventos cardiovasculares (ANTONIOLLI, 2010; ROZENFELD, 2014).

Assim como ocorreu com os fármacos, as promessas da nanotecnologia têm sido realizadas para proporcionar os maiores avanços científicos e tecnológicos em diversas áreas, entretanto, muitas das interações das nanopartículas (NP) com o corpo humano e no meio ambiente ainda são pouco conhecidas, conseqüentemente, as características mais desejáveis para as NP ainda não estão bem estabelecidas (HOET; BRUSKE-HOLFELD; SALATA, 2004; VANCE *et al.*, 2015). Isto evidencia a necessidade de mais pesquisas, principalmente

na área da Toxicologia e de estudos de exposição, a fim de se estabelecer as características físicas e químicas chaves das NP que determinam seu potencial de perigo (SANTOS *et al.*, 2014).

#### 1.4 Estudos toxicológicos

O principal objetivo dos estudos toxicológicos é a predição dos possíveis efeitos nocivos, que podem se manifestar na população humana quando exposta à determinada substância, seja pela via oral, dérmica, inalatória, dentre outras. Sendo assim, tais estudos são sempre necessários nos processos investigativos, desde o desenvolvimento de produtos até o seu registro, sendo os modelos animais os mais utilizados para este propósito (BAILEY; THEW; BALLS, 2015; KOETER, 1993; MEYER, 2003; STOKES, 2002; SILINS; HÖGBERG, 2011).

Dentre os testes toxicológicos pré-clínicos normalmente requeridos com propósito regulatório incluem: toxicidade aguda, toxicidade sub-crônica, toxicidade crônica, mutagênese, carcinogênese, toxicologia reprodutiva e teratogênese, toxicocinética, efeitos locais sobre a pele e olhos, sensibilização cutânea e ecotoxicidade (BARROS; DAVINO, 2003; DENNY; STEWART, 2017; PARASURAMAN, 2011).

Além dos testes toxicológicos em animais proporcionarem considerável dor e sofrimento a seres sencientes, algumas entidades científicas respeitáveis na América do Norte, na Europa e em outras regiões já reconheceram de maneira explícita que os modelos animais nem sempre são o “padrão-ouro” para a avaliação de riscos em humanos. Dessa forma, tem sido uma tendência mundial a reavaliação da utilização de animais nos experimentos por instituições, que objetivam desenvolver e validar novos métodos, e a implementação regulatória de testes alternativos em diversos países, a fim de legalizar e harmonizar o uso dos mesmos (BALLS, 1994; HARTUNG; LEIST, 2008, HAYASHI, 2012; SCHECHTMAN, 2002).

O desenvolvimento dessas ações teve início com o surgimento de um programa reconhecido internacionalmente como 3Rs, assim denominado em função das iniciais, em inglês, (*Reduction, Refinement, Replacement*), cujo objetivo, foi reduzir o número de animais utilizados na pesquisa, além de minimizar a dor e o desconforto e buscar métodos alternativos para a substituição dos testes *in vivo* (BALLS, 1994; SCHECHTMAN, 2002).

Além de questões éticas, a busca por ensaios *in vitro* possibilita alcançar vantagens como: maior eficácia, menor custo e maior facilidade de difusão e incorporação de tais

métodos por outros laboratórios, sendo assim, uma questão de grande relevância para os laboratórios oficiais de controle da qualidade (OLIVEIRA *et al.*, 2012). Segundo o Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009 (BRASIL, 2009b), que regulamenta a Lei nº 11.794, de 8 de maio de 1979, métodos alternativos são:

Procedimentos validados e internacionalmente aceitos que garantam resultados semelhantes e com reprodutibilidade para atingir, sempre que possível, a mesma meta dos procedimentos substituídos por metodologias que: não utilizem animais; usem espécies de ordens inferiores; empreguem menor número de animais; utilizem sistemas orgânicos *ex vivos*; ou diminuam ou eliminem o desconforto (BRASIL, 2009b).

Portanto, boa parte dos métodos alternativos utiliza técnicas que envolvem cultivos celulares, tendo como desfecho a citotoxicidade ou liberação de mediadores inflamatórios, ou ainda se baseiam em outros mecanismos ou efeitos. Outra área que vem crescendo muito é a de avaliação por meio da interação química da molécula com as estruturas biológicas, que pode ser avaliada através de modelos matemáticos, tais como *Structure-Activity Relationship* (SAR, relação estrutura-atividade) e *Quantitative Structure Activity Relationship* (QSAR, relação quantitativa estrutura-atividade), designados genericamente como *in silico* (DEARDEN *et al.*, 1997; DEWHURST *et al.*, 2006; HARTUNG *et al.*, 2001; HARTUNG; WENDEL, 1996; HOFFMANN; PETERBAUER; SCHINDLER, 2005; PRATIM ROY *et al.*, 2009). O modelo *in silico* baseia-se em um conjunto de dados obtidos de forma experimental e gera um modelo matemático que reflete os resultados previamente obtidos e auxilia na extrapolação dos mesmos na predição computacional de respostas ou resultados em outros sistemas (DE GROOT; McMURRY; MOISE, 2008).

Alguns desses métodos alternativos à experimentação animal estão disponíveis para avaliação da toxicidade. Nos Estados Unidos, o *Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods* (ICCVAM) e o *NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods* (NICEATM) estabelecido pelo *National Toxicology Program* (NTP), promovem a validação, a regulamentação e a aceitação de métodos alternativos que apresentam melhor valor preditivo, quanto aos efeitos sobre o ambiente e para a saúde humana, em comparação aos métodos usuais. Dessa forma, o ICCVAM e o NICEATM disponibilizam em seus *websites* uma relação de métodos alternativos validados e já adotados por agências internacionalmente reconhecidas, como a *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) (ICCVAM, 1997, 2001, 2003).

Na Europa, o *European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing* (EURL-ECVAM), é o órgão responsável pelo processo de validação de métodos alternativos, cujo objetivo é coordenar o processo de validação de métodos alternativos na União Europeia, proceder à troca de informações no desenvolvimento de métodos alternativos, estabelecer, manter e administrar um banco de dados dos procedimentos alternativos, promover o diálogo entre legisladores, indústrias, cientistas, consumidores e grupos voltados para a proteção animal (EUROPEAN CENTRE FOR THE VALIDATION OF ALTERNATIVE METHODS, 2003; SCHECHTMAN, 2002; WORTH; BALLS, 2002).

O trabalho do ECVAM é focado no desenvolvimento e na avaliação de métodos *in vitro*, como por exemplo, culturas de células e tecidos, nos modelos baseados na fisiologia e cinética e no uso de modelos computadorizados baseados na relação estrutura-atividade (REA) (CAZARIN; CORRÊA; ZAMBRONE, 2004).

No Brasil, a preocupação em validar métodos alternativos com a finalidade de atender ao programa reconhecido internacionalmente como 3Rs, ou seja, redução, substituição e refinamento do uso dos animais em estudos toxicológicos iniciou em outubro de 2011. A Anvisa em conjunto com o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), criou um grupo de trabalho visando o estudo sobre a estruturação do Centro Brasileiro de Validação de Métodos Alternativos (BraCVAM), o primeiro centro de validação de metodologias alternativas da América Latina. A criação deste centro foi inspirada no ECVAM, existente há mais de duas décadas e que visa promover a aceitação científica e regulatória de testes livre de animais (VICTAL et al., 2014).

Em 2012, o Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC), através da Portaria nº 491, de 3 de julho de 2012, instituiu a Rede Nacional de Métodos Alternativos (Renama) com o objetivo de estimular a implantação de ensaios alternativos ao uso de animais através do auxílio e do treinamento técnico nas metodologias necessárias, monitorar periodicamente o desempenho dos laboratórios associados através de comparações interlaboratoriais, promover a qualidade dos ensaios através do desenvolvimento de materiais de referência químicos e biológicos certificados, quando aplicável, incentivar a implementação do sistema de qualidade laboratorial e dos princípios das boas práticas de laboratório (BPL) e promover o desenvolvimento, a validação e a certificação de novos métodos alternativos ao uso de animais (BRASIL, 2012a).

Para que um método alternativo possa ser adotado oficialmente, ele precisa ser validado, ou seja, este deve passar por estudos colaborativos internacionais e ainda ser publicado em compêndios oficiais, que é a etapa de aceitação regulatória. Porém, é importante

ter claro, que apesar de todo esforço mundial, a substituição completa de animais ainda não é possível (ICCVAM, 1997; ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2005).

Nas últimas décadas, várias metodologias alternativas foram estudadas, porém poucas foram validadas, sendo necessário o aprofundamento de estudos sobre a aplicabilidade de alguns ensaios *in vitro* (OLIVEIRA et al., 2012).

Segundo Cerqueira (2008), apesar da área científica ter dado um passo significativo no desenvolvimento de métodos alternativos em substituição ao uso de animais nos experimentos científicos, há ainda um longo caminho a percorrer para substituir integralmente os ensaios *in vivo*. Para este autor, o grande desafio, ainda, é desenvolver métodos alternativos capazes de reduzir ou subsistir os animais nos experimentos científicos para a totalidade de desfechos toxicológicos de interesse para a saúde humana, como por exemplo: os testes de mutagenicidade, carcinogenicidade, dermosensibilização, teratogenicidade, entre outros.

Quanto aos produtos à base de nanotecnologias, estudos relacionados à sua avaliação toxicológica ainda são relativamente escassos na literatura científica. Levantamento recente realizado por Delgado e Paumgartem (2013) demonstrou que os primeiros manuscritos publicados com o termo “Nanotecnologia” datam de 1991, somando mais de 40 mil artigos na base de dados do Pubmed. O termo “Nanotoxicologia<sup>5</sup>” surge na literatura científica cerca de 15 anos mais tarde, em meados da década de 2000. Artigos aplicando esta terminologia figuram na base Pubmed em número muito inferior, *i.e.* cerca de 600 artigos, considerando o ano de 2013 como limite de busca. Grande parte dos estudos toxicológicos realizados NP disponíveis hoje na literatura científica foram realizados com modelos *in vitro*, ou alternativamente, modelos *ex vivo* (DELGADO; PAUMGARTTEN, 2013). Este fato se dá, provavelmente, pela dificuldade de aquisição de NP bem caracterizadas e em quantidade suficiente para realização de estudos em animais.

Atualmente esse mercado de produtos à base de nanotecnologia tem apresentado grande crescimento e juntamente com esse crescimento tem aumentado a preocupação sobre o impacto na saúde e segurança ambiental em decorrência a exposição a esses NM (SANG-KYU *et al.*, 2015).

Desta forma, se faz necessário a realização dos estudos toxicológicos *in vivo* e *in vitro*, para NP, tendo o cuidado ao extrapolar os dados resultantes da avaliação *in vitro* para determinar o uso *in vivo* e por último combinar essas informações com os dados obtidos por

---

<sup>5</sup> A nanotoxicologia têm o objetivo de determinar em que medida as propriedades dos materiais nas dimensões da nanoescala podem representar uma ameaça ao meio ambiente e aos seres vivos (AGUILAR, 2013).

modelos *in silico*. Portanto, com a análise correta desses dados é possível estabelecer o valor preditivo desses estudos e a avaliação desses métodos baseados em evidência, sendo esta uma grande oportunidade e desafio para a Toxicologia do Século XXI (FRÖHLICH; SALAR-BEHZADI, 2014; MONTEIRO-RIVIERE, 2013; STEPHENS *et al.*, 2013).

### 1.5 A toxicologia do século 21

A Toxicologia do Século 21 (Tox-21) surge em 2007, com uma enorme mudança de paradigma, com a publicação do relatório "Testes de toxicidade no século 21: Uma visão e uma estratégia" pela *National Research Council* (NRC) dos Estados Unidos da América (EUA) trazendo uma nova abordagem para testes de segurança e avaliações de riscos, através da incorporação das revoluções em biologia e ciência da computação e exigindo menos estudos com animais e visando a predição de possíveis efeitos induzidos por xenobióticos sobre a saúde humana e um maior entendimento acerca dos mecanismos de ação envolvidos nestes processos (SCHMIDT, 2009; STEPHENS *et al.*, 2013). Segundo a NRC a estratégia convencional de tratar animais com produtos químicos e avaliar os sinais resultantes de intoxicação "é tão demorada e requer tantos recursos que dificilmente poderia dar conta dos muitos desafios enfrentados hoje em dia" (KREWSKI *et al.*, 2010).

No ano de 2008 um importante acordo de parceria foi estabelecido entre três agências norte-americanas: o *National Toxicology Program* (NTP), o *National Institute of Health Chemical Genomics Center* (NCGC) e o *Environmental Protection Agency* (EPA), onde cada uma dessas agências contribui com a experiência, recursos e ferramentas para desenvolver abordagens mais rápidas e eficientes para prever como produtos químicos podem afetar a saúde. Dentre essas ferramentas científicas temos: os projetos de farmacogenômica, toxicogenômica, proteômica e metabolômica; a utilização de ferramentas computacionais (métodos *in silico*) e ensaios automatizados (QSAR; *High-throughput Screening*, HTS); a padronização de modelos de cultura celular e de órgãos isolados; técnicas em nível molecular e celular como fluorescência usando citometria a laser; visualização celular de alto teor; sensoriamento eletrônico da atividade celular; ensaios de ligação a receptores e ensaios de gene repórter; culturas tissulares tridimensionais; dentre outras (COLLINS; GRAY; BUCHER, 2008; HARTUNG, 2011; SCHMIDT, 2009; STEPHENS *et al.*, 2013).

O Tox-21 também propõe mapear, de forma completa, o conjunto de vias bioquímicas que estão envolvidas em respostas biológicas decorrentes dos mais diversos tipos de exposição humana a xenobióticos. A identificação dessas vias bioquímicas, portanto,

permitirá um avanço no processo de identificação de possíveis efeitos adversos, que por sua vez, impactam positivamente na construção do processo de avaliação do risco associado a determinado agente xenobiótico. Sendo assim, é de se esperar, que quanto mais preciso for o processo de avaliação do risco, mais assertivas serão as agências regulatórias responsáveis pelos processos de gerenciamento do risco (HARTUNG, 2011).

Recentemente, uma das tecnologias que vem sendo desenvolvida visando substituir o uso de animais em testes farmacológicos e toxicológicos é o *Human on a Chip*, que é um cultivo de tecidos humanos em biorreatores de perfusão microfluídica controlados por computador. A finalidade desse teste é cultivar simultaneamente vários organoides humanos que, em conjunto, reajam a xenobióticos de forma semelhante ao organismo humano. No estado da arte atual, é possível cultivar simultaneamente até dois tecidos humanos tais como: epiderme e tecido hepático, mas a expectativa é cultivar simultaneamente até dez tecidos (MARX, 2012).

A utilização dessas estratégias integradas, inovadoras e mais precisas pode ser fundamental para análise do risco-benefício dos nanoproductos e a utilização dessas evidências científicas, juntamente com o uso dos testes de toxicidade *in vivo*, podem ser importantes ferramentas no processo de tomada de decisão, sendo essencial para a efetividade de intervenções e/ou ações na área da saúde, seja no contexto diagnóstico, terapêutico ou toxicológico. Na área de toxicologia, a avaliação especializada das evidências depende de profundo conhecimento técnico, perícia e criteriosa busca/avaliação de informações, sendo que tal abordagem já é citada em guias e normas internacionais e nacionais (HARTUNG, 2010; NEL *et al.*, 2013; STEPHENS *et al.*, 2013).

A evidência pode ser caracterizada como a última instância passível de ser extraída de resultados de estudos toxicológicos, o que exige investigação com busca de dados disponíveis, tais como, estudos epidemiológicos, relatos de caso, entre outros. A capacidade de se obter e interpretar essas informações, quanto a sua confiabilidade, consistência, relevância e a sua contribuição relativa (em peso de evidência), é importante no processo de tomada de decisões efetivas, já que são necessárias decisões corretas em um contexto considerado crítico, que envolve riscos de consequências que podem ser graves e ou prevalecer por várias gerações (STEPHENS *et al.*, 2013).

Essa sistematização do processo de avaliação de evidências provenientes de estudos toxicológicos foi denominada de Toxicologia baseada em evidências (TBE). Segundo Hartung (2009), a TBE abrange todos os aspectos da prática toxicológica, e todos os tipos de evidências usadas na identificação do perigo, avaliação do risco, e análise retrospectiva da

causalidade, além de promover o julgamento sensato com obtenção de conclusões robustas obtendo com isso, a maior evidência possível.

A TBE apresenta aplicação transversal, entretanto, destaca-se a sua utilização na busca sistemática da evidência científica na área clínica e diagnóstica, como por exemplo, no diagnóstico de intoxicações e avaliação das melhores opções terapêuticas baseada em evidências; na avaliação do risco toxicológico, por exemplo, no caso de identificação de perigo de substâncias e por último, na investigação da causalidade (investigação causa/efeito), por exemplo: fumo vs. câncer de pulmão (HARTUNG, 2009, 2010).

Como a TBE traz uma nova visão sobre a avaliação de informações a partir da análise do risco, é possível ao pesquisador ter uma visão mais crítica em relação ao risco avaliado, podendo ser, portanto, uma importante ferramenta de segurança toxicológica no uso de produtos de âmbito sanitário, dentre eles as embalagens de alimentos (HARTUNG, 2009, 2010).

Uma das principais ferramentas da TBE é a revisão sistemática (RS), que inclui uma variedade de passos, tais como: (i.) enquadrar a questão a ser tratada e decidir sobre como os estudos relevantes serão identificados e recuperados, (ii.) quais estudos serão excluídos da análise, (iii.) como os estudos incluídos serão avaliados para o risco de viés/qualidade, e (iv.) como os dados irão ser sintetizados através de estudos, por exemplo, metanálise (STEPHENS *et al.*, 2013, 2016).

## **1.6 Revisão sistemática como método da prática baseada em evidências**

A necessidade por qualidade máxima no cuidado em saúde, associada com a necessidade de uso racional de recursos tanto públicos quanto privados, tem contribuído para aumentar a pressão sobre os profissionais da área de saúde com a finalidade de assegurar a implementação de uma prática baseada em evidências (PBE), pois promove a síntese do conhecimento fracionado em um único estudo, o que permite ao pesquisador uma cobertura mais ampla do que poderia obter com um único estudo clínico (BENNETT; BENNETT, 2000; SAMPAIO; MANCINI, 2007).

Métodos sistemáticos são usados para evitar viés e possibilitar uma análise mais objetiva dos resultados, facilitando uma síntese conclusiva sobre determinada intervenção/decisão, portanto, a RS, é uma revisão planejada para responder a uma pergunta específica e que utiliza metodologias explícitas e sistemáticas, com a finalidade de se identificar, selecionar e avaliar criticamente os estudos, e ainda, coletar e analisar os dados

destes estudos incluídos na revisão (ATALLAH; CASTRO, 1998; SAMPAIO; MANCINI, 2007).

Dessa forma, fica claro que os estudos de RS são particularmente úteis, pois, integram as informações de um conjunto de estudos primários realizados de forma separada sobre determinada terapêutica/intervenção, que podem apresentar resultados, seja conflitantes e/ou coincidentes, assim como identificar temas que necessitam de mais evidências científicas, auxiliando na orientação para investigações futuras e tomada de decisão (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

Portanto, as RS são utilizadas como fonte de informação para os que tomam decisões na política, incluindo informações sobre a natureza e a extensão de um problema, e os potenciais benefícios ou danos e os custos de intervenções e políticas (LAVIS *et al.*, 2005; LEWIN *et al.*, 2009; PETTICREW; ROBERTS, 2006).

As RS podem ser compreendidas como a revisão planejada da literatura científica, a partir de critérios pré-definidos que visam orientar a identificação, a seleção e a avaliação crítica dos estudos relevantes a partir de uma questão claramente formulada. Diferentemente de outras revisões tradicionais, ela possui uma abordagem bem definida e uniforme, com rigor metodológico, para identificar os estudos que são realmente relevantes, além de definir *a priori* os critérios para incluir ou não determinado trabalho, estabelecendo ao final do estudo, se as descobertas científicas são de fato consistentes (HULLEY, 2008).

Comparado a tradicionais revisões narrativas, a RS visa minimizar a subjetividade e melhorar a transparência, rigor e consistência na forma como os estudos são conduzidos e relatados e se diferencia bastante da revisão de literatura porque segue um método rigoroso e uma forma de relato diferente (CHALMERS; GLASZIOU, 2009; PETTICREW; ROBERTS, 2006; SILBERGELD; SCHERER, 2013). Sendo assim, a RS, busca trazer para si o mesmo nível de rigor que deve existir na produção de evidências primárias de pesquisas, sendo elaboradas com base em protocolos avaliados por pares de modo que possam ser replicados, se necessário (HEMINGWAY; BRERETON, 2009).

Dessa forma, apresenta vantagens, dentre elas podemos destacar: utilizar metodologia reprodutível, portanto científica; prevenir duplicação desnecessária de esforços, ou seja, quando se completa a revisão ela não precisa ser repetida por outro grupo; prevenir controvérsias na literatura, uma vez que não é o número de resultados favoráveis que conta, mas a somatória de todos os casos adequadamente estudados e auxiliar decisões políticas de saúde (IARED; VALENTE, 2009; NITA *et al.*, 2010,. Com isso, a RS tem substituído em

grande parte as revisões de literatura tradicionais, os relatos de caso, e comentários (PETTICREW; ROBERTS, 2006; CHALMERS; GLASZIOU, 2009).

As limitações mais comuns das revisões da literatura são as seguintes: i) viés de seleção; ii) falta de dados específicos nos estudos publicados; iii) viés de exclusão, devido às preferências do revisor; iv) heterogeneidade dos dados primários e v) viés de interpretação dos resultados (THACKER, 1993).

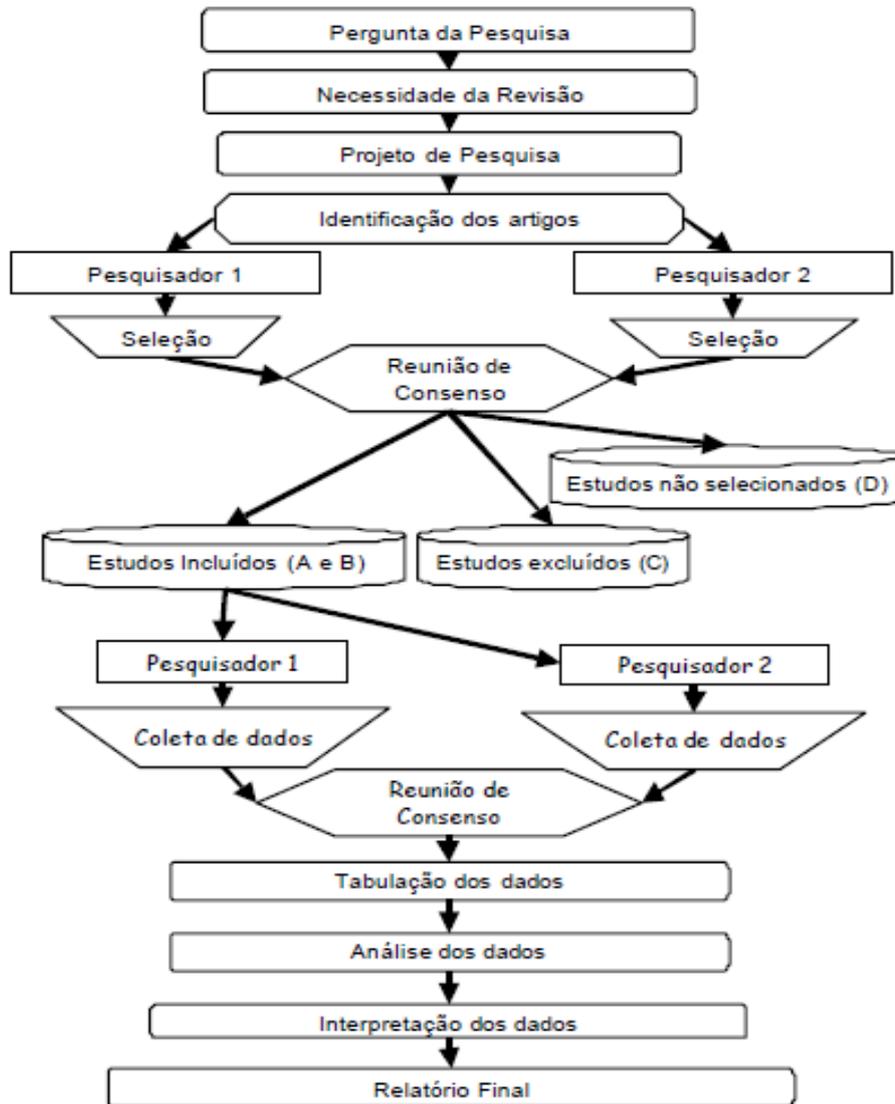
A RS é classificada em quantitativa ou qualitativa. As revisões qualitativas não utilizam métodos estatísticos para sumarizar os resultados dos estudos primários. As revisões quantitativas, também chamadas de metanálise, são um estudo de revisão em que os resultados de vários estudos realizados de forma independentes são combinados e sintetizados por meio de métodos estatísticos, de forma a produzir uma única estimativa ou índice que caracterize o efeito, por exemplo, de determinada intervenção (SAMPAIO; MANCINI, 2007; UMAN, 2011).

#### 1.6.1 Etapas para elaboração de uma RS

Para elaborar uma RS existe uma extensa literatura disponível e diversas ferramentas conhecidas. As mais conhecidas internacionalmente e aceitas pelos periódicos científicos como modelo do manuscrito são: o manual da *Cochrane Collaboration* (HIGGINS; GREEN 2011), o *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (LIBERATI et al, 2009), o PRISMA EQUITY, que é uma extensão do PRISMA de como reportar RS com foco na Equidade em Saúde (WELCH et al, 2012), e o *Meta-analysis of Observational Studies in Epidemiology* (MOOSE) (STROUP, 2000).

Os princípios gerais para elaboração de uma RS envolvem uma sequência de etapas essenciais (Figura 3): formulação da pergunta; definição de critérios de inclusão e exclusão dos estudos; a busca e seleção dos estudos que abordem a questão, utilizando várias bases de dados; avaliação da qualidade dos estudos, a extração de dados destes estudos, a apresentação dos resultados de uma forma clara, a análise dos dados e a interpretação dos resultados (COCHRANE HANDBOOK, 2006; HIGGINS; GREEN, 2011; SOUSA; RIBEIRO, 2009; STEPHENS *et al.*, 2016).

Figura 3 - Etapas para fazer uma revisão sistemática



Fonte: ATALLAH; CASTRO, 1998.

A pergunta de uma RS deve ser clara e muito específica de forma a possibilitar uma resposta por meio de estudos individuais que serão analisados em conjunto na revisão. Isso significa que a pergunta terá de trazer implícitos o seu objetivo e seus limites. A pergunta não pode ser muito ampla ou muito vaga, casos em que uma revisão de literatura ou *scoping review* seria mais adequada (HIGGINS; GREEN, 2011; PETERS *et al.*, 2015).

A formulação da pergunta deve utilizar a técnica PICO (HEALTH-EVIDENCE, 2009), a qual consiste em descrever claramente os seguintes componentes da pergunta: a população, pessoas ou problema de interesse (P); a Intervenção, a intenção com respeito à realidade ou problema ou exposição; (I); a comparação com a intervenção em uso, técnicas

similares ou com não intervenção (C) e o Desfecho (*outcome*, no original em inglês) ou resultados que se deseja obter ou conhecer (O).

Após a definição da pergunta, as buscas devem ser conduzidas por pelo menos dois pesquisadores, de forma independente, em bases de dados eletrônicas (*databases*) indexadas. Nesta etapa deve ser feito o registro de todas as informações sobre o processo de busca, como o dia e horários em que foram realizadas, metodologia adotada, descritores utilizados, limites e filtros aplicados (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

De posse de todos os estudos a serem incluídos, são estabelecidos critérios para determinar a sua validade e se há possibilidade dos resultados possuírem vieses. Desta forma, uma etapa importante da RS é a de avaliação da qualidade metodológica da pesquisa primária, avaliando o risco de viés dos estudos incluídos, independentemente do desenho do estudo primário. Nos estudos observacionais comparativos, a interpretação dos resultados da RS pode ser mais problemática devido ao maior número de fontes de vieses (SANDERSON; TAT; HIGGINS; GREEN, 2011; BRASIL, 2014).

Existem vários instrumentos propostos para avaliação da qualidade metodológica dos estudos epidemiológicos observacionais. Em 2002, West et al identificaram 12 ferramentas utilizadas para avaliação da qualidade de estudos observacionais, sendo 6 dessas utilizadas em RS, como por exemplo, as recomendações QUORUM (*Quality of Reporting of Meta-analyses*), que foram atualizadas em 2009 e passaram a ser conhecidas como recomendações PRISMA (LIBERATI *et al.*, 2009). No ano de 2003, em um estudo promovido por Deeks et al foram identificadas as 14 “melhores” ferramentas dentre 182 e, dessas, foram recomendadas 6 para utilização no contexto de RS, como por exemplo o instrumento *Newcastle–Ottawa*, utilizada para análise da qualidade de estudos observacionais.

Em 2007, Sanderson, Tat e Higgins realizaram um estudo para verificar as ferramentas específicas utilizadas para avaliar a qualidade ou suscetibilidade ao viés em estudos epidemiológicos observacionais. Após a avaliação de 86 ferramentas, os autores concluíram por não recomendar qualquer ferramenta específica. Contudo, identificaram limitações importantes em cada uma delas, o que permitiu aos mesmos sugerirem evitar as que continham poucos componentes ou domínios, as que não eram específicas para o desenho do estudo, as que não traziam a descrição dos métodos utilizados para o desenvolvimento da ferramenta e por último, as que não tinham sido validadas (SANDERSON; TAT; HIGGINS, 2007).

A etapa seguinte da RS é a de apresentação dos resultados, onde os artigos incluídos na revisão sistemática podem ser apresentados em um quadro que destaca suas características

principais, como: autores, ano de publicação, desenho metodológico, número de sujeitos (N), grupos de comparação, caracterização do protocolo de intervenção (tempo, intensidade, frequência de sessões etc), variáveis dependentes e principais resultados. Ao final da RS, estes resultados são analisados e interpretados para a obtenção das conclusões acerca do tema em questão (SAMPAIO; MANCINI, 2007; GOMES; CAMINHA, 2014).

Devido ao êxito e a credibilidade da RS, o número destes estudos aumentou drasticamente nos últimos anos (GUYATT *et al.*, 2011) e, atualmente, é uma área que tem utilizado estudos de RS para o levantamento da evidência científica necessária para o processo de tomada de decisão a de avaliação/reavaliação do risco químico (WHALEY *et al.*, 2015).

### **1.7 Revisão sistemática na avaliação do risco químico**

Os estudos de RS foram inicialmente desenvolvidos nos campos da Psicologia, Ciências Sociais e Medicina e desde a década de 1980, forneceram uma ferramenta valiosa para a tomada de decisão nestas áreas do conhecimento (LAU; ROTHSTEIN; STEWART, 2013; STEPHENS *et al.*, 2016).

Na área da Medicina, a RS fornece uma resposta valiosa à necessidade de interpretações consistentes, transparentes e cientificamente robustas dos resultados de numerosos estudos, geralmente conflitantes sobre a eficácia das intervenções de saúde. Com isso, as RS assumiram um papel cada vez mais fundamental, tanto no apoio à tomada de decisões, quanto na canalização de recursos para questões cujas respostas ainda são desconhecidas, reduzindo assim o desperdício na pesquisa (CHALMERS; GLASZIOU, 2009; SALMAN *et al.*, 2014).

As vantagens potenciais da utilização da técnica de RS no processo de tomada de decisão promoveram a extensão da sua utilização para outros campos do conhecimento, como por exemplo, o campo da avaliação de riscos químicos (STEPHENS *et al.*, 2016; WHALEY *et al.*, 2015).

Para serem utilizados no campo da avaliação de riscos químicos, os métodos de RS foram adaptados e estão sendo usados por toxicologistas para sintetizar evidências disponíveis, por exemplo, sobre a potencial associação de exposição a um produto químico com um efeito particular à saúde (STEPHENS *et al.*, 2016; WHALEY *et al.*, 2015).

As vantagens potenciais da adaptação da metodologia de RS na avaliação de riscos químicos também foram reconhecidas por múltiplos grupos de pesquisa e organizações, tais

como, o Programa Nacional de Toxicologia dos EUA, o Sistema de Informações de Risco Integrado da Agência de Proteção Ambiental dos EUA, a Autoridade Europeia de Segurança Alimentar, a Colaboração Toxicológica Baseada em Evidências, o Guia de Navegação da *University of California* de São Francisco (UCSF) e outros, e que estão implementando métodos de RS que atendem às suas diversas necessidades programáticas (AIASSA *et al.*, 2015; BIRNBAUM *et al.*, 2013; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2010; HOFFMANN; HARTUNG, 2006; ROONEY *et al.*, 2014; WOODRUFF; SUTTON, 2014, , ESTADOS UNIDOS, 2015a, 2015b).

Enquanto na área da Medicina a RS geralmente se concentra na evidência direta de benefícios e efeitos adversos de intervenções de saúde derivadas de ensaios clínicos randomizados (ECR) em humanos, no campo da avaliação de riscos químicos a base de evidências é geralmente mais complexa, com a necessidade de associar as investigações em animais, *in vitro* e *in silico*, e depois sintetizar os achados com aqueles de estudos humanos, se disponíveis. Além disso, os dados em humanos tendem a se referir a estudos observacionais com um potencial maior e mais variado de viés e confusão do que os ECR, e a faixa de resultados a ser considerada é geralmente muito mais ampla do que na avaliação das intervenções de saúde. Assim, quando os vários tipos de pesquisa toxicológica são combinados em uma única conclusão geral sobre os riscos à saúde proporcionados por uma exposição química, os avaliadores do risco são desafiados a integrar os resultados de uma base muito mais ampla e heterogênea de evidências quando comparados como as pesquisas da Medicina Clínica (SILBERGELD; SCHERER, 2013; WHALEY *et al.*, 2015).

Entretanto, mesmo apresentando essas fontes heterogêneas de evidências, há motivos para pensar que os métodos de RS podem ser aplicados com sucesso ao campo da avaliação de riscos químicos, pois, adicionam transparência, rigor e objetividade ao processo de coleta das evidências científicas mais relevantes com as quais se informam discussões sobre políticas e podem fornecer uma ferramenta crítica para organizar e avaliar as evidências nas quais as decisões de política química são baseadas, principalemtnete diante de conclusões equivocadas ou por vezes controversos (WHALEY *et al.*, 2015).

Um exemplo recente e ilustrativo de quando cientistas, especialistas e organizações de renome chegaram a conclusões aparentemente contraditórias sobre a probabilidade de um produto químico causar danos a saúde ocorreu com o 2,2-bis(4-hidroxifenil) propano denominada popularmente como bisfenol-A (BPA). O BPA é um monômero usado, principalmente na produção de policarbonato e em vernizes epóxi. O policarbonato é um polímero que apresenta alta transparência e resistências térmica e mecânica. Devido a estas

características o polycarbonato é utilizado na fabricação de mamadeiras e copos infantis (WHO/FAO, 2011). Entretanto, estudos sobre o BPA levantaram dúvidas quanto à sua segurança, no uso por crianças, desta forma, e em decorrência das "incertezas sobre o efeito da exposição de crianças ao bisfenol A" foi proibido de ser utilizado em mamadeiras para bebês em toda a União Europeia (UE) e também no Brasil (EUROPEAN COMMISSION, 2011a, 2011b).

No Brasil a Anvisa, por meio da RDC nº 41, de 16 de setembro de 2011, restringiu a fabricação e a importação de mamadeiras que continham BPA e, em 2012, através da RDC nº 56, de 16 de novembro, também proibiu o uso de polímeros com tal componente químico na fabricação de mamadeiras e artigos similares destinados à alimentação de lactentes (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2011, 2012b).

No entanto, apesar da proibição ao uso do BPA em alguns países, não houve o consenso entre as autoridades regulatórias e os especialistas quanto à validade e relevância das observações referentes a baixas doses de BPA e o risco à saúde humana, pois, enquanto a *European Food Safety Authority* (EFSA) considerava que os atuais níveis de exposição ao BPA apresentavam um baixo risco de danos para a população (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2015), a Agência Nacional Francesa de Segurança Alimentar (ANSES) assumia uma posição aparentemente diferente sobre os riscos à saúde proporcionados pelo BPA (FRENCH AGENCY FOR FOOD, ENVIRONMENTAL AND OCCUPATIONAL HEALTH, AND SAFETY, 2014). A partir de diversos estudos foi constatado que a exposição a doses baixas de BPA pode levar a distúrbios no desenvolvimento da glândula mamária, do cérebro, da próstata, dos testículos, bem como no metabolismo das gorduras, na reprodução etc. Com base nesses dados a ANSES propôs classificar o BPA como tóxico, o que contribuiu para que as autoridades francesas banissem o BPA de todos os materiais de embalagem de alimentos produzidos e importados para o seu território (FRENCH AGENCY FOR FOOD, ENVIRONMENTAL AND OCCUPATIONAL HEALTH, AND SAFETY, 2013, PARLAMENTO EUROPEU, 2015).

Cabe resaltar que, essa proibição da ANSES foi contestada por algumas partes interessadas, classificando-a como desproporcional à luz da legislação da UE (PLASTICS EUROPE, 2015; TOŠENOVSKÝ, 2014, 2015).

Esse exemplo do BPA ilustra os desafios em alcançar o consenso mesmo quando se interpreta a mesma base de evidências sobre a toxicidade potencial das exposições químicas, seja em termos do que é conhecido e do que é incerto sobre os riscos à saúde impostos pelo BPA e/ou qual é a resposta apropriado para gerenciar esses riscos e incertezas.

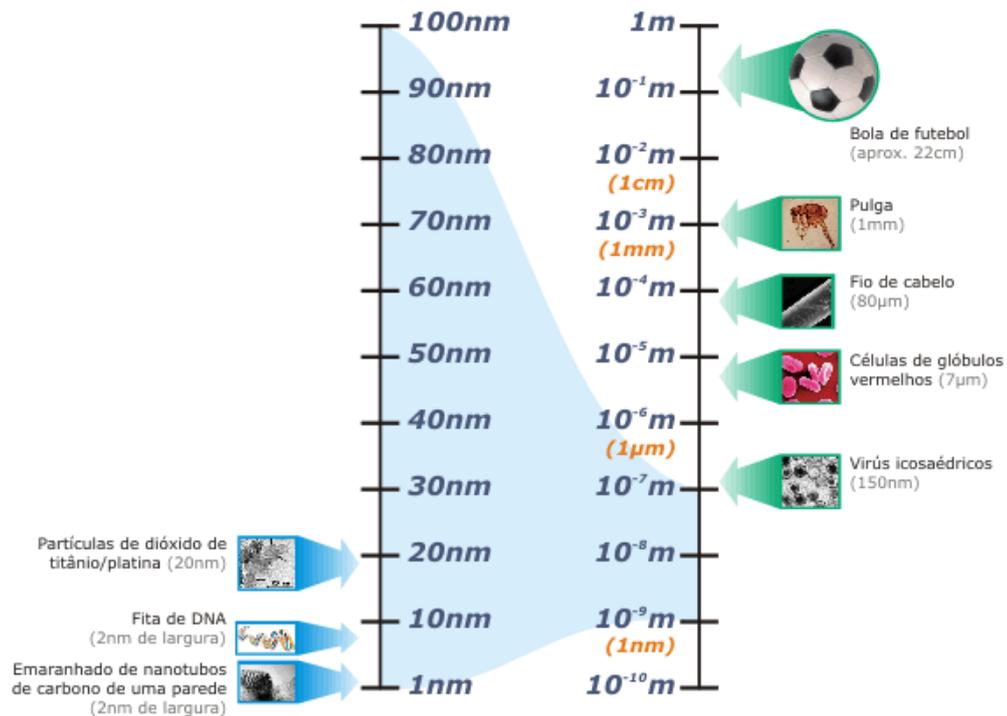
Também mostra como, na ausência desse consenso, existe o perigo de que a política sobre o BPA possa se desconectar da base de evidências, colocando em risco a saúde por meio da exposição contínua ou incorrer em custos econômicos desnecessários, restringindo o uso de produtos químicos na verdade suficientemente seguros. Também sugere que, se as razões para o desacordo sobre os riscos à saúde colocados por um produto químico não são acessíveis para várias partes interessadas no debate, torna-se ainda mais difícil para os reguladores resolverem com credibilidade controvérsias sobre segurança química, o que pode minar sua autoridade a longo prazo.

Por isso, a implementação das técnicas de RS na avaliação de riscos químicos representa mais do que um desafio, mais sim uma oportunidade, aumentando potencialmente a eficiência, transparência e robustez do processo de avaliação de riscos associados a produtos químicos, e dentre esses, temos os produtos derivados de nanotecnologia.

## **1.8 As nanotecnologias**

A Nanotecnologia envolve a caracterização, fabricação e/ou a manipulação de estruturas, dispositivos ou materiais que usualmente contêm pelo menos uma dimensão acima de 1nm e inferior a 100nm (ALLAN, 2012; INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2010, DUNCAN, 2011). Em termos de dimensão um nanômetro é um metro dividido por um bilhão, ou seja, 1nm é igual a  $10^{-9}$  m. Para ter uma noção deste tamanho, mostramos que o diâmetro de um fio de cabelo é da ordem de 80.000 nm, uma célula sanguínea de glóbulo vermelho tem aproximadamente 7.000 nm de largura, ou ainda a largura de uma molécula de DNA que tem cerca de 2 nm de largura, conforme mostra a Figura 4 (PUC-RIO, 2018a).

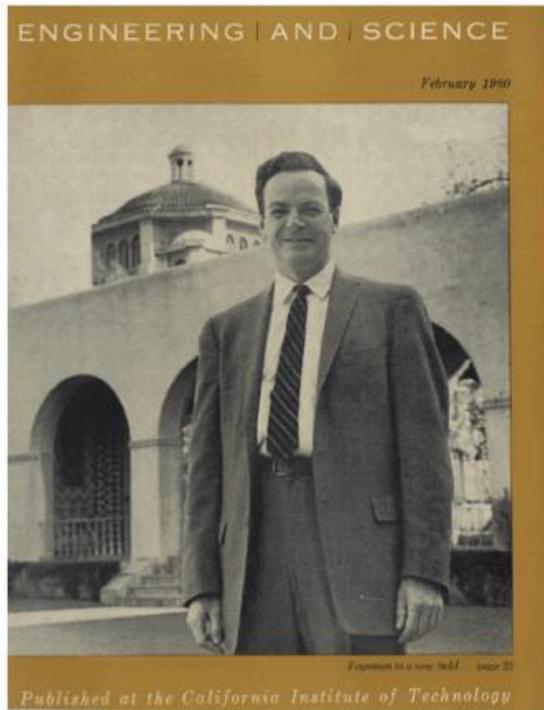
Figura 4 - Quão pequeno é o nanômetro? A escala das coisas e comparações de tamanho



Fonte: PUC-RIO, 2018a.

A apresentação do poder revolucionário da nanotecnologia surgiu a partir de uma palestra ministrada por Richard Feynman (1918-1988) no Instituto de Tecnologia da Califórnia (Caltech, Pasadena, CA) em 29 dezembro de 1959, denominada *There's plenty of room at the bottom* (Figura 5). Nesta palestra Feynman (1960) explorou a ideia de escrever toda a enciclopédia britânica na cabeça de um alfinete. Para isso deve-se manipular a matéria na escala de átomos e moléculas individuais (FEYNMAN, 1960).

Figura 5 - Capa da revista do *California Institute of Technology* – caltech que apresenta um artigo adaptado da palestra de feynman intitulada *There's plenty of room at the bottom*



## There's Plenty of Room at the Bottom

An invitation to enter a new field of physics.

by Richard P. Feynman

I imagine experimental physicists must often look with envy at men like Kamerlingh Onnes, who discovered a field like low temperature, which seems to be bottomless and in which one can go down and down. Such a man is then a leader and has some temporary monopoly in a scientific adventure. Percy Bridgman, in designing a way to obtain higher pressures, opened up another new field and was able to move into it and to lead in all along. The development of ever higher vacuum was a continuing development of the same kind.

I would like to describe a field, in which little has been done, but in which an enormous amount can be done in principle. This field is not quite the same as the others in that it will not tell us much of fundamental physics (in the sense of, "What are the strange particles?") but it is more like solid-state physics in the sense that it might tell us much of great interest about the strange phenomena that occur in complex situations. Furthermore, a point that is most important is that it would have an enormous number of technical applications.

What I want to talk about is the problem of manipulating and controlling things on a small scale.

As soon as I mention this, people tell me about miniaturization, and how far it has progressed today. They tell me about electric motors that are the size of the nail on your small finger. And there is a device on the market, they tell me, by which you can write the Lord's Prayer on the head of a pin. But that's

nothing; that's the most primitive, halting step in the direction I intend to discuss. It is a staggeringly small world that is below. In the year 2000, when they look back at this age, they will wonder why it was not until the year 1960 that anybody began seriously to move in this direction.

Why cannot we write the entire 24 volumes of the *Encyclopaedia Britannica* on the head of a pin?

Let's see what would be involved. The head of a pin is a sixteenth of an inch across. If you magnify it by 25,000 diameters, the area of the head of the pin is then equal to the area of all the pages of the *Encyclopaedia Britannica*. Therefore, all it is necessary to do is to reduce in size all the writing in the *Encyclopaedia* by 25,000 times. Is that possible? The resolving power of the eye is about 1/120 of an inch – that is roughly the diameter of one of the little dots on the fine half-tone reproductions in the *Encyclopaedia*. This, when you demagnify it by 25,000 times, is still 80 angstroms in diameter – 32 atomic spaces, in an ordinary metal. In other words, one of those dots still would contain in its area 1,000 atoms. So, each dot can easily be adjusted in size as required by the photograving, and there is no question that there is enough room on the head of a pin to put all of the *Encyclopaedia Britannica*.

Furthermore, it can be said if it is so written. Let's imagine that it is written in raised letters of metal, that is, where the black is in the *Encyclopaedia*, we have raised letters of metal that are actually 1/25,000

"There's Plenty of Room at the Bottom" is a transcript of a talk given by Dr. Feynman on December 29 of the annual meeting of the American Physical Society at Caltech.

22

Engineering and Science

Fonte: Adaptado de FEYNMAN, 1960.

Este pesquisador norte-americano foi um proeminente físico, ganhador do Prêmio Nobel em 1959 e conhecido por suas contribuições para a mecânica quântica, esboçou um mundo de forma visionária, onde novas tecnologias seriam capazes de operar e construir máquinas na menor escala possível, “estruturando objetos átomo por átomo” e chegando ao auge da miniaturização. Ele também observou que nesta escala reduzida a magnitude de diversos fenômenos físicos poderia mudar; a gravidade poderia se tornar menos importante, ao passo que a tensão superficial e as forças de *Van der Waals* se tornariam mais relevantes (SCHULZ, 2013; TOUMEY, 2008; WHATMORE, 2006).

Apesar do termo Nanotecnologia parecer ter sido inspirado por Feynman, o pesquisador japonês Norio Taniguchi (1912-1999) em uma conferência sobre semicondutores realizada em 1974, foi o primeiro a utilizá-lo. Segundo Taniguchi, Nanotecnologia podia ser definida como o processamento, separação, consolidação e deformação de materiais por um átomo ou uma molécula (SCHULZ, 2013; WHATMORE, 2006).

Entretanto, o desenvolvimento e a popularização da área da Nanotecnologia em si foi realizado pelo engenheiro norte-americano Eric Drexler, autor do livro *Engines of creation: the coming era of nanotechnology* publicado em 1986; obra com importante destaque na disseminação dessa nova tecnologia para o grande público (DREXLER, 1992; SCHULZ, 2013; WHATMORE, 2006).

O conceito de Nanotecnologia vem sendo aprimorado de acordo com os avanços da ciência, todavia, ainda não há um conceito internacional consensual para o termo (Tabela 1) (DIMER *et al.*, 2013). A divergência no que consiste esta definição é decorrente de aspectos históricos e legais, uma vez que, em princípio, a nanotecnologia é baseada não só na diminuição de tamanho das partículas em uma escala nanométrica, mas, principalmente, no surgimento de novas propriedades e funcionalidades apresentadas por esses materiais (BOVERHOF *et al.*, 2015).

Tabela 1 - Definições de nanotecnologia utilizadas por diversas organizações internacionais

Organização Internacional	Definições de nanotecnologia
ISO - <i>International Organization for Standardization</i> (INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION, 2010)	Partícula com dimensão de 1-100 nm (diâmetro).
NSF - <i>National Science Foundation</i> (NATIONAL SCIENCE FOUNDATION, 2018)	Ciência e tecnologia na escala de um nanômetro - um bilionésimo de metro. A nanotecnologia refere-se à capacidade de manipular átomos e moléculas individuais, tornando possível construir máquinas na escala de células humanas ou criar materiais e estruturas com novas propriedades.
EC - <i>European Commission</i> (EUROPEAN COMMISSION, 2011a)	Aquele de origem natural, incidental ou manufaturado contendo partículas em estado não-ligado, aglomerado ou agregado para os quais 50% ou mais das partículas da distribuição por número, ou uma ou mais das dimensões externas, situa-se na faixa entre 1 e 100 nm.
ASTM - <i>American Society of Testing and Materials</i> (AMERICAN SOCIETY OF TESTING AND MATERIALS, 2008)	Partícula ultrafina cujo comprimento em 2 ou 3 sítios é de 1-100 nm.

Tabela 1 - Definições de nanotecnologia utilizadas por diversas organizações internacionais (conclusão)

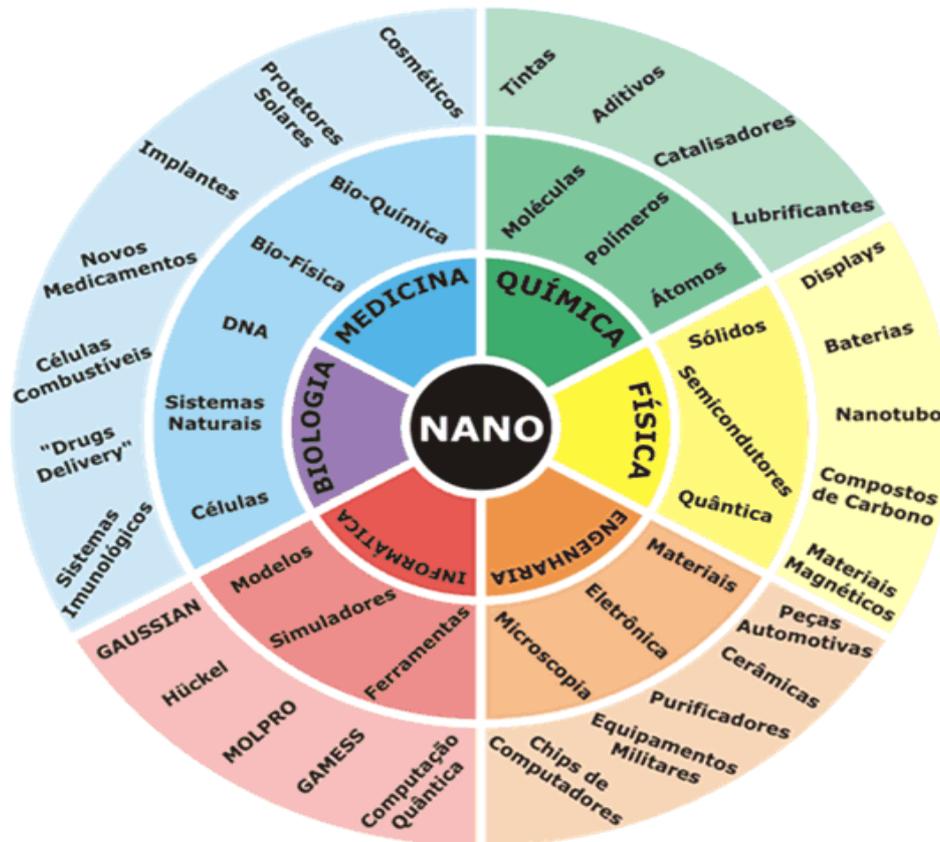
Organização Internacional	Definições de nanotecnologia
EMA - <i>European Medicines Agency</i> (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2006)	Produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas controlando a forma e o tamanho dos materiais em escala nanométrica. A escala nanométrica varia do nível atômico em torno de 0,2 nm (2 Å) até cerca de 100 nm.
NIOSH – <i>The National Institute of Occupational Safety and Health</i> (NATIONAL INSTITUTE OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH, 2009)	Partícula com um diâmetro de 1-100 nm, ou uma fibra atravessando a faixa 1-100 nm.
BSI - <i>British Standards Institution</i> (BRITISH STANDARDS INSTITUTION, 2007)	Todas as três dimensões externas estão na faixa de nanoescala.

Fonte: Da autora, 2018.

Apesar da existência de diferentes definições da Nanotecnologia, há um senso comum entre os cientistas de que essa tecnologia está associada às características da matéria, envolvendo sua origem e/ou mudança (aumento/diminuição) de suas propriedades mecânicas, óticas, magnéticas e químicas em relação àquelas com tamanhos maiores, devido a uma redução de escala de pelo menos uma das suas dimensões (BRANDÃO *et al.*, 2011; PIPERIGKOU, 2016; TRONCARELLI *et al.*, 2013).

O aproveitamento dessas propriedades em aplicações tecnológicas constitui a base da nanotecnologia de materiais e tornam esses NM tão atrativos impulsionando o mercado mundial e potencializando o consumo de materiais, produtos e processos voltados para essa área. Isto é verificado em virtude do uso crescente de nanotecnologia em diferentes produtos dos ramos eletrônico, farmacêutico, biotecnológico, cosmético, médico-hospitalar, alimentar e de bebidas (Figura 6), sendo que a indústria de embalagens de alimentos tem sido um foco recente para aplicações de nanotecnologias (BUMBUDSANPHAROKE; KO, 2015; NOGUEIRA; PAINO; ZUCOLOTTO, 2013).

Figura 6 - Aplicação de Nanotecnologia em diversas áreas do conhecimento



Fonte: MESQUITA, 2014.

Apesar do uso de diferentes tipos de nanotecnologias na fabricação de produtos nas mais diversas áreas parecer tão inovador, a confecção de materiais nanoestruturados é tão antiga quanto a própria vida, uma vez que o ser humano utilizava elementos de ocorrência natural com escala nanométrica desde os primórdios da raça humana. Talvez o exemplo mais antigo conhecido de utilização de NM se refere à Taça de *Lycurgus*, que faz parte do acervo do *British Museum* (Londres) e data do século IV d.C. e é considerada a primeira descoberta arqueológica a conter nanopartículas (Figura 7). Essa taça é composta de um tipo muito especial de vidro e possui a propriedade de mudar de cor dependendo da luz incidente. Análise deste vidro revelou que ele contém uma pequena quantidade de uma fina camada de cristais metálicos de prata (Ag) e ouro (Au) na proporção 14: 1 (LOPES, 2017).

Figura 7 - Imagem da Taça de *Lycurgus*



**Sem incidência de luz**

**Com incidência de luz**

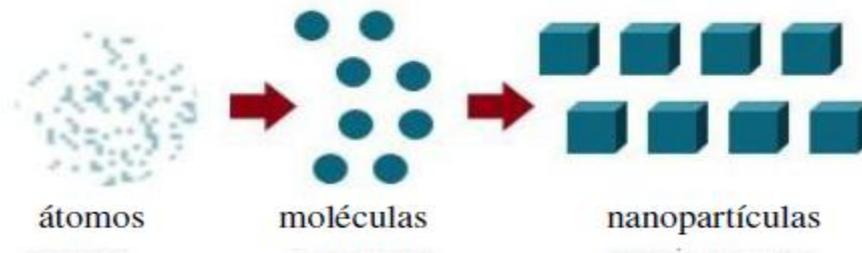
Fonte: Adaptado de BRIGHT SIDE, 2018.

### 1.8.1 Métodos de Produção

Na produção de NM existem duas técnicas básicas, a técnica *bottom-up* (de baixo para cima) e a técnica *top-down* (de cima para baixo).

Na técnica *Bottom-up* o material é sintetizado “montando” a substância átomo por átomo ou molécula por molécula, sendo este baseado em transformações atômicas ou condensações moleculares (Figura 8). Esta técnica é a mais recomendada por ser mais simples, possibilitar um maior controle sobre todo o processo, além de ter a possibilidade de obtenção de NP em tamanho inferior em relação ao processo *top-down* (FRASER *et al.*, 2006; LELEUX; WILLIAMS, 2013; SINGH *et al.*, 2011).

Figura 8 - Técnica *bottom-up*



Fonte: Adapado de PUC-RIO, 2018b.

Por outro lado, a técnica *top-down* utiliza materiais de grandes dimensões, que são reduzidos de forma progressiva até à escala manométrica desejada, aplicando-se uma força externa ao sólido, levando à sua divisão em partículas pequenas (Figura 9). Esta técnica requer mais material, pode levar a mais desperdícios e possuem baixa homogeneidade granulométrica na escala nanométrica (FRASER *et al.*, 2006; LU *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2002).

Figura 9 - Técnica *top-down*



Fonte: Adapado de PUC-RIO, 2018b.

## 1.9 Embalagem

Atualmente, no mundo globalizado, o mercado de produção e desenvolvimento de embalagens está totalmente engajado ao crescimento da economia, sendo que, quanto maior a produção de bens de consumo e mercadorias maior é a necessidade de embalagens, sendo que um dos grandes mercados consumidores de embalagens é o da indústria de alimentos (ABREU *et al.*, 2015; FABRIS; FREIRE; REYES, 2006). Segundo a RDC nº 91, de 11 de maio de 2001, da Anvisa, embalagem para alimentos é:

“... um artigo que está em contato direto com os alimentos, destinado a contê-los desde a sua fabricação até a sua entrega ao consumidor, com a finalidade de protegê-los de agentes externos, de alterações e de contaminações, assim como adulterações” (BRASIL, 2001).

A partir desse conceito pode-se atribuir à embalagem funções, tais como: conter o produto, transmitir informações, funcionar como um elo entre o consumidor e o fabricante do alimento, e a principal, proteger o alimento da ação de fatores ambientais tais como gases, luz, umidade, odores e microrganismos, proporcionando ao consumidor um alimento com o mesmo nível de qualidade dos produtos frescos ou recém-preparados, devido à sua capacidade de protegê-lo contra agentes deteriorantes, infectantes e sujeira. Desta forma, a embalagem atua como uma barreira de proteção para o alimento, contra danos físicos e mecânicos, mantendo a sua integridade durante a movimentação, transporte, distribuição e armazenamento e impedindo o contato direto com o ambiente, evitando contaminações, manuseio inadequado, falta de higiene, perda de seus constituintes e de suas características próprias (BERNARDO *et al.*, 2015; ESTEVES *et al.*, 2006; RESTUCCIA *et al.*, 2010; SARANTÓPOULOS *et al.*, 2002).

Do ponto de vista da Saúde Pública, o aspecto mais relevante da embalagem é o de conservação dos alimentos, pois, protege o mesmo contra agentes externos e da manipulação inadequada. Alimento embalado incorretamente pode deteriorar-se e se contaminar, bem como incorporar aos produtos elementos nocivos à saúde (BARROS, 2010).

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

Atualmente, as indústrias fabricantes de embalagens de alimentos, buscando atender a todos os requerimentos desse sistema produto/embalagem/ambiente, têm utilizado tecnologias da área da Nanociência para o desenvolvimento de embalagens inteligentes visando, principalmente, otimizar a vida dos produtos na prateleira. Esses sistemas de embalagens seriam capazes de reparar buracos ou rasgos, responder às alterações ambientais como temperatura, umidade etc, e alertar o consumidor se o alimento estiver contaminado (DUNCAN, 2011).

A aplicação de tecnologias da área da Nanociência, tais como, o uso de NP têm sido descritas como uma nova revolução industrial tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento, diante dos investimentos neste tipo de tecnologia de forma a assegurar uma parcela do mercado. Os Estados Unidos lideraram esse *ranking*, através da sua *National Nanotechnology Initiative* (NNI), com investimentos de US\$3,7 bilhões em pesquisas na área de nanotecnologias. O segundo grande investidor nessa área foi o Japão, seguido da UE, com substanciais recursos financeiros, respectivamente, de US\$750 milhões e US\$1,2 bilhões anuais em pesquisas nesta área, totalizando um investimento de US\$15 bilhões em pesquisas, tanto do setor público como privado, em todo o mundo, empregando mais de 400.000 pesquisadores (DUNCAN, 2011; MARTINS *et al.*, 2008).

As nanotecnologias têm sido projetadas a fim de promover um crescimento de US\$ 3 trilhões até 2020 em toda a economia global (ROCO; MIRKIN; HERSAM, 2010). Atualmente, no Brasil, o Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) lançou o Criatec 3, trata-se de um fundo voltado para investimentos em empresas inovadoras com atuação prioritária em setores da área de tecnologia, sendo preferencialmente na área de nanotecnologia, com um investimento de R\$ 200 milhões para as empresas inovadoras (PORTAL BRASIL, 2016).

#### 1.9.1 Aplicações de nanotecnologias em embalagens de alimentos

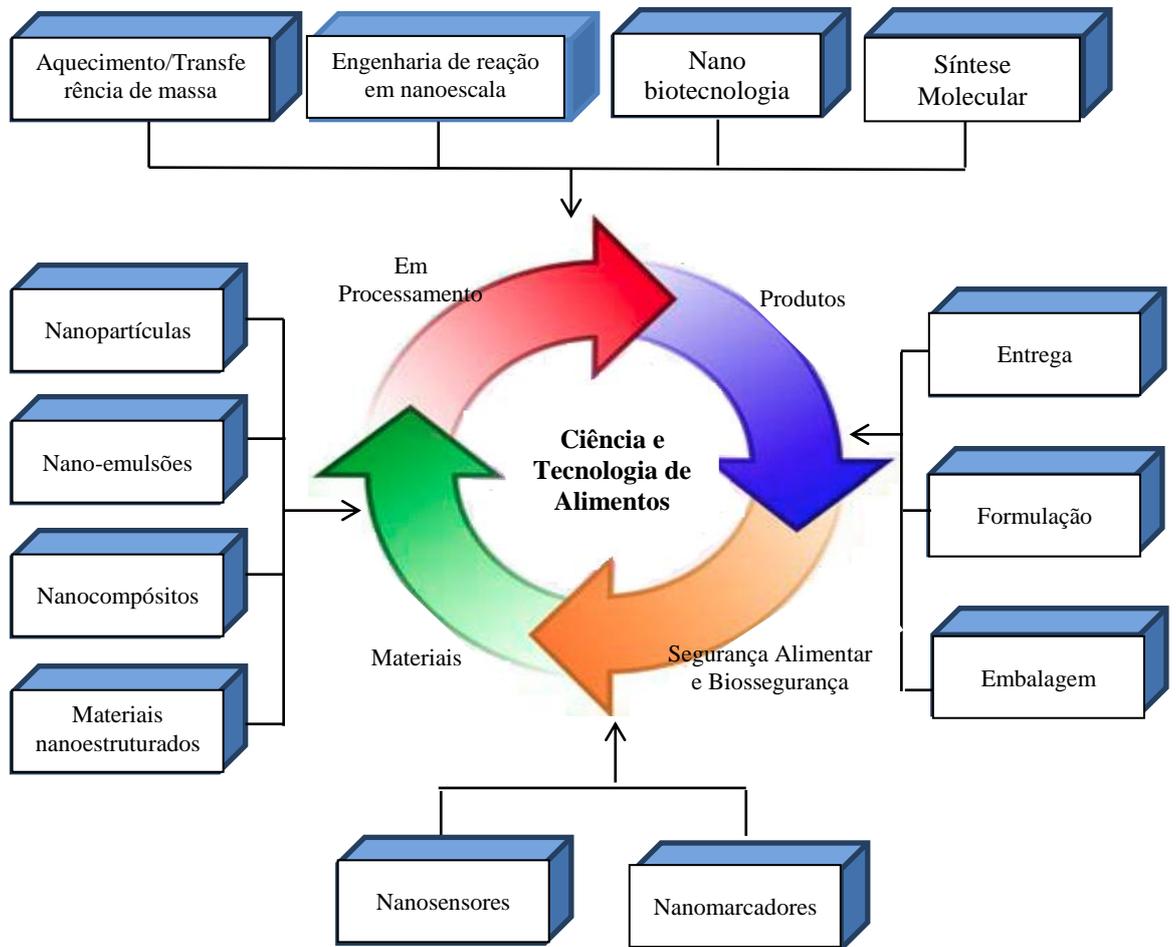
Durante a última década, o surgimento e avanço de novas tecnologias baseado em NM criou grande entusiasmo e enorme interesse no desenvolvimento de novos produtos e processos industriais (BUMBUDSANPHAROKE; CHOI; KO, 2015). De acordo com a Comissão Europeia (2011) um NM é definido como um material natural, incidental ou fabricado contendo partículas não ligadas entre si ou agregadas ou formando aglomerados nos quais a distribuição de tamanho apresenta 50% ou mais dessas partículas com uma ou mais dimensões externas no intervalo entre 1-100 nm. Em casos específicos e quando justificado por preocupações ambientais, saúde, segurança ou competitividade, o limiar de 50% na distribuição de tamanho pode ser substituído por um limiar entre 1% e 50%.

Como essas NP possuem dimensões extremamente pequenas, estas apresentam diferentes propriedades mecânicas, óticas, magnéticas e químicas em relação àquelas com tamanhos maiores (PIPERIGKOU, 2016), desta forma, o aproveitamento dessas propriedades em aplicações tecnológicas constitui a base da nanotecnologia de materiais e tornam esses NM tão atrativos impulsionando o mercado mundial e potencializando o consumo de

materiais, produtos e processos voltados para essa área (NOGUEIRA; PAINO; ZUCOLOTTO, 2013; BUMBUDSANPHAROKE; KO, 2015).

A Nanotecnologia está projetada para impactar a indústria de alimentos principalmente através da criação de materiais nanométricos com novas propriedades, o desenvolvimento de novos métodos de processamento, produtos e melhorias em segurança alimentar e Biossegurança, como demonstrado na Figura 10 (MORARU *et al.*, 2003, 2009).

Figura 10 - Matriz de aplicação da Nanotecnologia na Ciência e Tecnologia de Alimentos



Fonte: Adaptado de MORARU *et al.*, 2003, 2009.

Estima-se que 400 empresas em todo o mundo estão desenvolvendo possíveis aplicações da nanotecnologia em alimentos e embalagens de alimentos. De acordo com relatório de pesquisa de mercado intitulado "Estudo Global Relativo ao Mercado de Nano Embalagens Para Alimentos e Bebidas", em 2013 este mercado faturou US\$ 6,5 bilhões com perspectiva de crescimento anual de 12,7%, e com perspectiva de faturamento de US\$ 15,0 bilhões em 2020 (BUMBUDSANPHAROKE; KO, 2015; CONSUMER NEWS AND

BUSINESS CHANNEL, 2014; PERSISTENCE MARKET RESEARCH, 2014). Em uma outra pesquisa realizada pelo Instituto Europeu para a Saúde e Proteção dos Consumidores, a estimativa é de que a utilização de NM no mercado embalagens de alimentos chegará a US\$ 20 bilhões até 2020 (BUMBUDSANPHAROKE; KO, 2015).

Atualmente, é possível perceber uma grande variedade de NP sendo incorporadas em matrizes poliméricas como aditivos funcionais, dentre eles a nanoargila, o nano-óxido de zinco (nano-ZnO), o nano-dióxido de titânio (nano- TiO<sub>2</sub>) e a NP de nitreto de titânio (nano-TiN) (BUMBUDSANPHAROKE; KO, 2015).

De posse desta nova tecnologia muitas empresas têm desenvolvido embalagens com sistemas inteligentes. A Kraft<sup>®</sup>, por exemplo, juntamente com pesquisadores da Universidade de Rutgers nos Estados Unidos, está desenvolvendo uma embalagem que apresenta uma “língua eletrônica”, que consiste num conjunto de nanosensores, extremamente sensíveis a substâncias liberadas pelos alimentos, dessa forma, conforme ocorre a deterioração do alimento, esses sensores alteram uma faixa de cor (MARTINS *et al.*, 2008; SOZER; KOKINI, 2009).

Outro exemplo de embalagem contendo NM foi desenvolvida pela Bayer Polímeros, que criou um filme para embalagens chamado de Duretano KU2-2601<sup>®</sup> que é mais transparente e resistente do que os existentes no mercado. Essa embalagem é conhecida como “sistema híbrido”, pois é enriquecido com uma grande quantidade de NP de silicatos que reduz enormemente a entrada de oxigênio e de outros gases, assim como a saída da umidade, prevenindo a deterioração do alimento. A Kodak é outra empresa que também está desenvolvendo um filme especial com poder antimicrobiana e que tem a capacidade de absorver oxigênio do alimento impedindo que o alimento se deteriore (GREINER, 2009; MARTINS *et al.*, 2008).

Duas empresas desenvolveram um nanocompósito contendo NP de argila chamado IMPERM<sup>®</sup>. Esse nanomaterial aplicado à garrafa plástica tornando-a mais leve e forte do que uma garrafa de vidro. Além disso, a estrutura do nanocompósito minimiza a entrada de gases. Com isso, as cervejarias idealmente utilizariam garrafas plásticas, pois, não haveria perda de dióxido de carbono e o ingresso de oxigênio na garrafa, mantendo a cerveja mais fresca e dando-lhe uma validade de seis meses na prateleira. Hoje, as cervejarias não utilizam embalagens plástica convencionais pois, o álcool da bebida reage com o plástico, reduzindo severamente sua validade. O uso de um nanocompósito em embalagens plásticas de cerveja, além de manter a sua qualidade, teria o aspecto econômico, pois garrafas plásticas são mais leves e baratas do que as latas (MARTINS *et al.*, 2008).

Apesar de muitos produtos já apresentarem na sua composição NP, no Brasil, atualmente, não está estabelecida qualquer regulamentação, por parte da Anvisa, específica para a revisão e aprovação de registro de produtos que contenham matérias na escala manométrica (DAMASCENO *et al.*, 2013).

Um NM que também tem sido muito utilizado pelas indústrias no processo de produção de embalagens de alimentos são as nanopartículas de prata (NPAg) (ABREU *et al.*, 2015, RAMOS *et al.*, 2016).

### **1.10 Nanopartículas de prata (NPAg)**

A NPAg é considerada o NM mais proeminente em aplicações comerciais no momento (PASCHOALINO *et al.*, 2010). As NPAg apresentam ação contra uma ampla faixa de microrganismos como bactérias Gram-positivas/negativas, tais como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, e fungos que causam infecções de *Ringworm* (micose de pele) e *Candida albicans*, além de vírus (GOGOI *et al.*, 2006; KIM *et al.*, 2007; LOK *et al.*, 2007; MAPARA *et al.*, 2015; RAHISUDDIN AL-THABAITI; KHAN; MANZOOR, 2015).

O efeito bactericida dos íons prata foi quantificado pela primeira vez pelo cientista suíço Karl Wihelm Von Naegelis, em 1983 contra células eucarióticas e procarióticas de algas (DAMM, NEUMANN, MUSTEDT, 2006; SONAI, 2008).

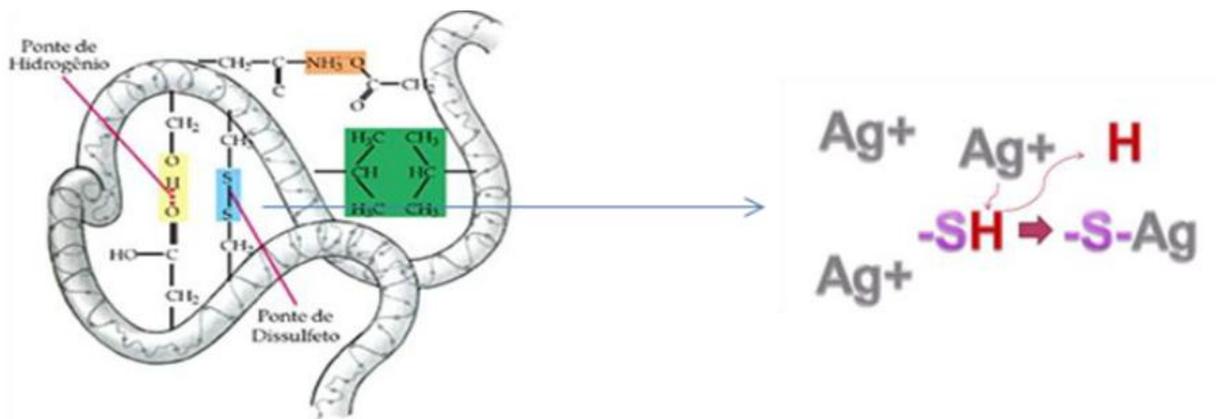
O mecanismo exato pelo qual a NPAg promove este efeito antimicrobiano ainda não está claramente elucidado, entretanto, existem várias teorias sobre sua ação biocida em bactérias (MARAMBIO-JONES; HOEK, 2010). O efeito mais pronunciado das NPAg está na atividade metabólica celular e na membrana, causando dano às células e potencialmente resultando em uma série de efeitos secundários, como a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que se movimentam para dentro da célula, ocasionando danos ao DNA (, EMAMIFAR *et al.*, 2011a; HWANG *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2011).

Em um estudo realizado por Prabhu e Poulouse (2012) foi demonstrado que as NPAg têm a capacidade de se ancorar à parede celular bacteriana e subsequentemente penetrá-la, causando mudanças estruturais na membrana celular e posteriormente promovendo a morte celular. Outra via da morte celular, proposta por Sondi e Salopek-Sondi (2004), ocorre devido a formação de poros irregulares na membrana celular, aumentando a sua permeabilidade e ocasionando a liberação de moléculas de lipopolissacarídeo e proteínas da membrana. Segundo o mecanismo proposto por Marones e colaboradores (2005), a ligação da NPAg

sobre a superfície da membrana, além de interferir na permeabilidade da mesma, promove também interferência no processo de respiração celular pois, inibe as enzimas da cadeia respiratória.

Estudos revelaram que a liberação dos íons de prata monovalente ( $\text{Ag}^+$ ) presentes na superfície das NP reagem com os grupos  $-\text{SH}$  (designado por grupo tiol, grupo mercaptano ou grupo sulfidril) presentes nas proteínas. Os íons monovalentes de  $\text{Ag}^+$  substituem o cátion  $\text{H}^+$  do grupo sulfidril. A reação da  $\text{Ag}^+$  com o grupo  $-\text{SH}$ , produz o grupo  $(-\text{SAg})$ , conforme mostra a Figura 11, inativando a proteína e, assim, diminuindo a permeabilidade da membrana, que pode causar eventualmente a morte celular (FENG *et al.*, 2000).

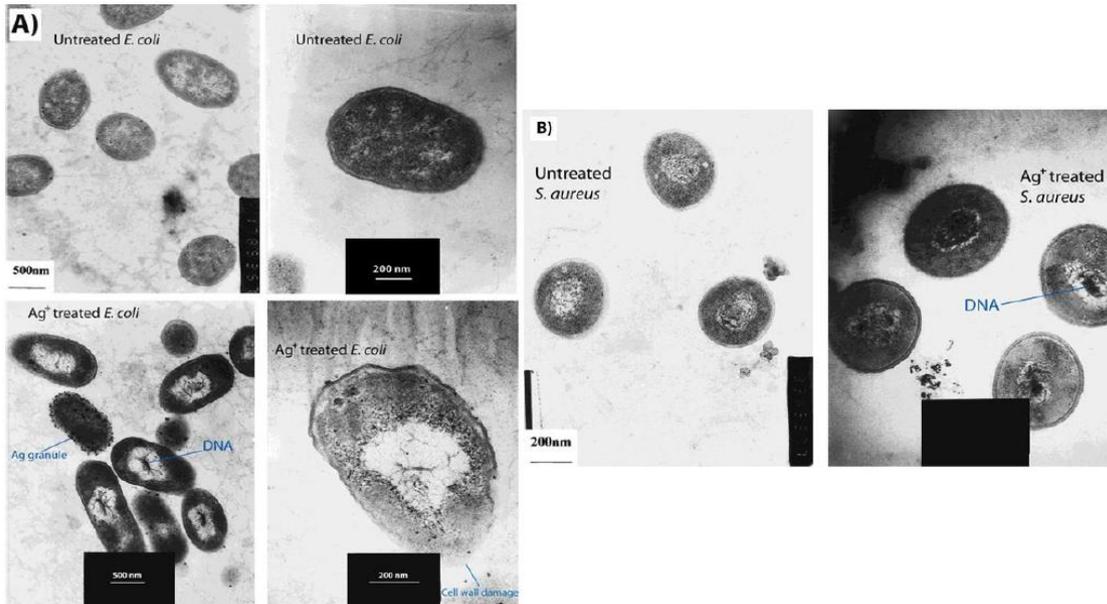
Figura 11 - Representação da ligação dissulfeto na molécula da proteína, e a quebra dessa ligação pelos íons de prata



Fonte: RODRIGUES, 2011.

Na Figura 12 é possível observar por meio de microscopia eletrônica de transmissão (MET), células de *E. coli* (A) e *S. aureus* (B) com NP localizadas em torno da membrana e incorporadas no interior da célula. O tratamento resultou em condensação do DNA, danos à parede celular e formação de grânulos (FENG *et al.*, 2000).

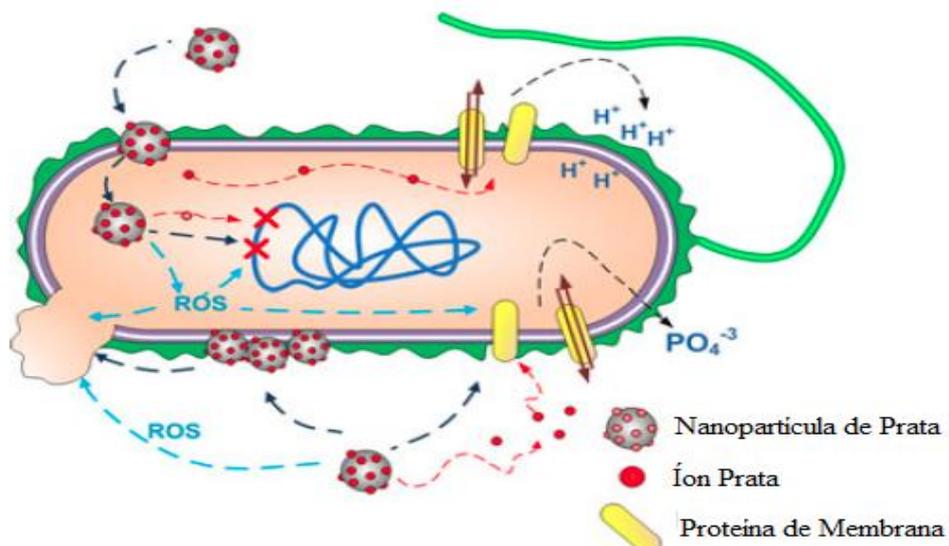
Figura 12 - Interação dos íons  $Ag^+$  em bactérias Gram positivas e negativas



Fonte: FENG *et al.*, 2000.

A formação de radicais livres pela NP $Ag$  também pode ser considerada para explicar a morte celular. Resultados de espectroscopia de ressonância de spin eletrônico sugerem a formação de radicais livres pela NP $Ag$  quando eles estão em contato com a bactéria. Esses radicais podem danificar a membrana celular e torná-la porosa, levando a morte celular. As várias interações observadas e hipotetizadas entre NP $Ag$  e células de bactérias são conceitualmente ilustrado na Figura 13 (DANILCAUK *et al.*, 2009; KIM *et al.*, 2007; PRABHU; POULOSE, 2012).

Figura 13 - Mecanismos de interação entre nanopartículas de prata e as células de bactérias



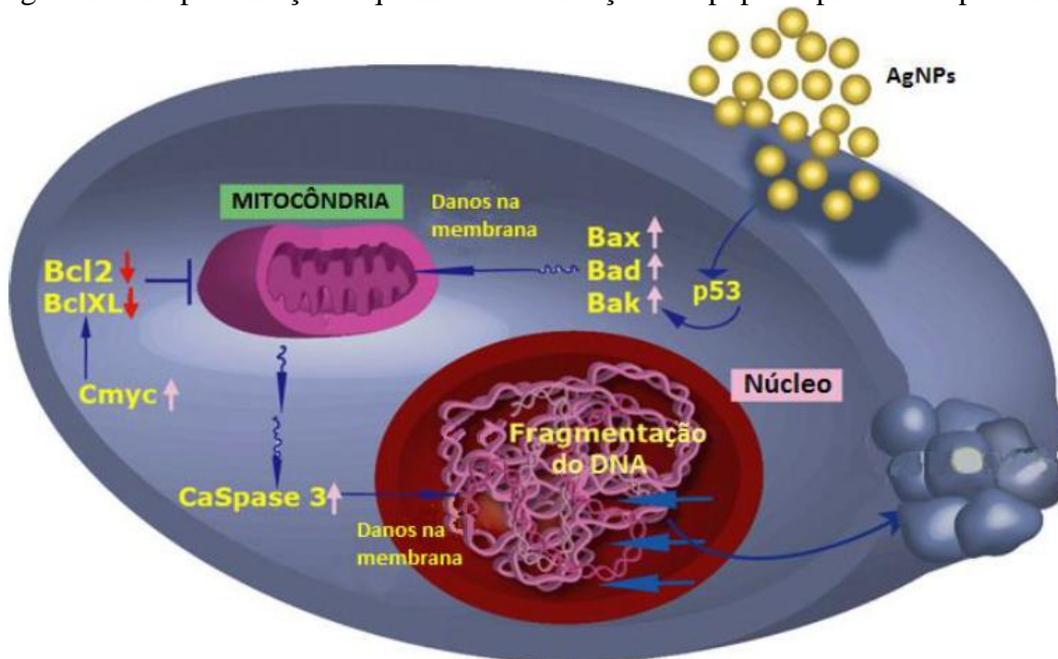
Fonte: Adaptado de MARAMBIO-JONES; HOEK, 2010.

A capacidade da NPAg de induzir dano celular, em comparação com os íons de prata ( $\text{Ag}^+$ ) é tamanho-dependente (MARAMBIO-JONES; HOEK, 2010). Quanto menor o tamanho NP, maior será sua área superficial que entrará em contato com os microrganismos, o que promoverá uma interação mais efetiva e uma maior atividade biocida, pois, desta forma as NP impregnam-se no interior das células mais facilmente (LU *et al.*, 2013; PANACEK *et al.*, 2006).

O mecanismo pelo qual as NPAg funcionam como biocida contra alguns vírus é semelhante ao processo observado em bactérias, podendo ser pela interação com proteínas presentes na superfície do vírus ou através da interação com o genoma viral (DNA ou RNA). (GALDIERO *et al.*, 2011).

Esse mesmo mecanismo que provoca a morte da célula bacteriana, também age nas células de mamíferos provocando a morte celular por apoptose ou por necrose (KIM *et al.*, 2012). A indução de apoptose pelas NPAg ocorre via ativação das caspases (ARORA *et al.*, 2009; GOPINATH, 2010). Segundo Gopinath (2010), as NPAg se ligam à membrana celular e promovem danos na sua integridade e ativam a proteína p53, que na sequência ativa mediadores pró-apoptóticos como Bax, Bad e Bak. Estas proteínas são conhecidas por causar danos na membrana mitocondrial libertando citocromo c, que numa reação em cascata, ativa a caspase-3. Finalmente, a caspase-3 cliva a membrana nuclear para induzir a fragmentação do DNA. Uma representação esquemática do ciclo apoptótico envolvido na morte das células tratadas com NPAg é demonstrada na Figura 14.

Figura 14 - Representação esquemática da indução de apoptose provocada pelas NPAg

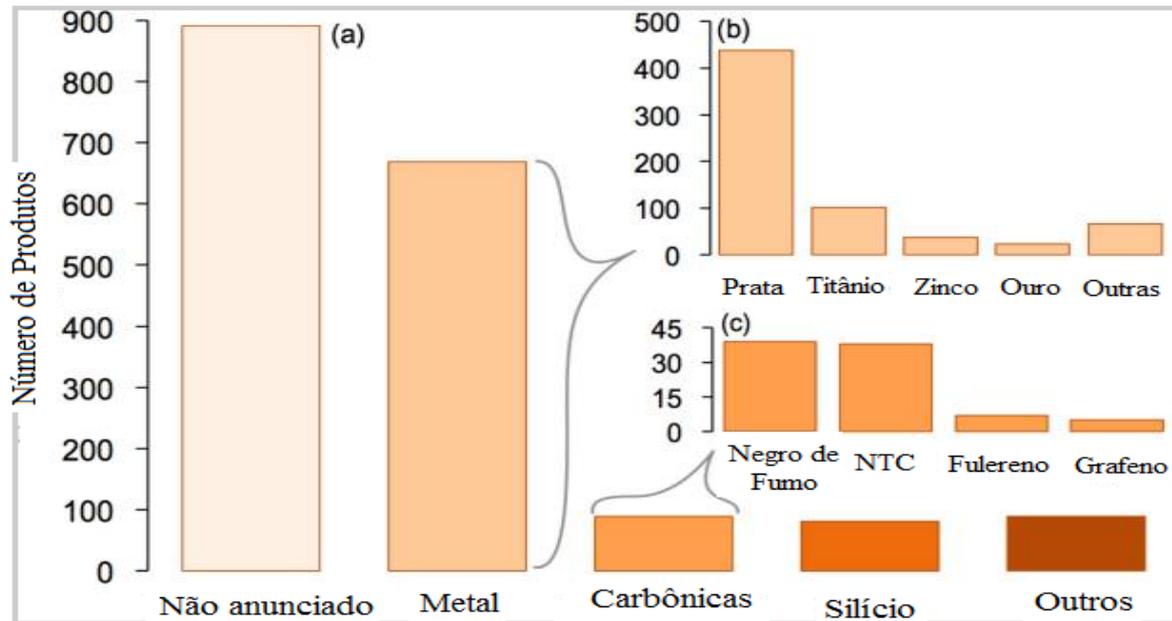


Fonte: Adaptado de GOPINATH, 2010.

Características das NP, tais como o tamanho, forma, superfície química, cristalinidade e estabilidade interferem na atividade biocida e na toxicidade para as células (MARAMBIO-JONES; HOEK, 2010; MORONES *et al.*, 2005). Em relação à forma, NP, que possuem plano cristalino, como por exemplo, NP triangulares, decaédricas e icosaédricas, possuem maior atividade biocida devido às suas estruturas geométricas, já que estas contêm maior número de átomos de alta densidade do que de outras formas (MORONES *et al.*, 2005; VAN DONG *et al.*, 2012).

Devido a esse potencial antimicrobiano estabelecido contra múltiplas linhagens comensais e patogênicas de microorganismos, as NPAg estão entre as NP mais exploradas, (KUMAR; MUNSTEDT, 2005; VANCE *et al.*, 2015). Segundo o inventário de Produtos de Consumo de Nanotecnologia (PCN) criado pelo *Woodrow Wilson International Center for Scholars* e pelo *Project on Emerging Nanotechnologies* em 2015, dos 1.814 produtos de consumo que apresentavam NP em sua composição, 435 (24%) eram de NPAg (Figura 15) (VANCE *et al.*, 2015). Devido a este progresso exponencial na utilização da NPAg estima-se que a produção de NPAg deverá atingir aproximadamente 800 t em 2025 (PULIT-PROCIAK; BANACH, 2016).

Figura 15 - Número de produtos listados no Inventário de Produtos de Consumo de Nanotecnologia que possuem NP em sua composição, agrupados em cinco categorias principais



NTC = Nanotubos de carbono

Fonte: Adaptado de VANCE *et al.*, 2015.

Além da potente atividade bactericida, antifúngica e antiviral, outras vantagens de se utilizar a NPAg são a facilidade de obtenção e baixo custo (LOK *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2008). Vance *et al* (2015) mostraram que as NPAg têm maior valor de *marketing* do que outras NP e sua presença em produtos de consumo é mais amplamente divulgada. Dessa forma, este material, vem sendo também incorporado em diferentes produtos comerciais na área médico-hospitalar, em próteses ósseas, instrumentos cirúrgicos, com aplicação no revestimento de cateteres e curativos; na área odontológica, em materiais de restauração dentária, cimentos dentários, implantes e soluções inibidoras de cáries; na área têxtil, na confecção de sapatos e tênis; na área industrial, na fabricação de máquinas de lavar roupas e aparelhos de ar condicionado; na produção de materiais de higiene, como creme dental, sabonete e desodorante, além de ser utilizado nas embalagens e recipientes para armazenamento de alimentos (GARCIA-CONTRERAS *et al.*, 2011; NOGUEIRA, 2013; PASCHOALINO *et al.*, 2010).

Nas embalagens para acondicionamento de alimentos, as NPAg têm sido utilizadas, devido a este efeito bactericida, o que aumentaria o prazo de validade dos produtos acondicionados por essa embalagem, em função do retardamento da sua deterioração pelo

controle da proliferação de microrganismos (CHAUDHRY *et al.*, 2010; LKHAGVAJAV *et al.*, 2011). O uso da Ag em embalagens de alimentos na escala nano não é proibido na maioria dos países, incluindo, por exemplo, os Estados Unidos. No entanto, um agente que contenha NPAg deve ter o registro obrigatório neste país (VON GOETZ *et al.*, 2013).

Na Europa a utilização de NP em embalagens que estarão em contato com alimentos, deve ser precedida da avaliação pela *European Food Safety Agency* (EFSA) e ser submetido à Diretiva 1333/2008 como novo aditivo, ainda que a mesma partícula na escala convencional já tenha sido aprovada (BUMBUDSANPHAROKE; KO, 2015). Em 2011 o Regulamento da União Europeia EU/10/2011, que trata dos materiais e objetos de matéria plástica destinados a entrar em contato com os alimentos estabeleceu que substâncias em nanofornas, como aditivos em embalagens, somente podem ser utilizadas, caso estejam relacionadas no Anexo I deste regulamento (artigo 9º) e mesmo que estivessem atrás de uma barreira funcional, para que possam ser utilizadas devem apresentar um processo de avaliação do risco, estabelecido caso-a-caso. Atualmente, como a prata (Ag) não está incluída na lista de substâncias autorizadas, a comercialização de embalagens ativas contendo Ag ou NPAg intencionalmente adicionadas, não é permitido pela União Europeia (EUROPEAN COMMISSION, 2011d).

Vale ressaltar que, de acordo com o Regulamento EU/1010/2011, apenas NP de nitreto de titânio (TiN) (Substância MCA nº 807) são permitidas em materiais que estarão em contato com os alimentos, com as seguintes restrições: ausência de migração de TiN; ser utilizado unicamente em tereftalato de polietileno (PET) até 20 mg kg<sup>-1</sup>; e os aglomerados em PET devem ter um diâmetro de 100-500 nm consistindo de NP primárias de TiN com um diâmetro de aproximadamente 20 nm (EUROPEAN COMMISSION, 2011d).

Em 2011, a EFSA publicou um documento de orientação "Orientação sobre a avaliação de risco da aplicação de nanociências e nanotecnologias na cadeia alimentar" (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2011), que indicou a informação físico-química necessária aos fabricantes, além de solicitar a execução de testes de genotoxicidade, absorção, distribuição, metabolismo e excreção *in vitro* (ADME), além de um estudo de toxicidade oral de 90 dias de dose repetida

Da mesma forma, nos Estados Unidos o *Food and Drug Administration* (USFDA) recomenda aos fabricantes de ingredientes alimentares e substâncias de contato com alimentos determinar o perfil toxicológico para cada recipiente com NP (ESTADOS UNIDOS, 2014). A EPA proibiu a venda de recipientes de alimentos plásticos com NPAg produzidos por uma empresa americana porque seus produtos não foram testados de acordo com os regulamentos da USFDA (CARBONE *et al.*, 2014). No momento, o Canadá não tem regulamentação sobre

NM e em muitos outros países apenas são introduzidos regulamentos incompletos de segurança alimentar (BEREKAA, 2015).

No Brasil, assim como em outros países, não há legislações específicas para a nanotecnologia aplicada a embalagens de alimentos, onde, na maioria dos casos, utilizam-se legislações já vigentes de migração, de maneira geral, de compostos presentes em embalagens plásticas, que é a RDC nº 51, de 26 de novembro de 2010 (ALMEIDA *et al.*, 2015, BRASIL, 2010b).

Apesar das vantagens da incorporação de NPAg nas embalagens, o seu uso crescente têm sido alvo de grande preocupação no que se refere as questões ambientais e possíveis efeitos sobre a saúde (SONG *et al.*, 2011), pois, o risco associado à exposição a esta NP ainda é desconhecido uma vez que, apesar da toxicologia da prata e seus compostos tenha sido estudada, existem várias lacunas de conhecimento sobre o risco causado pela prata na forma de NP, tanto para os seres humanos quanto para o meio ambiente (MACKEVICA; OLSSON; HANSEN, 2016; WIJNHOVEN, 2009).

O principal risco relativo à exposição humana a NP, a partir de embalagens, pode ser devido à migração potencial destas NP para alimentos e bebidas, sendo esta a principal rota de entrada destas partículas no intestino, e com avanço da utilização dessa nanotecnologia este risco tem se tornado cada vez mais crescente (ALMEIDA, 2015; ECHEGOYEN; NERÍN, 2013; SONG *et al.*, 2011).

Em estudo no qual avaliou-se a determinação da migração de minerais (Fe, Mg, Si) a partir de filmes biodegradáveis de amido/nanoargila, verificou-se que havia transferência insignificante nos níveis de Fe e Mg em vegetais embalados com filmes biodegradáveis, mas um aumento consistente na quantidade de Si, o principal componente da nanoargila (AVELLA *et al.*, 2005).

### **1.11 Migração das nanopartículas**

Uma grande incógnita no uso de embalagens contendo NPAg está associada aos riscos de migração desta NP para o alimento, o que estimulou na última década, a realização de diversos estudos (ECHEGOYEN; NERÍN, 2013; CUSHEN *et al.*, 2013, 2014a, 2014b, GALLOCCHIO *et al.*, 2016; SONG *et al.*, 2011; VON GOETZ *et al.*, 2013).

Com a avaliação dos dados obtidos nestes estudos experimentais de migração da NPAg incorporadas ao polímero (nanocompósitos poliméricos, NCP), juntamente com a identificação de todos os mecanismos potenciais pelos quais as NP poderiam ser liberados, a

partir do NCP, será possível construir um sistema abrangente de conhecimento relacionado à liberação da NP como fenômeno generalizado que apoia uma avaliação de risco completa e confiável, e assim construir uma estrutura preditiva que possa ser usada para prever a quantidade e a forma do NCP que será liberado no meio externo em qualquer situação (NOONAN *et al.*, 2014).

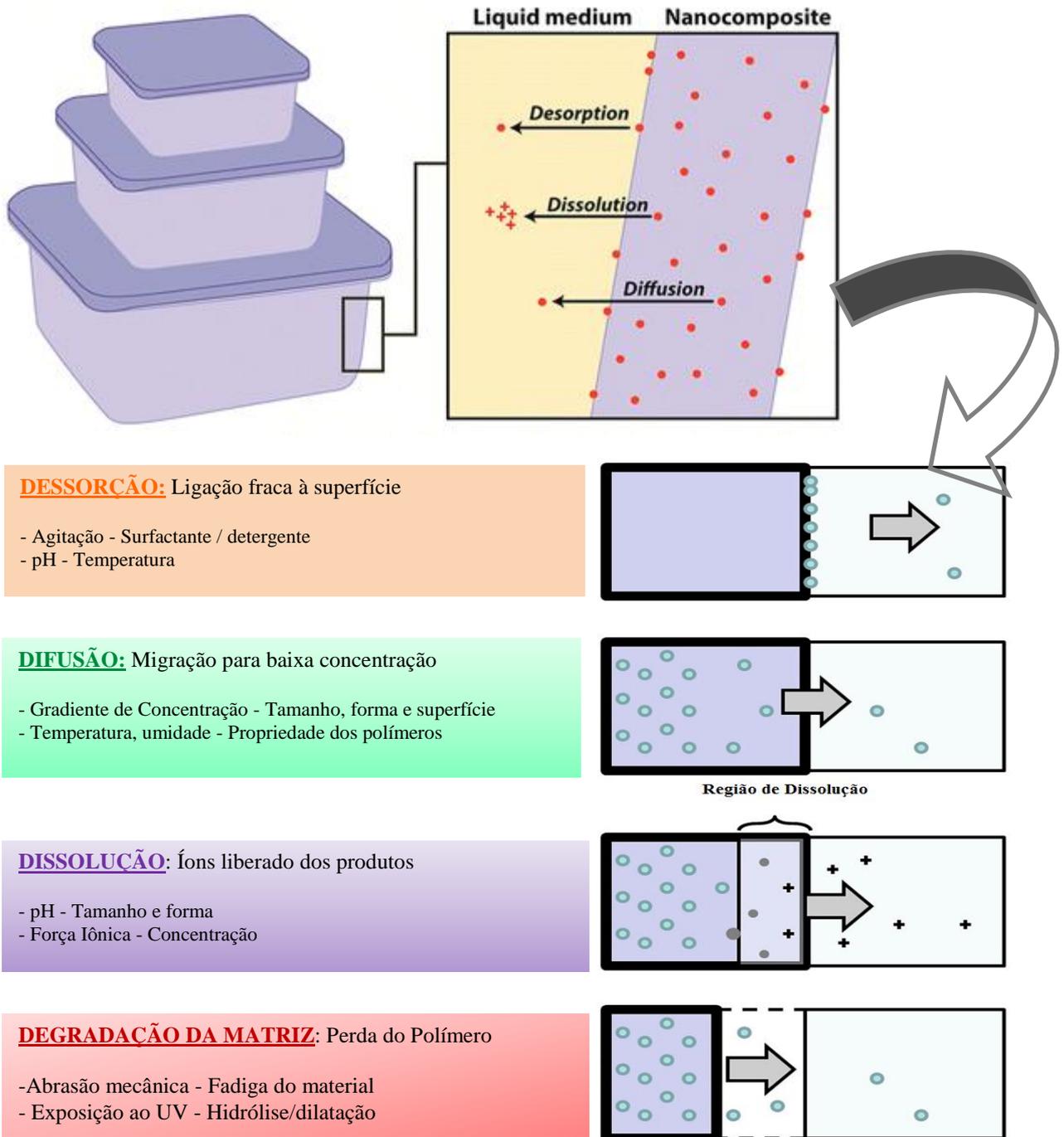
A liberação das NP durante o ciclo de vida de qualquer material NCP pode ocorrer por 4 fenômenos “D”: desorção, difusão, dissolução e degradação da matriz (Figura 16). As principais distinções entre esses fenômenos dizem respeito ao local onde a NCP está localizada, até que ponto ela interage com o meio, a sua capacidade de migrar através do material da matriz hospedeira, e se a partícula permanece na forma de nanopartícula ou é transformada em íons (DUNCAN; PILLAI, 2015).

A desorção é um fenômeno que ocorre na superfície do material, portanto, as NP presentes na região interfacial entre o nanocompósito e o meio externo tendem a se deslocar para o meio, devido a estímulos externos que provavelmente afetariam as ligações eletrostáticas do polímero com a NP, tais como: pH, força iônica, temperatura, velocidade do fluido, abrasão física e vibração (NOONAN *et al.*, 2014).

É importante salientar que na desorção, diferentemente do mecanismo de difusão descrito no próximo parágrafo, a mobilidade da NP dentro da matriz não é um fator limitante para a liberação, portanto, a morfologia e o tamanho das partículas podem não ser considerações importantes para o mecanismo de desorção.

O fenômeno da difusão se caracteriza pela migração da NP, dispersas por toda a matriz polimérica, de regiões de maior concentração para a de menor concentração, obedecendo, portanto, um gradiente de concentração (NOONAN *et al.*, 2014). Este processo também é influenciado pelas propriedades da matriz (por exemplo, densidade, polaridade e aditivos) e condições ambientais (por exemplo, pressão e temperatura) (NOONAN *et al.*, 2014, DUNCAN; PILLAI, 2015).

Figura 16 - Possíveis mecanismos de liberação das nanopartículas



Fonte: Adaptado de DUNCAN; PILLAI, 2015.

Segundo Duncan e Pillai (2015), o mecanismo de difusão é a principal forma de migração da NP presente na matriz. Neste processo, as NP inicialmente localizadas no interior da matriz polimérica tendem a migrar para a região interfacial antes de serem liberados para o meio externo, podendo ser liberadas intactas, com possíveis alterações na sua forma, composição ou características da superfície. Compreender a tendência das NP de serem liberadas da matriz polimérica é desejável porque as propriedades químicas e físicas únicas

associadas à nanoescala podem levar a desfechos toxicológicos ou ambientais que podem ser significativamente diferentes daqueles da macroescala ou materiais dissolvidos com a mesma composição elementar (NOONAN *et al.*, 2014).

A dissolução através de uma matriz polimérica é outro fenômeno que ocorre na superfície do material e envolve a transformação de uma NP da sua forma física particulada ativa em seus constituintes iônicos. Atualmente, há um debate sobre se as nanopartículas que migram para a superfície são dissolvidas em seus constituintes iônicos ou se os íons são desorvidos das superfícies do polímero enquanto as NP ainda estão dispersas pela matriz do nanocompósito. Entretanto, esta questão não tem sido respondida com métodos de análise elementar como, por exemplo, espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) necessitando, portanto, de métodos de detecção e quantificação mais específicos (DUNCAN; PILLAI, 2015).

Estudos mostraram que a dissolução é um contribuinte significativo para o destino das NPAg e óxido de zinco (ZnO) no ambiente. Dados disponíveis demonstram que, o pH da água, o potencial redox, a força iônica, o material particulado, a temperatura e o nível de oxigênio dissolvido também influenciam nas taxas de dissolução (LIU; HURT, 2010; SCHECKEL *et al.*, 2010).

No fenômeno de migração devido a degradação da matriz, a liberação da NP ocorre devido a perda da integridade da própria matriz por processos mecânicos ou químicos. Essa decomposição pode ser causada por estímulos externos, como abrasão física, aquecimento, exposição aos raios UV e hidrólise. A hidrólise pode alterar as propriedades do polímero, permitindo a liberação da NP. Este aspecto da degradação da matriz pode ser particularmente aplicável a alimentos, no caso dos polímeros em contato com os alimentos serem sensíveis à água ou ao ácido. Muitos alimentos contêm água, a qual pode influenciar nas propriedades do polímero da embalagem durante longos períodos de exposição (NOONAN *et al.*, 2014).

É importante ressaltar que esses mecanismos de migração apresentados não estão isolados em si, podendo existir inter-relações entre eles. Sendo assim, difusão pode não ser capaz de prosseguir sem desorção e a dissolução e a difusão estão interligadas porque as partículas que se dissolvem (parcial ou totalmente) ainda precisam se difundir através do meio hospedeiro para se tornarem livres (NOONAN *et al.*, 2014).

## 1.12 Regulação de nanotecnologia em embalagens para alimentos

Nanotecnologia aplicada a materiais de embalagem de alimentos é a maior categoria de aplicações de nanotecnologia atualmente relacionadas ao setor de alimentos (ECHEGOYEN; NERÍN, 2013). Apesar de já existirem muitos produtos nanotecnológicos no mercado, nem todos os países possuem uma regulação específica para esses produtos (BATISTA; PEPE, 2014). Considerando que as NPAg estão entre as NP mais utilizadas na indústria, e que estima-se que a produção desta NP atinja aproximadamente 800 t até 2025, fica claro que a atividade de regulamentação dos NM é indispensável e imprescindível, no sentido de assegurar à sociedade que as atividades industriais possam estar de acordo com um marco regulatório seguro e sustentável (VANCE *et al.*, 2015). Com isso, atividades de normalização e regulamentação das nanotecnologias ganham destaque no cenário internacional.

Em 2006, a OECD instituiu um grupo de trabalho em parceria com a ISO e *Internacional Electrotechnical Commission* (IEC) com o fim de auxiliar os países membros a se manifestarem sobre a segurança dos NM para a saúde humana e do meio ambiente, com ênfase em métodos de avaliação de riscos e ensaios (BRASIL, 2010a).

Na França, para regulamentar os dispositivos do Código Ambiental francês, publicou-se o Decreto nº 2012-232, de 17 de fevereiro de 2012, que prevê declaração anual de “substâncias no estado de nanopartículas”. Esse código ambiental foi criado com a finalidade de controlar informações específicas sobre nanoprodutos que estabelece, através dos artigos L523-1 a L-523-3 a obrigação de declarar as quantidades e os usos de nanopartículas, produzidas, distribuídas ou importadas na França (ENGELMANN; ALDROVANDI; BERGER FILHO, 2013).

Na Bélgica, desde primeiro de janeiro de 2016 os NM sujeitos a requisitos de declaração e que estejam no mercado sendo comercializados até essa data, devem ser registrados. Depois dessa data, todos os NM antes de serem colocados no mercado também devem ser registrados (BERGESON, 2014).

A regulação de produtos nanotecnológicos na UE, ocorre de forma semelhante pela EMA. Esta agência europeia publicou vários documentos visando à padronização dos conceitos e orientação as indústrias e pesquisadores sobre o trabalhado consciente com a nanotecnologia (EUROPEAN UNION, 2012). Dessa forma, a UE tem se mostrado bastante proativa no desenvolvimento de uma estratégia e incentivando a nanotecnologia

(DAMASCENO *et al.*, 2013), inclusive, alguns grupos se organizaram para pesquisar sobre os riscos da nanotecnologia e as formas de avaliá-los (EUROPEAN UNION, 2012).

Na UE, os materiais nanotecnológicos são regulados pelo *Regulation on Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals* (REACH), pois estes são considerados semelhantes às substâncias químicas, podendo alguns serem tóxicos e outros não, estando os seus riscos relacionados com o tipo de nanomaterial e sua aplicação (EUROPEAN COMMISSION, 2006, FOLADORI; INVERNIZZI, 2016). De acordo com o REACH, os fabricantes são obrigados a produzir e analisar os dados sobre os produtos químicos, avaliar a segurança na sua utilização e a fornecer aos reguladores essa informação através de relatórios. Por outro lado, os reguladores podem solicitar ensaios e informações adicionais, mas também poderão restringir a utilização de substâncias químicas que são consideradas de alta preocupação (EUROPEAN COMMISSION, 2008).

As substâncias químicas comercializadas, incluindo NM, segundo o regulamento *CLP-Regulation (classification, labelling and packaging)* devem ser notificadas à *European Chemicals Agency* (ECHA) de acordo com classificação referente ao perigo (EUROPEAN COMMISSION, 2006).

Sem a pretensão de esgotar o assunto, além do REACH, existem outros Regulamentos, Diretivas, Recomendações e Orientações que visam a orientar os consumidores, indústrias e outros grupos sobre as nanotecnologias. Como exemplos podemos citar o regulamento relativo à informação alimentar para os consumidores da União Europeia Regulamento (EU) n°1169/2011 aprovado 25 de outubro de 2011, que regulamenta a exigência de rotulagem dos ingredientes na forma de NM em alimentos. Com isso, segundo este regulamento “os ingredientes contidos sob a forma de NMS artificiais devem ser claramente indicados na lista de ingredientes e a palavra ‘nano’ entre parênteses deve figurar a seguir aos nomes destes ingredientes” (EUROPEAN COMMISSION, 2011e).

Nos EUA, o FDA criou em 2006, um Grupo de Trabalho a fim de identificar formas de avaliar os riscos e os benefícios potenciais dos produtos nanotecnológicos que são regulamentados por esta agência (ECHEGOYEN; NERÍN, 2013) e elaborou normas para orientar a indústria, dentre elas a fabricante de embalagens para alimentos, em relação ao uso da nanotecnologia ou NM (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014).

Nos EUA, outra entidade federal também comprometida com a regulamentação da nanotecnologia é a EPA que foca a sua pesquisa na área dos NM, com a finalidade de identificar as fontes, o destino, o transporte, a exposição, compreender os efeitos ao meio ambiente e à saúde humana, de modo a informar os riscos e os métodos de ensaio e

desenvolver abordagens de avaliação, prevenção e mitigação dos riscos (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2009).

Os EUA, apesar de contarem com um sistema de regulamentação não centralizado, criaram uma estratégia coordenada, por meio da criação da NNI, com o objetivo de obter dados e orquestrar abordagens políticas para garantir a segurança e a eficácia dos produtos nanotecnológicos (DAMASCENO *et al.*, 2013; BATISTA; PEPE, 2014; FOLADORI; INVERNIZZI, 2016).

Semelhante ao que ocorre na Europa e nos Estados Unidos, no Brasil, não existem leis e regulamentos específicos para os NM, ou seja, com capacidade de prevenir e avaliar o efeito dos avanços dos produtos que apresentam nanotecnologia. As leis que normalmente são utilizadas para autorizar a comercialização de um determinado produto nanotecnológico são as mesmas aplicadas aos demais produtos (DAMASCENO *et al.*, 2013), portanto, não levam em consideração que quando as dimensões de um material são extremamente reduzidas em escala nanométrica (aproximando-se do nível atômico ou molecular), algumas de suas propriedades físicas, químicas e biológicas também podem modificar drasticamente, o que pode afetar as interações dessas partículas com sistemas biológicos e conseqüentemente podemos supor que os efeitos na saúde e os efeitos tóxicos desses materiais também podem ser afetados de forma drástica na escala manométrica (DELGADO; PAUMGARTTEN, 2013).

A Anvisa tem a competência de regular a produção e circulação de bens de âmbito sanitário e, definidas pela Lei nº 9.782/1999, inclusive, monitorar os eventos adversos (e riscos) dos recursos tecnológicos, produtos e serviços utilizados pelo sistema de saúde. Contudo, no campo da Nanotecnologia, informações insuficientes ou incertas têm levado a agência a adotar uma regulação baseada no princípio da precaução, avaliando o possível risco/benefício dos produtos nanotecnológicos que entrarão no mercado, permitindo que produtos com um risco aceitável entrem e tenham seus benefícios aproveitados (BATISTA; PEPE, 2014; BRASIL, 1999a; DAMASCENO *et al.*, 2013).

Paradoxalmente, na tentativa de estipular regras mais claras sobre o ciclo de vida dos NM, tais como, pesquisa, industrialização, consumo e descarte, foram apresentados na Câmara dos Deputados e no Senado Federal quatro projetos de lei visando a regulamentação das nanotecnologias para a proteção do consumidor e do meio ambiente. Foram eles: o Projeto de Lei (PL) nº 5.076/2005 proposto pelo deputado Edson Duarte, que visava à criação de dispositivos legais sobre a Política Nacional de Nanotecnologia, criando instrumentos e incentivo à pesquisa e o desenvolvimento tecnológico e o controle, pelo Poder Público dos

riscos e impactos decorrentes de tais atividades. Este PL foi arquivado em janeiro de 2007, devido à aprovação unânime do parecer do relator Léo Alcântara pela Comissão de Desenvolvimento Econômico, Indústria e Comércio da Câmara dos Deputados, sob o argumento de que a proposição introduziria restrições ao desenvolvimento da nanotecnologia, cujos processos e produtos ainda pouco se conheciam, através de um rígido monitoramento de pesquisa, produção e comercialização dos produtos, o que ampliaria a incerteza dos investidores, inibindo o fluxo de investimentos nessa atividade (BRASIL, 2005b).

O segundo foi o PL do Senado nº 131/2010, arquivado em agosto de 2013, que visava alterar o Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969 que institui normas sobre alimentos, e a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976 que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes, buscando privilegiar o acesso à informação em relação aos nanoprodutos disponíveis no mercado de consumo, conferindo maior proteção aos consumidores, pois determinava que que rótulos, bulas, embalagens, etiquetas, prospectos e materiais publicitários referentes a produtos de âmbito sanitário, elaborados utilizando recursos da nanotecnologia, apresentassem a informação de maneira ostensiva sobre esse fato (BRASIL, 2010b). Este PL foi rejeitado após a análise da Comissão de Assuntos Sociais e à análise da Comissão de Meio Ambiente, Defesa do Consumidor, Controle e Fiscalização, onde ambas as comissões se manifestaram contrárias a este projeto considerando o mesmo como uma proposta de intervenção legal desnecessária sobre a produção de alimentos e demais produtos referidos. Os parlamentares de ambas as comissões consideraram também que a possibilidade de informação quanto ao emprego de nanotecnologia poderia causar confusão e alarmes desnecessários ao consumidor, e prejuízos econômicos às empresas. Além disso, os relatores dessas comissões compreenderam que tal condição não deveria constar em uma lei ordinária, pois a Anvisa possui competência para regular a matéria, através de norma infralegal (BRASIL, 2010b; ENGELMANN; ALDROVANDI; BERGER FILHO, 2013).

O terceiro PL é o de nº 5.133/2013 de autoria de Sarney Filho, encontra-se em tramitação na Câmara dos Deputados e dispõe sobre rotulagem de produtos (cosméticos, fármacos e alimentos) que sejam obtidos por processos nanotecnológicos, ou que contenham NP em sua composição, ou que sejam produzidos a partir de processo de nanotecnologia, ou alimentos ou ingredientes produzidos com animais que receberam ração com nanoprodutos, com base no direito de acesso à informação, previsto no artigo 6º do Código de Defesa do Consumidor (BRASIL, 1990b, 2013a).

Por último, o quarto PL nº 6.741/2013, também de autoria do Deputado Federal Sarney Filho, e que também se encontra em fase de tramitação na Câmara dos Deputados, dispõe sobre a Política Nacional de Nanotecnologia, observados os princípios da informação, transparência, participação social, precaução, prevenção e responsabilidade social. Este PL também busca estabelecer programas de monitoramento específicos para processos e produtos nanotecnológicos, quando o poder público entender que estes possam causar danos ao meio ambiente ou à saúde humana ou animal. Além disso, este PL propõe a possibilidade de indeferimento, suspensão e registro do processo ou produto da nanotecnologia, ou que contenha matéria-prima nanotecnológica (BRASIL, 2013b).

Contudo, é importante salientar que existe um descompasso entre os avanços das tecnologias no cenário de tempos pós-modernos e o marco regulatório existente na área de nanotecnologias, fazendo-se necessário uma adequada regulamentação no uso de NP, de modo a privilegiar a criação e aplicação de normas jurídicas estatais “oficiais” visando à proteção à saúde dos consumidores, assim como ao meio ambiente, diante dos riscos e das incertezas, na medida em que o uso das nanotecnologias avancem. Sendo este um grande desafio para o sistema político nacional e internacional (ENGELMANN; ALDROVANDI; BERGER FILHO, 2013).

### **1.13 Justificativa**

Nos primórdios da civilização humana as embalagens não existiam e o homem consumia seus alimentos no local de sua origem. A necessidade do uso de embalagens começou a surgir à medida que a vida humana se tornou mais complexa, surgindo à necessidade de transporte e armazenamento dos alimentos (GERMANO; GERMANO, 2001).

Atualmente, devido a fatores mercadológicos, as embalagens não são utilizadas somente como meio de transporte e armazenamento, mas também visam à proteção e estabilidade dos alimentos (ASSIS *et al.*, 2012), o que suscitou o desenvolvimento de diversas tecnologias, dentre elas as NP (ASSIS *et al.*, 2012). As NP podem ser utilizadas para produzir embalagens com melhor desempenho mecânico e térmico, melhores propriedades de barreira e/ou antimicrobianas ou ainda, podem ser incorporados nano-sensores nas embalagens para monitorizar as condições de transporte e armazenamento dos alimentos (CHAUDHRY *et al.*, 2008, 2010; GREINER, 2009).

Entretanto, a segurança no uso dessas NP cada vez mais tem chamado a atenção, em razão do aumento de seu uso e em função da escassez de informações sobre a sua

caracterização, bioacumulação, potenciais efeitos tóxicos e principalmente sobre seu impacto a longo prazo sobre a saúde humana e ambiental (CALDERÓN-JIMÉNEZ *et al.*, 2017; VANCE *et al.*, 2015).

Em 2011, em um *workshop* internacional que abordava avaliação da segurança dos produtos nanotecnológicos, concluiu-se que ainda há muito a compreender sobre os potenciais efeitos tóxicos das NP sobre a saúde humana, mas que um bom e promissor caminho vem sendo mundialmente trilhado neste sentido (SILBERGEL, 2011).

Quanto à questão regulatória, apesar de ser atribuição da Anvisa, segundo a Lei nº 9.782/1999, normatizar, controlar e fiscalizar produtos, substâncias e serviços de interesse para a saúde (BRASIL, 1999a), no que se refere a Nanotecnologia, esta agência ainda não definiu uma legislação específica, seja para registro ou ainda para produtos finais contendo NM. Entretanto, apesar da ausência de uma regulamentação específica que pudesse nortear as ações de controle do risco, a Anvisa tem aprovado o registro de produtos nanotecnológicos, através de avaliação caso a caso (DAMASCENO *et al.*, 2013).

Esses dados demonstram a necessidade de uma análise sistemática a fim de se avaliar o risco real da exposição a nanotecnologias. Assim, a partir do embasamento científico será possível subsidiar uma adequada análise do risco, necessária para se estabelecer uma estrutura regulatória para o uso de NM, de forma a proteger a saúde da população, contribuindo para as ações de Vigilância Sanitária e de Saúde Pública.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Investigar, por meio de revisão sistemática da literatura, evidências sobre a migração das NPAg presentes nas embalagens de acondicionamento para os alimentos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Identificar a produção científica relacionada à migração NPAg presentes em embalagens de alimentos;
- Selecionar a produção científica qualificada segundo critérios para inclusão ou exclusão do estudo;
- Sintetizar os resultados das produções científicas selecionadas, segundo o objeto do estudo;
- Analisar o nível de evidência das publicações relacionadas ao potencial de migração das NPAg das embalagens de alimentos, verificando a qualidade metodológica dos estudos selecionados;
- Avaliar as metodologias, os parâmetros, pressupostos e desfechos presentes em cada estudo selecionado, observando a existência de possíveis inconsistências nos estudos selecionados.

### 3 METODOLOGIA

A construção da revisão sistemática foi orientada pelas recomendações do *Centre for Reviews Dissemination* (<http://www.york.ac.uk/inst/crd/report4.htm>) (1996) e da *Cochrane Collaboration* (2001) (<http://www.cochrane.dk/cochrane/handbook/hbook.htm>), visto as semelhanças entre eles e foi dividida em 6 etapas. A primeira etapa consistiu na formulação da questão norteadora do estudo. Na segunda etapa, foi realizada a busca dos estudos primários, que nesta tese estão relacionados a estudos de risco químico, que avaliassem o potencial de migração de NPAG presentes em embalagens de alimentos, nas principais bases de dados da literatura científica. Na terceira etapa, foram identificados e selecionados os estudos envolvendo NPAG, segundo os critérios de inclusão e exclusão propostos por este trabalho. Na quarta etapa, foi realizada a extração dos dados dos artigos selecionados com análise, descrição e avaliação dos parâmetros, pressupostos e desfechos de cada estudo selecionado. Na quinta etapa, foi realizada a avaliação da qualidade metodológica dos estudos incluídos e na sexta e última etapa foi realizada a análise estatística dos estudos selecionados. A partir dos resultados obtidos no relatório final foi possível elaborar um relatório estruturado e informativo que sintetiza as informações levantadas no presente estudo visando contribuir para análise regulatória de embalagens para alimentos contendo NPAG.

#### 3.1 Estratégias para construção da revisão sistemática

A construção da revisão sistemática foi baseada seguindo os itens abaixo.

##### 3.1.1 Desenho do estudo

O planejamento e a execução do protocolo desta revisão sistemática (SR) baseou-se principalmente nos itens do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* – PRISMA checklist (Anexo A). Para aumentar a qualidade e a transparência desta pesquisa, a metodologia deste estudo também seguiu as recomendações do PRISMA (MOHER *et al.*, 2009).

O Protocolo desta revisão sistemática foi submetido para registro no *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO) desenvolvido pelo *Centre for Reviews and Dissemination* (CRD) da *University of York*. O registro do protocolo em base de dados internacional atua como uma forma de aviso à comunidade científica que está sendo

executada uma revisão sistemática em determinado assunto, evitando, assim, a duplicação de estudos semelhantes, além de esclarecer a metodologia programada para a realização do trabalho.

### 3.1.2 Questão norteadora

Dentre as NP metálicas utilizadas atualmente, as NPAg, devido às suas características biocidas, baixo custo e facilidade de preparação, representam um dos principais sistemas para aplicações na área industrial, tal como, a indústria produtora de embalagens de alimentos. No entanto, as mesmas características que tornam as NPAg interessantes, também alertam para o potencial riscos à saúde humana (ASHARANI *et al.*, 2009; LU *et al.*, 2010; NGUYEN *et al.*, 2016) e a outros seres vivos (ASHARANI *et al.*, 2008; BRUNEAU *et al.*, 2016; MEYER *et al.*, 2010; NAVARRO *et al.*, 2008; GARCIA *et al.*, 2016; ROH *et al.*, 2009). A possível migração da NPAg da embalagem para os alimentos e os impactos desta migração para à saúde pública, assim como, a falta de evidência científica de como e quanto os seres humanos são afetados pelas NPAg, somada à inexistência de regulação sanitária nacional e internacional para produtos contendo NM, dentre eles, as de prata, motivou a questão norteadora deste trabalho.

Desta forma, demonstrada a relevância do tema, foi elaborada a hipótese norteadora da pesquisa que é definida como o primeiro passo de uma revisão sistemática (HIGGINS; GREEN, 2011; SAMPAIO; MANCINI, 2007; STILLWELL *et al.*, 2010). Para formulação dessa hipótese, foram utilizados os quatro componentes fundamentais, baseados no mnemônico PICO, adaptado para avaliação de riscos químicos, e denominado de PECO onde P = população, E = exposição, C = comparação/controle e O = resultados, sendo que no mínimo dois desses componentes – a saber, P e E – são obrigatórios para a sistematização da pergunta de pesquisa (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2010; HIGGINS; GREEN, 2011; RICHARDSON *et al.*, 1995, SANTOS, 2007; VANDENBERG, 2016).

A formulação da questão de pesquisa estruturada com o uso da estratégia PECO possibilita a fácil definição dos critérios de elegibilidade das publicações (HIGGINS; GREEN, 2011), a qual possibilitou definir a pergunta e orientar as estratégias de buscas da seguinte maneira:

P = produções científicas sobre migração da NPAg presente em embalagens de alimentos;

E = migração da NPAg em diferentes tipos de polímeros

C = nesta pesquisa, não foi utilizado este componente, por não fazer parte dos objetivos.

O = dados quantitativos relacionados à concentração da NPAg encontrada nos alimentos/simulantes.

Com base nesta estratégia, a pergunta norteadora deste trabalho foi: **“Ocorre a migração das NPAg presentes nas embalagens de acondicionamento para os alimentos?”**

### 3.1.3 Critérios de elegibilidade

Os critérios de elegibilidade (inclusão e exclusão) foram estabelecidos a partir da questão principal e orientados a partir da estratégia PECO, descrita no item 4.1.1.

#### 3.1.3.1 Critérios de inclusão

- (a) artigos publicados no formato de artigo científico, monografias, teses e dissertações;
- (b) publicação disponível na íntegra;
- (c) estudos primários (estudos de risco quím) que avaliavam o potencial de migração da NPAg da embalagem para o alimento;
- (d) artigos publicados na língua inglesa, portuguesa ou espanhola;
- (e) sem restrição de data.

#### 3.1.3.2 Critérios para exclusão dos artigos

- (a) publicações no formato de cartas ao editor, editoriais, artigos de revisão, resumos de conferências, notas prévias, trabalhos apresentados em congresso,
- (b) artigos incompletos;
- (c) artigos que não tinham como foco principal a migração da NPAg em embalagens de alimentos.

Para evitar a exclusões de artigos importantes e assim evitar vieses nos resultados desta RS, os artigos não disponíveis na íntegra só seriam excluídos, após a busca exaustiva pelo artigo completo não ter apresentado êxito.

### 3.1.4. Fontes de informação e estratégia de busca para identificação dos estudos

A segunda etapa da revisão sistemática foi a busca da evidência científica que teve início com a definição das bases de dados, assim como, dos termos ou palavras-chave, seguida das estratégias de busca e de outras fontes de informação a serem pesquisadas (SAMPAIO, MANCINI, 2007, COCHRANE HANDBOOK, 2009).

Para realizar as pesquisas quantitativas e qualitativas e identificar os estudos relevantes, foram consultadas as bases de dados eletrônicas, MEDLINE, Scopus, SciELO, BVS/LILACS e Embase, sem restrição de data, até 21 de agosto de 2017

A base Medline foi acessada gratuitamente por meio da plataforma PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). Com relação à base Scopus e Web of Science, foi utilizada a interface do Portal Capes, disponível na página do portal ([www.capes.gov.br](http://www.capes.gov.br)). A consulta a LILACS foi realizada via Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). Essas bases de dados foram selecionadas para busca em função das mesmas serem amplas e específicas para o tema em questão, com o intuito de alcançar o maior número possível de publicações existentes na área.

Para esta busca foram empregados descritores selecionados mediante consulta aos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), da BIREME e da *Medical Subject Headings Terms* (MeSH), do PUBMED e pelas palavras-chave selecionadas pelos autores, que constituíram a base da equação de busca, posteriormente adaptada para as demais bases utilizadas e que estão descritos a seguir:

- # 1. *Silver Nanoparticles*
- # 2. *Nanosilver*
- # 3. *Nanoparticles of noble metal*
- # 4. *Metallic nanoparticles*
- # 5. *Food Packaging*
- # 6. *Food Containers*
- # 7. *Food-contact plastics*
- # 8. *Migration*

Ainda, realizou-se uma busca eletrônica específica nos periódicos *Chemistry of Food, Food Supplements, and Food Contact Materials: From Production to Plate*, bem como na literatura cinzenta usando o banco de dados OpenGrey e o Google Scholar.

No segundo momento e para complementar as buscas foram consultadas as referências bibliográficas dos estudos incluídos (referência cruzada), e que podiam conter citações de artigos que atendessem aos critérios de inclusão propostos por este trabalho e que eventualmente não tivessem sido localizadas nas bases de dados. Para alguns estudos, o contato direto com autores foi feito para esclarecer algumas informações.

Os levantamentos nas bases de dados foram conduzidos utilizando-se frases construídas a partir da combinação do conjunto de palavras chaves (unitermos) com operadores booleanos AND, OR e AND NOT, para relacionar, unir ou excluir os termos da pesquisa. Utilizou-se ainda “aspas” para a integração de termos compostos e como frase exata contida no título, resumo ou palavra-chave, (parêntesis) para definir a ordem da pesquisa e separar o conjunto de termos e cifrão\$ (BVS)/asterísco\*(PUBMED) para truncar a partir do radical de uma palavra. As estratégias foram elaboradas de acordo com as especificidades de cada base de dados.

A estratégia adotada para a pesquisa nas bases de dados utilizando todas as palavras-chave e recursos de pesquisa sobre o potencial de migração de NPAg estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados

Base de Dados	Data	Estratégias de busca
Embase	21/08/2017	”Silver nanoparticles” OR “nanosilver” AND “migration”.
SCOPUS	21/08/2017	("silver nanoparticles" OR “nanosilver” OR “metallic nanoparticles” AND “food Packaging” OR “food Contain\$”) OR “food-contact plastics”AND “migration”)
Scielo	21/08/2017	("silver nanoparticles" OR “nanosilver” OR “metallic nanoparticles” AND “food Packaging” OR “food Contain\$”) OR “food-contact plastics”AND “migration”)
BVS/Lilacs	21/08/2017	tw:(“nanoparticle\$”) OR (tw:( nanosilver)) AND mh: (“Food Contain\$”) OR mh:(“food-contact plastics”) OR mh: (“Food Packaging”)) AND (tw:(migration))

Tabela 2 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados (conclusão)

Base de Dados	Data	Estratégias de busca
PUBMED	21/08/2017	<p>(((((“silver nanoparticles”[MeSH Terms]) OR silver nanoparticles[Title/Abstract]) OR “silver nanoparticles”[All Fields]) OR “nanosilver”[MeSH Terms]) OR nanosilver[Title/Abstract]) OR “nanosilver”[All Fields]) OR “metallic nanoparticles” [MeSH Terms]) OR “metallic nanoparticles” [Title/Abstract]) OR “metallic nanoparticles” [All Fields]) OR “Nanoparticles of noble metal” [MeSH Terms]) OR “Nanoparticles of noble metal” [Title/Abstract]) OR “food-contact plastics” [MeSH Terms]) OR “food-contact plastics” [Title/Abstract]) OR “food-contact plastics” [All Fields]) AND migration ([MeSH Terms] OR migration[Title/Abstract]) AND (((“Food Packaging”[MeSH Terms]) OR food Packaging[Title/Abstract]) OR “food container*”[MeSH Terms]) food Container* [Title/Abstract]) AND ((English[lang] OR Spanish[lang] OR Portuguese[lang])</p>
PUBMED	21/08/2017	<p>(((((“silver nanoparticles”[MeSH Terms]) OR silver nanoparticles[Title/Abstract]) OR “silver nanoparticles”[All Fields]) OR “nanosilver”[MeSH Terms]) OR nanosilver[Title/Abstract]) OR “nanosilver”[All Fields]) OR “metallic nanoparticles” [MeSH Terms]) OR “metallic nanoparticles” [Title/Abstract]) OR “metallic nanoparticles” [All Fields]) OR “Nanoparticles of noble metal” [MeSH Terms]) OR “Nanoparticles of noble metal” [Title/Abstract]) OR “food-contact plastics” [MeSH Terms]) OR “food-contact plastics” [Title/Abstract]) OR “food-contact plastics” [All Fields]) AND migration ([MeSH Terms] OR migration[Title/Abstract]) AND (((“Food Packaging”[MeSH Terms]) OR food Packaging[Title/Abstract]) OR “food container*”[MeSH Terms]) food Container* [Title/Abstract]) AND ((English[lang] OR Spanish[lang] OR Portuguese[lang])</p>

Fonte: Da autora, 2018.

O acesso às bases de dados foi realizado na Biblioteca do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), por meio da Rede de Bibliotecas da Fiocruz. Em

termos de periódicos, ela está integrada aos Serviços Seriado em Ciências da Saúde (SeCS) e Serviço Cooperativo de Acesso a Documentos (SCAD), ambos da Biblioteca Virtual em Saúde (Bireme), onde participa como biblioteca base (disponibilizando periódicos).

Após concluída a busca na literatura, os artigos foram enviados para a ferramenta de trabalho *EndNote*®, auxiliando para exclusão das réplicas e organização dos resumos para a fase de elegibilidade.

Todo o processo de busca dos artigos foi conduzido por dois pesquisadores independentes, um deles foi a própria autora (LOM), e o outro foi uma pesquisadora farmacêutica especialista em análise de risco (EVM).

### 3.1.5 Seleção dos estudos

A seleção foi realizada em duas fases pelos mesmos pesquisadores que realizaram a busca dos estudos (LOM e EVM) de forma separada e cega. A primeira fase envolveu a avaliação dos títulos e resumos das referências encontradas a fim de selecionarem artigos que aparentemente preenchiam os critérios de seleção para inclusão. A segunda fase envolveu a leitura de textos completos de todos os artigos potencialmente elegíveis na primeira fase. Em ambas as fases as discordâncias foram resolvidas por consenso, onde cada revisor apresentou suas motivações quanto à escolha inicial até chegar a um parecer comum.

Os estudos que não contemplaram os critérios de inclusão foram excluídos com sua devida justificativa.

Para ambas as fases foram utilizados roteiros chamados de “Teste de Relevância” que foram elaborados no formato de um questionário composto de uma lista de perguntas claras e objetivas, abrangendo questões da pesquisa estruturada e que definiram a elegibilidade ou não dos artigos e que foram respondidas de forma independente pelos dois pesquisadores (LOM e EVM) mediante a afirmação ou negação.

Para a primeira fase foi então elaborado o “Teste de Relevância I” onde foi feita uma seleção preliminar aplicado às referências bibliográficas e ao resumo dos estudos (Apêndice A). Na segunda fase foi elaborado o “Teste de Relevância II aplicado aos artigos acessados na íntegra (Apêndice B).

Para avaliar o grau de concordância entre os dois revisores utilizou-se o teste estatístico Kappa que mede o grau de concordância além do que seria esperado tão somente pelo acaso (TRONCOSO; OKANO, 2001). Seus valores variam de -1 a 1, onde o valor -1 representa discordância total, o 1 representa concordância total e o valor 0 a ausência de

concordância ou igual ao acaso. Landis e Koch (1977) agrupam os valores de Kappa nas seguintes faixas de concordância: <0 (ausente); 0 a 0-0.19 (ruim ou insignificante); 0.20-0.39 (razoável), 0.40- 0.59 (moderada); 0.60-0.79 (substancial); 0.80-1.00 (quase perfeita).

### 3.1.6. Processo de coleta de dados

Os estudos selecionados a partir do “Teste de relevância II (Apêndice B) tiveram os dados extraídos de maneira padronizada por meio do instrumento para caracterização e extração de dados (MUÑOZ *et al.*, 2002) (Apêndice C), pelos dois pesquisadores (LOM e EVM), de forma independente.

Os dados extraídos de cada trabalho e foram:

- a) Referência bibliográfica completa;
- b) Tipo de polímero da embalagem;
- c) Tipo de embalagem;
- d) Tamanho da nanopartícula caracterizada na embalagem e tamanho da nanopartícula após a migração para o alimento/simulante;
- e) Dados qualitativos dos alimentos utilizados e dados qualitativos e quantitativos dos simulantes utilizados;
- f) Condições do teste;
- g) Técnicas utilizadas para caracterização e quantificação da NP presente na embalagem e no alimento;
- h) Descrição do método utilizado (referência);
- i) Concentração inicial da NPAg na embalagem;
- j) Descrição da evidência de migração pelo estudo;
- k) Resultados quantitativos da migração da NPAg.

Este formulário foi previamente testado, pelos dois pesquisadores, em três artigos selecionados, a fim de se verificar os ajustes necessários antes de sua aplicação no restante dos estudos.

Após o término da coleta foi realizado cruzamento entre todas as informações recolhidas. Novamente, caso não houvesse consenso entre as informações coletadas pelos dois pesquisadores, o processo era discutido até chegar a um parecer comum.

### 3.1.7 Análise de risco de viés

Para avaliação da qualidade metodológica dos artigos considerados elegíveis, foi criado pelos pesquisadores deste estudo, um *checklist* singular direcionado ao estudo em questão, abordando 14 itens relacionados à técnica de incorporação da NP na embalagem, validade da metodologia de análise e caracterização aplicados a interpretação e aplicabilidade dos resultados (Apêndice D), sendo eles: 1) delineamento da pesquisa bem definido com foco na migração da NPAg; 2) descrição dos equipamentos utilizados; 3) descrição da metodologia utilizada para a avaliação do teste de migração; 4) teste de migração está baseado em algum regulamento; 5) descrição dos reagentes utilizados; 6) caracterização da NPAg na embalagem testada; 7) utilização de pelo menos três técnicas para caracterização da NPAg na embalagem testada; 8) descrição do tipo de embalagem avaliado; 9) descrição da técnica de incorporação da NP na embalagem; 10) descrição da quantificação da NPAg; 11) determinação do tamanho da NPAg na embalagem testada e no alimento; 12) utilização de padrão de referência; 13) validação do método utilizado e 14) realização de análise estatística.

Cada um dos itens recebeu a pontuação zero ou um, sendo que a nota zero foi atribuída quando a resposta foi negativa, e a nota um quando a resposta foi positiva, semelhante ao que é aplicado na ferramenta Downs e Black (1998), gerando-se um escore máximo de 14 pontos. O escore de cada artigo foi utilizado para sua classificação em três categorias de qualidade: alta (10 a 14 pontos), média (6 a 9 pontos) e baixa (0 a 5 pontos). A atribuição deste escore foi baseado no instrumento de avaliação crítica para estudos de prevalência desenvolvido e testado por Munn *et al.* (2014).

### 3.1.8 Síntese dos resultados

Após a extração, os dados foram agrupados em uma tabela sinóptica, com uma síntese dos estudos de migração de NPAg, para facilitar a apresentação dos resultados. A tabela foi elaborada utilizando as informações presentes no instrumento para caracterização e extração de dados (Apêndice C), criado para este trabalho.

#### 3.1.8.1 Codificação dos artigos elegíveis

Com a finalidade de facilitar a demonstração dos resultados dos estudos elegíveis foi atribuída uma codificação alfanumérica a cada artigo. Nesta tabela os artigos foram codificados pela letra “M” seguida de um número sequencial. Depois da extração das

informações, foram realizadas análises qualitativas dos estudos, de forma crítica e minuciosa, buscando a síntese e interpretação dos dados.

### 3.1.9 Implicações éticas

O presente estudo não necessitou de avaliação no Comitê de Ética da Fiocruz, pois o mesmo não envolveu seres humanos diretamente ou indiretamente.

## 4 RESULTADOS E DISCUSÃO

### 4.1 Busca e identificação dos estudos

O processo minucioso de busca dos estudos primários que avaliavam o potencial de migração de NPAG presentes em embalagens de alimento nas bases de dados eletrônicas, segundo os MeSH controlados e não controlados, resultou em 664 referências. Esse processo de seleção foi bastante laborioso, pois foi realizada estratégia de busca ampla, a fim de adquirir um número expressivo de estudos.

Foram utilizadas cinco bases de dados eletrônicas com abrangência expressiva em estudos relacionados a questão norteadora. As bases de dados consultadas e a quantidade de artigos identificados que avaliavam o potencial de migração de NPAG, de acordo com os descritores e termos definidos, está apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados da estratégia de busca nas bases de dados selecionadas e o número de artigos identificados sobre ensaio de migração de NPAG

Base de Dados	Estudos identificados	%
MEDLINE/ Pubmed	587	88,4
LILACS /BVS	20	3,0
Scopus	38	5,7
Embase	19	2,9
SciELO	0	0
Literatura Cinza	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>664</b>	<b>100</b>

Fonte: Da autora, 2018.

A base de dados que prevaleceu na amostra foi a MEDLINE/Pubmed com 587 (88,4%) artigos identificados. Já a base de dados SciELO não apresentou qualquer artigo que respondesse à questão norteadora (Tabela 3).

A partir da pesquisa nas referências dos estudos incluídos foi encontrado 1 (0,2%) estudo que não havia sido identificado na busca nas bases eletrônicas, portanto, 665 estudos potenciais foram considerados elegíveis pelos dois pesquisadores independentes.

Uma pesquisa parcial da literatura cinzenta foi realizada usando *OpenGrey* e *Google Scholar*, mas, no entanto, nenhuma dessas bases de dados apresentou estudos que atendessem aos critérios de inclusão desta revisão.

#### 4.2 Seleção dos estudos

Após a busca e identificação dos estudos nas bases de dados eletrônicas e na pesquisa das referências dos artigos encontrados, estes foram exportados para o programa *EndNote*®, dos quais 52 (7,8%) foram excluídos por se tratarem de duplicatas.

Em seguida, após a exclusão das duplicatas, os títulos e resumos dos 613 estudos selecionados foram adequadamente avaliados utilizando o Teste de Relevância I (Apêndice A), considerando os critérios de inclusão e de exclusão preconizados para a seleção dos estudos nesta revisão.

Para ser considerado elegível, nesta primeira etapa, os estudos avaliados deveriam responder de forma afirmativa a todas as perguntas do Teste de Relevância I.

O Teste de Relevância I foi aplicado pelos dois pesquisadores independentes onde 578 (94,2%) publicações foram excluídas. De acordo com a literatura, é comum que nos estudos de RS haja um grande contingente de exclusões, motivada principalmente, pela pesquisa ampla e abrangente, cuja finalidade é evitar que algum artigo relevante não seja encontrado por este processo de busca (BOUZA; MUÑOZ; AMATE, 2005),

Os motivos das exclusões foram: 570 (92,9%) publicações por não abordarem a temática da revisão, 5 (0,8%) por estarem publicadas em outros formatos, 2 (0,3%) por não se tratarem de artigos científicos e 1 (0,1%) publicação por não estar disponível na íntegra.

Para obter o artigo completo desta publicação que não estar disponível na íntegra, foi feita inicialmente a verificação da possibilidade de obtenção deste artigo através do Programa de Comutação Bibliográfica (Comut), entretanto, o mesmo não estava disponível nos acervos das principais bibliotecas brasileiras e nem nos serviços de informação internacionais. Em seguida, foi realizado o contato com os autores do artigo através do *ResearchGate*, que informaram que o artigo não estava disponível com o texto completo, pois havia sido publicado em uma revista local e o mesmo não tinha o documento em PDF. Além disso, o artigo havia sido escrito em russo (cirílico). Diante deste fato, foi mantida a exclusão do artigo.

A avaliação do Índice de Concordância Kappa entre os pesquisadores foi de 0,98 (IC 95% = 0,81-1,00;  $p < 0,001$ ), representando nível excelente. Nesse momento, todos os artigos

onde existia discordância foram avaliados em conjunto pelos dois pesquisadores que entraram em um consenso para inclusão dos mesmos.

Após o término da aplicação do Teste de Relevância I, 35 (5,3%) artigos foram selecionados para a avaliação do texto completo.

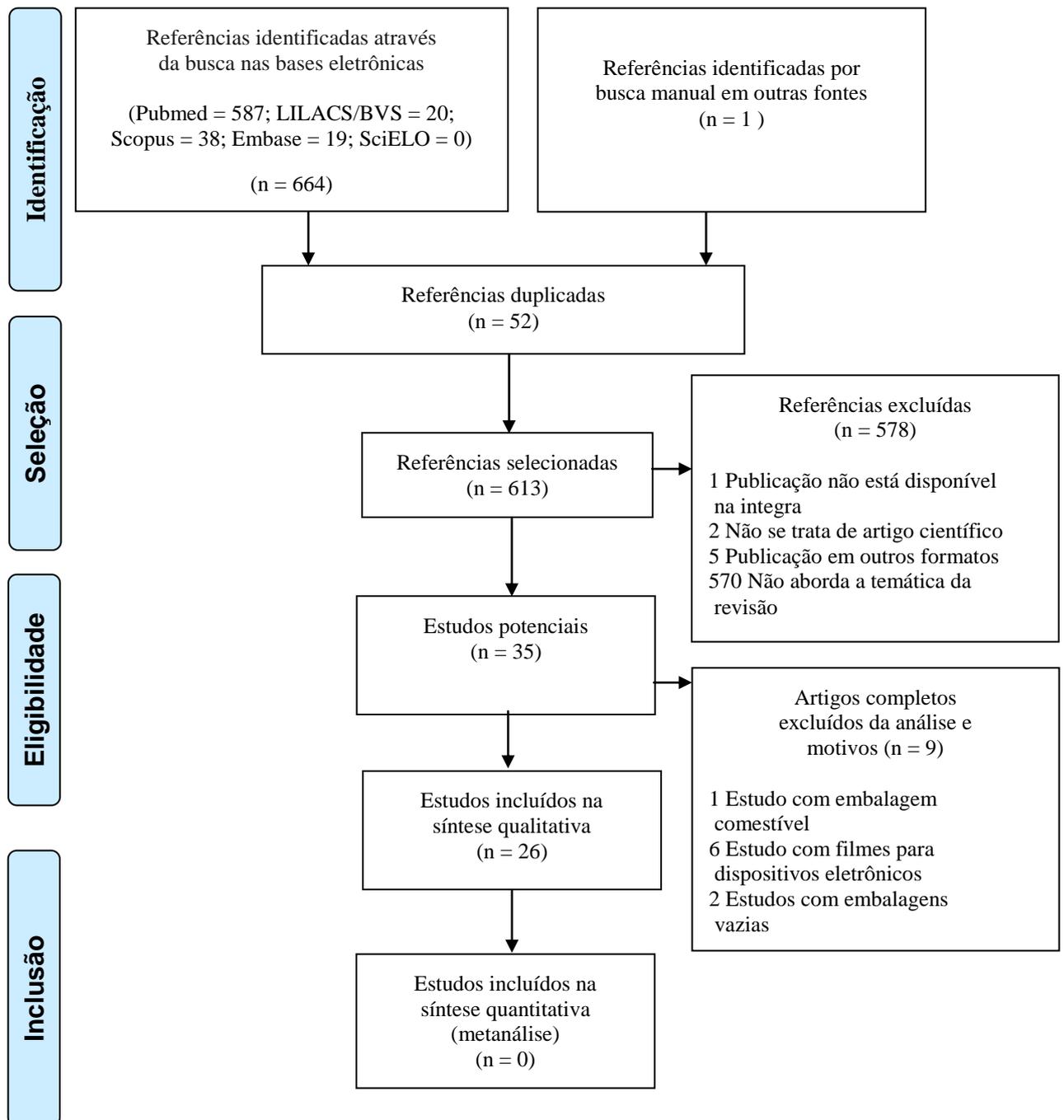
Nesta etapa, com a finalidade de definir quais estudos deveriam de fato compor a amostra da RS foi aplicado o Teste de Relevância II (Apêndice B), pelos dois pesquisadores independentes, onde 9 (1,3%) estudos foram excluídos, principalmente devido a: estudo sem embalagem de alimento (n=1); estudos com embalagens vazias (n=2) e estudos com filmes para dispositivos eletrônicos (n= 6).

Ao final da aplicação do Teste de Relevância II, 26 de 665 (3,9%) estudos foram selecionados para compor a amostra da RS, encontrados na busca em bases de dados e através da busca nas referências dos estudos incluídos (referência cruzada)

Para ser considerado elegível, nesta segunda etapa, os estudos avaliados deveriam também responder de forma afirmativa a todas as perguntas do Teste de Relevância II.

Um fluxograma baseado nas diretrizes do PRISMA evidencia os passos para a seleção dos documentos completos analisados nesta revisão, bem como a eliminação de publicação indesejada, dados mostrados na Figura 17 (MOHER *et al.*, 2009).

Figura 17 – Fluxograma das etapas de seleção dos estudos adaptado do PRISMA



Fonte: Adaptado de Moher *et al.*, 2009.

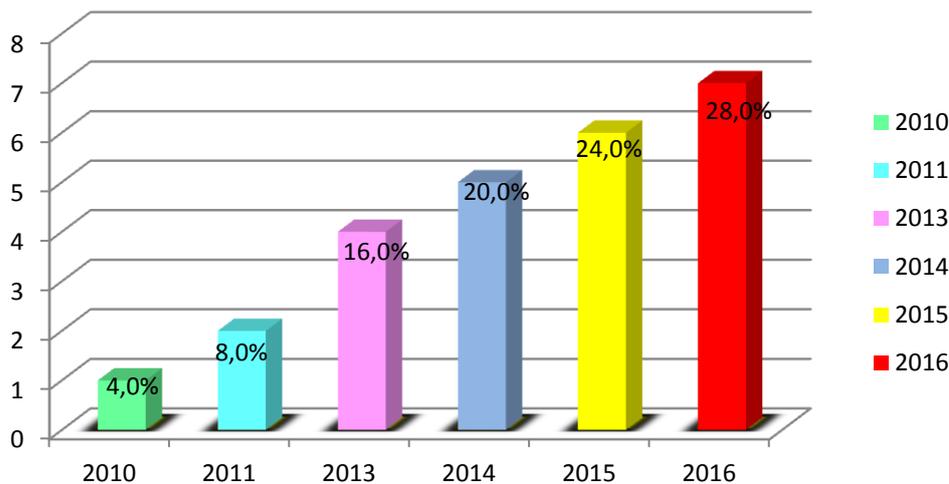
### 4.3 Avaliação do risco de viés

A partir da avaliação da qualidade dos 26 artigos considerados elegíveis, optou-se por sistematizar todos os artigos incluídos, pois, apenas um deles apresentou avaliação da qualidade média (M1) e nenhum foi classificado como de baixa qualidade.

#### 4.4 Características dos estudos

O gráfico 1 resume a distribuição dos artigos em função do ano de publicação, onde se observa que o número de artigos aumentou com o passar dos anos. Cinquenta por cento dos estudos foram publicados a partir de 2015 e que o ano prevalente da amostra foi 2016. Isto ocorreu principalmente devido ao avanço da nanotecnologia enquanto ciência, o que culminou em um maior interesse por pesquisas nesta área a cada ano (POKROPIVNY; SKOROKHOD, 2007). Segundo Pal (2007), a inexistência de artigos avaliando o potencial de migração de NPAG antes de 2010 se dá pelo fato da nanotecnologia ser uma ciência relativamente nova, e a sua aplicação na indústria de embalagens de alimentos ser bastante recente (PAL, 2017).

Gráfico 1 – Ano de publicação dos estudos elegíveis



Fonte: Da autora, 2018.

#### 4.5 Síntese e análise dos estudos da pesquisa sistemática

O conteúdo dos artigos elegíveis (26) foi organizado e categorizado e os dados extraídos dos estudos estão descritos na Tabela 4.

Para responder a questão norteadora desta SR de forma precisa e consistente, este estudo avaliou aspectos importantes que são apresentados em 6 itens.

#### 4.5.1 Avaliação da Migração

Dos 26 artigos primários que fizeram parte desta SR, somente 2 (M3 e M5) não apresentaram evidência de migração. Todavia, todos os estudos apresentavam dados que não são consistentes, principalmente devido a alguns fatores, tais como: (i) deficiências no planejamento e execução das técnicas analíticas para extração (tempo, temperatura, tipo de simulante<sup>6</sup>/alimento) (ii) ausência de validação dos métodos analíticos utilizados; (iii) pouco conhecimento dos autores sobre os diversos tipos de polímeros estudados e (iv) deficiências na caracterização da NPAg. Outro fato que merece destaque está relacionado a discordância entre a literatura científica e os resultados apresentados por alguns artigos. Por exemplo, a maioria dos estudos identificou, claramente, menor migração da NPAg em simuladores aquosos não-ácidos, como em etanol 10% e em H<sub>2</sub>O, do que em ácido acético 3%, que é o esperado, devido à taxa de oxidação da Ag elementar ser mais elevada em meio ácido, promovendo a formação de íons prata (Ag<sup>+</sup>), o que favorece o aumento da sua taxa de migração. No estudo M2, ao medir a migração da NPAg em diferentes embalagens comerciais, verificou-se alta taxa de migração (até 0,31 mg/dm<sup>2</sup>) em meio ácido, porém, não se detectou migração da Ag (<0,04 mg/dm<sup>2</sup>) em etanol 10% e água. Entretanto, em outro estudo (M11), esses dados se mostraram discordantes, pois, foi detectada a maior tendência de migração tanto para o ácido acético 3%, quanto em H<sub>2</sub>O, e para este resultado não foi dada nenhuma explicação pelos autores.

---

<sup>6</sup>Simulante é o produto que imita o comportamento de um grupo de alimentos que tem características semelhantes.

Tabela 4 – Síntese dos estudos elegíveis

Código de referência do periódico	Polímero	Embalagem	Tamanho da NPAg	Simulante da migração ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concentração inicial da NPAg na embalagem	Evidência de migração	Resultado da migração
M1 FEICHTMEIER <i>et al.</i> , 2016	PP	Caixas comerciais	75 nm <sup>1</sup> 20 nm <sup>2</sup>	pimenta vermelha fresca	4°C por 7 dias Temp. Ambiente por 7 dias	SS HR-CS GFAAS	Não descrita pelos autores	6,5 µg L <sup>-1</sup>	Sim	0,07 µg g <sup>-1</sup>
M2 MACKEVICA <i>et al.</i> , 2016	PE HDPE	4 Embalagens comerciais (2 sacos e 2 caixas de armazenamento)	10-100 nm <sup>1</sup> 5-400 <sup>2</sup>	W 3% AA 10% ET	40°C por 10 dias	sp-ICP-MS MET, EDX	Regulamento EU 10/2011	20 µg dm <sup>-2</sup> 140 µg dm <sup>-2</sup> <20 µg dm <sup>-2</sup> 20 µg dm <sup>-2</sup>	Sim	µg dm <sup>-2</sup> W: (<0,04,<0,05,<0,06) 10% ET: (<0,04,<0,05,<0,06) 3% AA: (0,2;0,27;0,28; 0,31)
M3 BECARO <i>et al.</i> , 2016	LDPE	Filme plástico	Não há	Cenoura	10°C por 10 dias	ICP-OES MET EDX	Não descrita pelos autores	100, 50; 2,5%	Não	Não detectado
M4 RAMOS <i>et al.</i> , 2016	PC PP	Mamadeira Caixa comercial	250-500nm <sup>1</sup> 300-900nm <sup>2</sup>	W 3% AA 10% ET 95% ET	20°C por 10 dias 40°C por 10 dias 70°C por 2h	ICP-MS MEV EDx	Regulamento EU 10/2011	1,100 µg dm <sup>-2</sup> 5,200 µg dm <sup>-2</sup>	Sim	µg dm <sup>-2</sup> Mamadeira W: (<7,0x10 <sup>-6</sup> , 0,0067,0,01) 3% AA: (<7,0x10 <sup>-6</sup> , 0,013, 0,062) 10% ET: (<7,0x10 <sup>-6</sup> , 0,0025) Caixa de alimento W: (0,193; 0,348; 0,391) 3% AA: (0,723; 1,340; 1,887) 10% ET: (0,173; 0,423)
M5 GALLOCCCHIO <i>et al.</i> , 2016	PP	Saco de plástico comercial	1000 nm <sup>1</sup>	carne de frango	5°C por 0, 3 e 7 dias 12°C 0, 3 e 7 dias -18 °C por 35 dias	ICP-MS AAS, SEM/EDS	Regulamento EU 10/2011	29 ± 2 e 34 ± 5 mg kg <sup>-1</sup> .	Não	Não detectado
M6 OZAKI <i>et al.</i> , 2016	PE PP	6 recipientes comerciais, sacos de copos	20-100 nm <sup>1</sup> 100 nm <sup>2</sup>	W 20%, etanol 4% AA	10 dias a 5°C 10 dias a 40°C 30 min a 60°C 30 min a 95°C	ICP-MS Ultra-centrifugação	Regulamento EU 10/2011	21-200 µg/g	Sim	4% AA: 40°C: 3.7 e15 µg /l 5°C: 0.17e1.7 µg /l 60°C: 95°C: n.d.
M7 HANNON <i>et al.</i> , 2016	LDPE	Filme plástico	100-200 nm <sup>1</sup> 215-945nm <sup>2</sup>	W 3% AA	10 dias a 60, 70°C; 2 h a 60, 70°C; micro-ondas	MEV ICP-AES	Regulamento EU 10/2011	5000–50.000 µg g <sup>-1</sup>	Sim	W: (1,04; 2,05; 2,17) mg Kg <sup>-1</sup> 3% AA: (1,57; 0,97; 2,14) mg Kg <sup>-1</sup>

Tabela 4 – Síntese dos estudos elegíveis (continuação)

Código de referência do periódico	Polímero	Embalagem	Tamanho da NPAg	Simulante da migração ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concentração inicial da NPAg na embalagem	Evidência de migração	Resultado da migração
M8 YU <i>et al.</i> , 2016	PLA	Filme plástico	15-70 nm <sup>1</sup>	IO 10 % (v/v) 10% ET	40°C por 10 dias	ICP-MS MET MEV, EDX	Regulamento EU 10/2011	1% (p/p)	Sim	10% ET: 3.4 - 46 µg Kg <sup>-1</sup> IO: Não informado
M9 SU <i>et al.</i> , 2015	PE	Filme plástico sem aditivo (SA) e com Aditivo (CA)	20nm <sup>1</sup>	3% AA 50% ET	20, 40 e 70°C, após 10 dias	ICP-MS	Regulamento EU 10/2011	385,5 mg kg <sup>-1</sup> (SA) 356,4 mg kg <sup>-1</sup> (CA)	Sim	Filme plástico sem aditivo 3% AA: (0,4%; 0,9%; 1,4%) 50% E: (n.d., 0,1%; 0,5%) Filme plástico com Aditivo 3% AA: (n.d.; 0,1%;0,2%) 50% ET: (n.d.; n.d.;0,05%)
M10 NTIM <i>et al.</i> , 2015	LDPE PP PES Silicone	Bico e Mamadeira Tábuas de corte, sacos e caixas de armazenamento	10-100nm <sup>1</sup>	3% AA 50% ET 3%, ET 50%,	40°C por 10 dias e 100 ° C por 4h	ICP-MS AF4- ICP-MEV FFF MET, EDS FTIR	USFDA Guidance for Industry	36,0 µg g <sup>-1</sup> 7,16 µg g <sup>-1</sup> 28,8 µg g <sup>-1</sup> 9,04µg g <sup>-1</sup> 24,7 µg g <sup>-1</sup> 0,0009µg g <sup>-1</sup> 0,880µg g <sup>-1</sup>	Sim	0,20 µg g <sup>-1</sup> 0,56 µg g <sup>-1</sup> 0,50µg g <sup>-1</sup> 0,46µg g <sup>-1</sup> 0,60µg g <sup>-1</sup> ---- ---- µg g <sup>-1</sup>
M11 ARTIAGA <i>et al.</i> , 2015	PP HDPE	Caixas comerciais Sacos comerciais	40-60 nm <sup>2</sup>	W; 3% AA 10% ET 95% ET	20°C – 40°C por 10 dias e 70°C por 2h	AF4- ICP-MS MEV MET, EDX	Regulamento EU 10/2011	28 µg g <sup>-1</sup>	Sim	3% AA: (0,003; 0,018; 0,017) W:(0,001; 0,009; 0,017)
M12 METAK <i>et al.</i> , 2015	PE	Caixas comerciais Filme plástico	100-300nm <sup>2</sup>	Maçãs frescas, pão macio branco, manteiga, cenoura fresca, queijo, leite em pó, suco de laranja; W; 3% AA	40°C por 7 - 10 dias	ICP-MS MEV MET EDS AA	Granda-Restrepo et al, 2009	1% (p/p)	Sim	Filmes Alimentos: (12 - 30 µg L <sup>-1</sup> ) W: (3,8 - 6,3µg L <sup>-1</sup> ) 3% AA: (3,8-16 µg L <sup>-1</sup> ) Caixa Alimentos: (1,8-5,7 µg L <sup>-1</sup> ) W: (0,2 – 0,8) µg L <sup>-1</sup> 3% AA: (0,3- 8,0 µg L <sup>-1</sup> )
M13 ABREU <i>et al.</i> , 2015	Nanocompósitos incorporados de nanopreenchedores inorgânicos (montmorilonita)	Filme plástico	Não há	3% AA	40°C por 10 dias	ICP-OES MEV DRX DMA	Norma Europeia EM 1186-1	Não informado	Sim	0,7 mg g <sup>-1</sup> 0,4 mg g <sup>-1</sup>

Tabela 4 – Síntese dos estudos elegíveis (continuação)

Código de referência do periódico	Polímero	Embalagem	Tamanho da NPAg	Simulante da migração ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concentração inicial da NPAg na embalagem	Evidência de migração	Resultado da migração
M14 CUSHEN <i>et al.</i> , 2014a	PE	Filme plástico comercial e não comercial	8,78nm <sup>2</sup> 14,3nm <sup>2</sup> 66,24 nm <sup>2</sup>	W AA 3%	40°C por 10 dias	ICP-AES Espectrofotômetro MET,	Não descrita pelos autores	0,1 e 0,5 % (p/p)	Sim	ICP-AES W: (9,17 x10 <sup>-2</sup> ; 0,16 mg L <sup>-1</sup> ) 3% AA:(4,65x10 <sup>-2</sup> ;0,17 mg L <sup>-1</sup> ) Espectrofotômetro W: (8,92x10 <sup>-2</sup> ; 0,52 mg L <sup>-1</sup> ) 3% AA: (0,15; 0,38 mg L <sup>-1</sup> )
M15 CUSHEN <i>et al.</i> , 2014b	PE	Filme plástico	10 nm <sup>1</sup>	Peito de frango	8,13°C ou 21,8°C por 1,1 ou 3,1 dias	ICP-MS MEV	Não descrita pelos autores	0,5 % (p/p)	Sim	3,0 - 5,0µg g <sup>-1</sup>
M16 JOKAR; RAHMAN, 2014	PE	Filme plástico	18.61- 31.8 nm <sup>1</sup>	W; 3% AA 10% ET Suco de maçã	4°C a 40°C por 30 dias	AAS DRX	Não descrita pelos autores	1-22 µg g <sup>-1</sup>	Sim	mg Kg <sup>-1</sup> W: (0,307-1,125) 3% AA: (0,376-1,124) 10% ET: (0,331-0,968) Suco(0,331-0,968)
M17 FORTUNATI <i>et al.</i> , 2014	Filme ternários de nano-biocomposite à base PLA	Filme plástico	1-8nm <sup>1</sup>	10% ET IO	40°C por 10 dias (etanol 10%) iso-octano (20°C por 2 dias)	ICP-MS, MET Espectrometria UV-vis	Regulamento EU 10/2011	0,5 e 1% (p/p)	Sim	µg Kg <sup>-1</sup> 10% ET: (40;170;20;180) IO: (80;230;70;230)
M18 ECHEGOYEN; NERÍN, 2013	PP LDPE	3 Embalagens comerciais (2 potes e 1 saco)	10-200 nm <sup>2</sup>	AA 3% 50% ET	40°C por 10 dias 70°C por 2 h	sp-ICP-MS EDX MEV	Regulamento EU 10/2011	ng cm <sup>-2</sup> 39x10 <sup>4</sup> (pote) 19x10 <sup>4</sup> (pote) 2x10 <sup>4</sup> (saco)	Sim	ng cm <sup>-2</sup> Saco 3% AA:(3,76;0,0031;0,0034;0,0025) 50% ET: 1,66; <LQ; <LQ; <LQ; Pote 1 3% AA:(31,46;0,05; 0,0023;0,0022) 50% ET: 9,48; <LQ; <LQ; <LQ; Pote2 3% AA:10,16; 0,015; 0,0124; 0,012 50% ET: 7,10 <LQ; <LQ; <LQ;
M19 VON GOETZ <i>et al.</i> , 2013	PP PE	Caixas e sacos comerciais	20-100 nm <sup>2</sup>	W; 10% ET; 3% AA azeite comercial	20°C por 10 dias	sp-ICP-MS EDX MEV	Diretiva 97/48/CE	9,7-23 µg g <sup>-1</sup> (PP) 37 µg g <sup>-1</sup> (PE)	Sim	3% AA: (9,5 e 0,5 ng cm <sup>-2</sup> ) W, 10% ET:(4,8 ng cm <sup>-2</sup> e n.d.) Azeite: (n.d. e n.d)

Tabela 4 – Síntese dos estudos elegíveis (conclusão)

Código de referência do periódico	Polímero	Embalagem	Tamanho da NPAg	Simulante da migração ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concentração inicial da NPAg na embalagem	Evidência de migração	Resultado da migração
M20 FORTUNATI <i>et al.</i> , 2013	PLA	Filme plástico	20 -80 nm <sup>1</sup>	10% ET IO	20°C por 10 dias (ET 10%) 20°C por 2 dias (iso-octano)	ICP-MS MEV	Regulamento EU 10/2011 /Norma Europeia EM 1186-1	1% (p/p)	Sim	$\mu\text{g Kg}^{-1}$ 10% (75;140; 175; 240) IO: (200; 270;240; 210)
M21 CUSHEN <i>et al.</i> , 2013	PVC	Filme plástico comercial	10 e 50 nm <sup>1</sup>	Carne de frango	6,6, 7,2, 19,9 e 24,1°C ) por 1,1, 2, 3,1 e 4 dias	ICP-MS	Não descrita pelos autores	0,5 e 5,0% = 3,70 – 38,72 mg/dm <sup>2</sup>	Sim	mg/dm <sup>2</sup> 0,01-0,43 (0,5%) 0,14-0,67 (5%)
M22 SONG <i>et al.</i> , 2011	PE	Filme plástico comercial	7 nm <sup>1</sup>	95% ET 3% AA	20°C , 40°C e 70°C de 1 a 9 horas	ICP-MS	Diretiva 82/711/EEC, Diretiva 85/572 / EEC,	234 $\mu\text{g g}^{-1}$	Sim	$\mu\text{g/dm}^2$ 3% AA: (0,23; 0,40; 0,75) 95% ET:( 0,03)
M23 HUANG <i>et al.</i> , 2011	PE	Saco plástico comercial	100-300 nm <sup>1</sup> 300 nm <sup>2</sup>	W, 95% ET 3% AA Hexano	25°C, 40°C e 50°C 3 a 15 dias	AAS EDX MEV	Chineso standard GB/T 5009.60-2003	100 $\mu\text{g g}^{-1}$	Sim	W: (1,4; 3,3; 3,4) $\mu\text{g/dm}^2$ 3% AA: (1,7; 3,8; 3,4) $\mu\text{g/dm}^2$ 95% ET: (0,7; 2,8; 2,9) $\mu\text{g/dm}^2$ Hexano: (1,4; 3,8; 4,0) $\mu\text{g/dm}^2$
M24 EMAMIFAR <i>et al.</i> , 2011b	LDPE	Filme plástico	10 nm <sup>1</sup>	Suco de laranja	4°C por 28-112 dias	MET	Não descrita pelos autores	2500 $\mu\text{g g}^{-1}$	Sim	28 dias: 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$ 56 dias: 0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$ 84 dias: 0,13 $\mu\text{g L}^{-1}$ 112 dias: 0,15 $\mu\text{g L}^{-1}$
M25 BUSOLO <i>et al.</i> , 2010	PLA	Caixas comercial	20 nm <sup>1</sup>	HNO <sub>3</sub> 2.010 <sup>-3</sup> M	8 dia a T.A	Voltametria MET	Não descrita pelos autores	1, 5 e 10%	Sim	1%: 4 $\mu\text{g g}^{-1}$ 5%: 6 $\mu\text{g g}^{-1}$ 10%: 4,9 $\mu\text{g g}^{-1}$
M26 BOTT <i>et al.</i> , 2014	LDPE	Filme plástico	10-270nm <sup>1</sup>	10% ET 95% ET 3% AA IO	10 dias/60°C; 24 h/40°C	ICP-MS AF4- ICP-MS MET DLS	Regulamento EU 10/2011	50 $\mu\text{g g}^{-1}$ 185 $\mu\text{g g}^{-1}$ 250 $\mu\text{g g}^{-1}$	Sim	$\mu\text{g/dm}^2$ 3% AA: 168,5; 448,8;1010,9 10% ET: 2,4; 13,2; 115,1 95% ET: e IO: n.d.

Abreviações: Polipropileno: PP; Polietileno: PE; Polietileno de Baixa Densidade: LDPE; Polietileno de alta densidade: HDPE; Poli (ácido láctico): PLA; Polifenileno éter sulfona: PES; Policarbonato: PC; Cloreto de polivinila: PVC; Ácido Acético: AA; Etanol: ET; Água: W; Iso-octano: IO.

<sup>1</sup> tamanho da nanopartícula encontrada no polímero

<sup>2</sup> tamanho da nanopartícula encontrada no simulante/alimento

Fonte: Da autora, 2018.

#### 4.5.1.1 Avaliação da migração por tipo de simulante

O Regulamento da UE nº 10/2011 (EUROPEAN COMMISSION, 2011d) determina que, para a verificação da conformidade da migração a partir de materiais e objetos de matéria plástica em contato com os alimentos, devem ser utilizados simuladores de alimentos. Os simuladores são usados para simplificar as matrizes de alimentos, com a qual a embalagem irá entrar em contato. Segundo este regulamento, seis simuladores de alimentos podem ser utilizados para testes de migração de material de plástico em contato com alimentos: (1) etanol 10% (v/v), (2) ácido acético 3% (v/v), (3) etanol 20% (v/v), (4) etanol 50% (v/v), (5) óleo vegetal e (6) poli (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno).

Esses simuladores de alimentos representam (1) alimentos com caráter hidrofílico; (2) alimentos com caráter hidrofílico e com pH inferior a 4,5; (3) alimentos alcoólicos com teor de álcool até 20%; (4) alimentos alcoólicos com teor de álcool acima de 20% e alimentos com caráter lipofílico/óleo em emulsões de água; (5) alimentos lipofílicos com gorduras livres na superfície e (6) alimentos secos, respectivamente. Portanto, o ideal seria que os artigos utilizassem todos os simuladores estabelecidos pelo Regulamento UE nº 10/2011 (EUROPEAN COMMISSION, 2011d) com a finalidade de verificar o comportamento da NPAg em cada um deles.

O Regulamento da UE nº 10/2011 (EUROPEAN COMMISSION, 2011d) estabelece que para demonstrar a conformidade com o limite de migração global de todos os tipos de alimentos, devem realizar-se as análises com água destilada ou de qualidade equivalente e com o simulador alimentar 1, 2 e 5. E caso a embalagem entre em contato com alimentos aquosos e alcoólicos e produtos lácteos, devem realizar-se as análises com o simulador alimentar 4. Para alimentos aquosos e alcoólicos, com um teor alcoólico de até 20%, devem realizar-se as análises com o simulador alimentar 3 e para alimentos em pó ou secos deve-se utilizar o simulador alimentar 6. O uso desses diferentes simuladores alimentares está fundamentado em modelos matemáticos que estabelecem que a capacidade de migração das NP presentes na constituição das embalagens plásticas para os alimentos, está associada a diversos fatores, dentre eles o pH e as características dos alimentos, especialmente os gordurosos (BARNES; SINCLAIR; WATSON, 2007; FREIRE *et al.*, 2008).

Considerando que as embalagens primárias, sacos, caixas ou filmes, em situação real são utilizadas para acondicionar alimentos com diferentes características químicas, o ideal seria que os autores dos artigos tivessem testado as embalagens com todos os simulantes preconizados pelo Regulamento da UE nº 10/2011 (EUROPEAN COMMISSION, 2011d), pois,

somente assim, seria possível avaliar de forma precisa, qual o comportamento da NPAg nas diferentes matrizes alimentares.

O estudo M3, um dos que não evidenciou a migração da NPAg, utilizou somente um único alimento, cenoura, no teste de migração. Esse pode ter sido um dos fatores que contribuiu para o resultado encontrado. Levando em consideração que, sob condições reais, os consumidores acondicionam diferentes tipos de alimentos dentro das embalagens, fica claro que esse resultado não pode ser utilizado para a tomada de decisão quanto ao risco de migração da NPAg para todos os tipos de alimentos. Além disso, considerando que a cenoura é considerada um alimento levemente ácido ( $\text{pH} > 4,5$ ) (LIMA *et al.*, 2001) e que alimentos de pH ácido favorecem a migração, conforme será discutido nos próximos parágrafos, este resultado mostra-se discordante da literatura (ZHANG, YONGAN; VLAHOVIC, 2016). Além do uso de um único simulante, outros fatores podem ter influenciado a não-migração no estudo M3 e serão abordados a seguir.

O estudo M5 também não detectou migração da NPAg possivelmente devido às características químicas do único alimento utilizado (carne de frango) na temperatura de 12°C, as quais podem não ter contribuído para a migração da NPAg. Por outro lado, os estudos M15 e M21, nas temperaturas de 21,8°C e 24,1°C, respectivamente, evidenciaram a migração da NPAg também utilizando carne de frango como modelo. Estudos anteriores evidenciam a importância da temperatura nos estudos de migração (BARNES *et al.*, 2007; FREIRE *et al.*, 2008), o que pode explicar os resultados discrepantes observados. A fim de confirmar que a ausência de migração não estava sendo motivada pelas características químicas do alimento utilizado (carne de frango) ou pela temperatura, o desenho experimental do estudo M5 deveria ter contemplado diferentes tipos de alimentos/simulantes e/ou temperaturas. Desta forma, seria possível obter uma conclusão mais precisa quanto à influência do tipo de simulante e da temperatura na migração.

Apesar dos outros 24 (92,3%) estudos terem evidenciado a migração da NPAg da embalagem para os alimentos, alguns relataram que a quantidade de prata total liberada da embalagem para o alimento era tão pequena (níveis sub-ppb), que podem ser consideradas desprezíveis, como relatado nos estudos M2, M11, M13 e M15. Entretanto, estes resultados, quando avaliados com base nos dados descritos na literatura científica e técnica são conflitantes. Por exemplo, segundo dados da literatura, as NP apresentam elevada reatividade e podem interagir com minerais, carboidratos e cadeias de proteínas presentes nos alimentos com os quais estão em contato e com isso modificar as suas propriedades físico-químicas (DUDKIEWICZ *et al.*, 2011; METAK; NABHANI; CONNOLLY, 2015) e,

consequentemente, influenciar a sua taxa de migração. Isto significa que o ideal, em uma análise de migração de NP, seria testar, além dos simuladores de alimentos, matrizes reais, pois somente desta forma será possível avaliar o comportamento real da NPAg em presença de todos os tipos de matrizes alimentares, incluindo a complexas. Portanto, a evidência de migração em concentrações muito baixas de NPAg, verificada nos artigos M2, M11, M13 e M15, pode ter sido influenciada pela escolha somente de simulantes de alimento (M2, M11 e M13) ou somente de alimento real (M15).

Uma questão central nos estudos de migração refere-se à adequação do uso de simuladores de alimentos reais, pois estes foram estabelecidos para teste com substâncias convencionais, fora da escala nano, cuja estruturas química e física do migrante permanecem estáveis durante o teste de migração e não são influenciadas pelo próprio simulador de alimentos. Em contraste, as NPs podem sofrer processos de transformação, como dissolução, modificação química (superfície), aglomeração e agregação, que levam a alterações de sua composição química, forma e tamanho.

Além da influência das propriedades diferenciada das NPs, outras propriedades que interferem no comportamento de partículas na escala nano, e que podem influenciar também na capacidade de migração da NP são: temperatura, tempo e propriedades do meio circundante, como pH, força iônica e composição química. Os simulantes de alimentos não têm a mesma composição química que os alimentos que estão imitando. Assim, os processos de aglomeração, agregação e dissolução podem ocorrer nos alimentos, mas não no simulante de alimentos ou vice-versa. A formação de uma "proteína corona" (adsorção de proteínas em nanopartículas) leva à estabilização estérica de nanopartícula e previne a aglomeração/agregação em meios com alta força eletrônica (GEBAUER *et al.*, 2012). Este fenômeno tem sido estudado para entender o comportamento dos NM e mostrou que a sua interação com proteínas e, eventualmente, outras macromoléculas nos alimentos de forma semelhante (BURCZA *et al.*, 2015).

Os estudos M8, M16 e M19, além dos simulantes preconizados pelo Regulamento da UE nº 10/2011 (EUROPEAN COMMISSION, 2011d), também utilizaram amostras de alimentos reais para testar a migração da NPAg, permitindo cobrir uma ampla gama de tipos de condições e com isso permitiram uma avaliação abrangente da exposição humana, combinada com dados de consumo.

Foi evidente em todos os artigos, onde foi verificada a migração da NPAg, que quanto maior o poder oxidante do alimento, maior a taxa de migração. Isso ocorre, pois, o processo mais empregado para o preparo da NPAg é a redução química, no qual a prata na forma iônica

( $\text{Ag}^+$ ) dá origem a átomos de prata ( $\text{Ag}^0$ ), e os precursores mais utilizados para redução química são nitrato de prata, acetato de prata, citrato de prata e clorato de prata. Entre os vários agentes redutores, os mais utilizados são boro-hidreto, citrato e compostos com grupos hidroxila ou carboxila tais como álcoois, aldeídos, carboidratos e seus derivados (ZHANG et al, 2016). Quando a prata está na sua forma elementar ( $\text{Ag}^0$ ) maior a sua dispersão no polímero e com isso menor será a sua agregação, impedindo a sua migração. Quando a nanopartícula formada ( $\text{Ag}^0$ ) estiver em contato com alimentos oxidantes, esses convertem a  $\text{Ag}^0$  em  $\text{Ag}^+$  e, na forma iônica, ocorre diminuição da dispersão e distribuição da nanopartícula, aumentando a sua agregação e consequentemente a sua migração (ZHANG *et al.*, 2016).

Sendo assim, dentre os simulantes utilizados nos estudos primários, o que favoreceu a maior taxa de migração da NP<sub>Ag</sub> foi o ácido acético a 3%, devido o seu poder oxidante, o que pode ser observado nos resultados dos estudos M2, M4, M6, M7, M8, M9, M10, M11, M14, M16, M18, M19, M22 e M26. Portanto, fica evidenciado que alimentos ácido, devido ao seu forte poder oxidante, provocam uma mudança na força iônica do meio reacional minimizando as forças eletrostáticas repulsivas, possibilitando a agregação das NP, e, consequentemente, favorecendo a migração da NP<sub>Ag</sub>.

Outo fato que demonstra o comportamento da NP em presença de agente oxidante foi relatado no artigo M1, onde a NP<sub>Ag</sub> em contato com a polpa da pimenta vermelha, em função da deterioração da mesma após armazenagem por 7 dias à temperatura ambiente, promoveu a oxidação da NP<sub>Ag</sub>, levando a formação de prata iônica ( $\text{Ag}^+$ ). Na forma catiônica a prata sofre agregação e esse agregado formado tende a migrar mais facilmente da matriz do polímero. Comportamento similar foi observado no artigo M8, que utilizou maior número de amostras reais, além de simulante de alimento em seus testes. No estudo M8, dentre as amostras reais, a que apresentou maior percentual de migração foi o suco de laranja, em função do seu caráter ácido (poder oxidante).

A maioria dos estudos identificou claramente menor migração da NP<sub>Ag</sub> em simuladores aquosos não-ácidos (por exemplo, etanol 10%) do que em ácido acético 3%, devido à maior oxidação em meio ácido. Um exemplo foi o estudo M2 que, ao medir a migração da NP<sub>Ag</sub> em diferentes embalagens comerciais, encontrou resultados semelhantes, ou seja, alta taxa de migração (até 0,31 mg/dm<sup>2</sup>) em meio ácido e não detecta (<0,04 mg/dm<sup>2</sup>) em etanol 10% e água.

Destaque-se alguns dados contraditórios como, por exemplo, no estudo M11 que relatou migração em ácido acético 3% a 20°C e 40°C similar à migração em água e ácido acético 3% a 70°C, o que será comentado no item 4.5.1.2. O estudo M23 também relatou valores de migração de NPAG (100  $\mu\text{g}/\text{g}^1$ ) muito semelhantes em amostras de saco plástico comercial em água e em ácido acético 3%, sendo que o maior valor de migração (4  $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ ) foi detectado no simulante hexano. Avaliando estes dados relatados pelos autores, e compreendendo o comportamento físico-químico da NPAG quando em contato com cada tipo de solvente, fica difícil compreender estes resultados, uma vez que a taxa de migração da NPAG em ácido acético 3% deve ser substancialmente maior, dado que o valor do hexano não seria comparável à água devido à baixa solubilidade dos sais de prata e prata em solventes apolares.

Além disso, apesar do estudo M23 ter apresentado menor concentração inicial da NPAG (100  $\mu\text{g}/\text{g}^1$ ), quando comparado com os estudos M22 e M26, que apresentaram concentração inicial mais elevada (234  $\mu\text{g}/\text{g}^1$  e 250  $\mu\text{g}/\text{g}^1$  respectivamente), a migração da NPAG no estudo M23 é claramente superior à encontrada nos polímeros investigados nos estudos M22 e M26. O artigo M21 realizou o seu estudo com filmes plástico de cloreto de polivinila (PVC) em diferentes concentrações e verificou que a quantidade de prata inicialmente incorporada no filme provou ser um fator que significativamente ( $p < 0,01$ ) impactava na quantidade de prata encontrada nas amostras, onde filmes com maior concentração da NPAG (5%) apresentaram migração na ordem de 10 vezes maior do que os filmes com concentrações mais baixa (0,05%), confirmando o equívoco relatado no artigo M23.

No estudo M16, a migração de prata também foi identificada em ácido acético 3% (suco de maçã), porém, em níveis similares à migração detectada em água e etanol 10%. Neste estudo foram testadas amostras de polietileno (PE) prensadas a quente feitas em laboratório, que podem ter propriedades de superfície diferentes e não homogêneas e maior acessibilidade dos simuladores no polímero de filmes plásticos.

Outro fato relevante foi observado no estudo M8, onde os autores quantificaram a migração de prata em vários alimentos (pão, maçã, queijo, leite em pó, suco de laranja, cenoura, carne moída, manteiga) em água e em ácido acético 3% a partir de caixas e filmes comerciais contendo nominalmente 1% (p/p) de NPAG, conforme declarado pelo fabricante. No entanto, esse valor nominal não foi verificado experimentalmente pelos autores e apenas traços de prata foram encontrados após o armazenamento até 10 dias a 40°C. Entretanto, a falta de verificação da concentração da NPAG nas embalagens comprometeu o resultado do

estudo, pois, o valor da migração pode ter sido insignificante, conforme declara o autor em seu estudo, pois, a concentração inicial poderia estar abaixo da declarada pelo fabricante. Similarmente no estudo M24, os autores quantificaram a migração de prata para o suco de laranja de um filme de polietileno de baixa densidade (LDPE) contendo nominalmente 0,25% de NPAg, além de 1% de ZnO na forma nano. As concentrações iniciais, no entanto, não foram confirmadas experimentalmente. Apenas traços de prata ( $0,15 \mu\text{gL}^{-1}$ ) foram encontrados após o armazenamento até 112 dias a  $4^\circ\text{C}$ .

Levando-se em consideração a importância dos simuladores de alimentos, assim como das amostras reais, fica evidente a necessidade de adequação dos simuladores de alimentos, buscando a sua padronização, para que os resultados obtidos por estes estudos possam verdadeiramente expressar o comportamento da NP, e com isso, avaliar de forma precisa a segurança na sua utilização como aditivo de embalagem. É fundamental que a concentração, de NP nas amostras, seja determinada experimentalmente antes dos testes de migração a fim de se poder correlacionar os valores efetivamente mensurados com o existente nas amostras.

#### *4.5.1.2 Avaliação da migração em função do tempo e temperatura*

Para determinar a exposição provável do consumidor a uma substância adicionada a um material de embalagem de alimentos é necessário medir sua concentração experimentalmente em um alimento que foi armazenado na embalagem, sob as condições de uso realista pretendida para o polímero. Por isso, além do uso de simuladores de alimentos os testes de migração também devem simular as condições de uso, como temperatura e tempo de armazenamento (NOONAN *et al.*, 2014).

Dos 26 artigos que fizeram parte deste estudo (Tabela 4), 16 (61,5%), a saber M1, M4, M5, M6, M7, M9, M10, M11, M15, M16, M17, M18, M21, M22, M23, M26, avaliaram a migração da NPAg em diferentes temperaturas por diferentes tempos de exposição. Os outros 10 (38,5%) avaliaram a migração utilizando somente uma temperatura: M2, M3, M8, M12, M13, M14, M19, M20, M25.

Como os testes realizados por estes estudos visam avaliar o nível de segurança no uso de embalagens contendo NPAg, o Regulamento da UE nº 10/2011 (EUROPEAN COMMISSION, 2011d), determina que a combinação entre tempo de contato e temperatura devem sempre simular as condições de utilização previsíveis mais desfavoráveis de uso das mesmas, que promoveriam uma migração máxima do composto estudado e partir da obtenção deste resultado experimental, extrapolar para a condição real. Portanto, considerando que na

prática as embalagens são utilizadas para armazenar os alimentos por diferentes tempos e temperaturas, as experiências de migração ideais foram as que utilizaram a combinação desses diferentes fatores (tempo/temperatura), sucessivamente, a todas as condições previsíveis mais desfavoráveis.

A necessidade de simular condições de tempo/temperatura mais desfavoráveis ocorre devido ao comportamento diferenciado da NP em função dos variados mecanismos de migração. Por exemplo: maior temperatura no teste de migração de polímeros tipicamente aumenta a migração de moléculas (estudo M9), pois a difusão de uma substância aumenta com temperatura. Diferentes temperaturas de armazenamento podem produzir processos de oxidação promovendo formas indesejadas, como *nanorods*<sup>7</sup> e *nanoprisms*<sup>8</sup> ou agregação e/ou aglomeração de NPAg, que aumenta a sua taxa de difusão (PINTO et al, 2010).

Entretanto, para NP solúveis, o aumento da temperatura pode resultar em uma maior dissolução à medida que a solubilidade aumenta com a temperatura. Como consequência, a concentração de NP migradas diminuirá. Os dados são necessários para entender como as propriedades da NPAg podem mudar em função do tempo e da temperatura (NOONAN et al, 2014). Isso explica alguns dados discordantes que foram verificados em alguns estudos, como por exemplo, o estudo M11 que encontrou níveis similares de migração da NPAg em ácido acético 3% na temperatura de 20°C e 40°C em comparação à condição em água e ácido acético 3% a 70°C. Fenômeno similar foi observado no estudo M7, no qual a redução na migração da Ag com o aumento de temperatura de 60°C para 70°C, no menor tempo de exposição de 2 h. Entretanto, os autores observaram maior migração no aquecimento em micro-ondas que no forno, sugerindo mais estudos para explicar os dados encontrados. Estudos anteriores propuseram que a migração aumentada nas embalagens expostas ao micro-ondas, com relatado no estudo M18, se deve ao efeito da energia alterando a ordem da estrutura polimérica, facilitando o desprendimento da NPAg (GALOTTO; GUARDA, 1999; NERÍN; ACOSTA, 2002).

#### 4.5.1.3 Avaliação do efeito do tamanho da nanopartícula na taxa de migração

O tamanho da NP é um importante fator que influencia a taxa de migração. Um estudo publicado em 2008 por Simon, Chaudhry e Bakoš apresentou modelos de difusão que ajudam na predição da migração de uma substância de um material de contato com alimentos para o

---

<sup>7</sup> *Nanorods* são nanopartículas em forma de bastão (SADEGHI, 2012).

<sup>8</sup> *Nanoprisms* são nanopartículas de formato triangular (DONG et al., 2010)

alimento. Apesar do grande avanço nos estudos que envolvem a migração de moléculas que não estão na escala nano, atualmente existem poucos estudos focados sobre modelagem da difusão e migração de NP através de matrizes de polímeros, o que auxiliaria na interpretação de dados experimentais. Simon, Chaudhry e Bakoš (2008) são alguns dos poucos pesquisadores que tentaram fazê-lo e apresentaram um modelo de difusão usando a equação de Stokes-Einstein para a difusão de uma partícula esférica através de um fluido com propriedades de fluxo lamelar. A difusão é a migração da matéria a favor de um gradiente de concentração.

Usando essa abordagem, eles apresentaram uma relação simples entre o tamanho da partícula e o nível de migração previsto como função apenas da temperatura, da viscosidade dinâmica do polímero e da superfície disponível para liberação. Sendo assim, de acordo com este modelo preditivo de migração, a migração de NPAg da embalagem para o alimento só é possível no caso de polímeros de baixa viscosidade dinâmica como PE e polipropileno (PP) e quando o raio das NP está na faixa de 1 nm, ou seja, pela teoria de Stokes-Einstein quanto menor a viscosidade do polímero e menor for o tamanho da NP, maior será a sua capacidade de difusão.

Dentre os estudos selecionados nesta RS, 17 estudos experimentais (65,4%), verificaram o tamanho da NP presente no polímero (M1, M2, M4, M6, M7, M8, M9, M10, M15, M16, M20, M21, M22, M23, M24, M25 e M26) e caracterizaram a migração da NPAg por meio de técnicas apropriadas. Contudo, o tamanho destas NPAg estavam na faixa 7-500 nm (Tabela 4), o que é significativamente maior que o tamanho limite de migração possível, cerca de 1 nm, estimado por Simon, Chaudhry e Bakoš (2008). A contradição entre os resultados obtidos e o modelo de difusão ou migração proposto por Simon, Chaudhry e Bakoš (2008), pode ser devida ao fato de que este modelo não contabilizou a química do meio circundante e apenas considera o mecanismo de difusão apresentado acima.

Outro fato que merece destaque é que dos 26 estudos avaliados, dois (7,7%), M3 e M13, não informaram o tamanho da NP presente na matriz polimérica nem no meio de extração; 23 (50,0%) artigos (M5, M8, M9, M10, M15, M16, M17, M20, M21, M22, M24, M25 e M26) não informaram o seu tamanho no meio de extração e seis (23,1%) estudos (M2, M4, M7, M12, M18 e M23) apresentavam NPAg, no simulante/alimento, com uma ou mais dimensões externas fora da escala nano. Uma vez que as propriedades físico-químicas das NP, assim como a sua toxicidade, são fortemente influenciadas pelo tamanho das NP (PIPERIGKOU, 2016), a correlação dos resultados desses estudos para inferências toxicológicas é fortemente prejudicada.

#### 4.5.1.4 Avaliação da metodologia utilizada para extração da NPAg

Dos 26 estudos avaliados, 17 (65,4%) utilizaram metodologias descritas em regulamentos oficiais, dos quais 12 (M2, M4, M5, M6, M7, M8, M9, M11, M17, M18, M20, M26) utilizaram o Regulamento da União Europeia EU/10/2011 (EUROPEAN COMMISSION, 2011d). O estudo M19 utilizou a Directiva 97/48/EC (EUROPEAN COMMISSION, 1997), enquanto o M10 utilizou o guia de orientação para as indústrias da USFDA (2007). A Norma Europeia EM 1186-1 (EN, 2002) foi utilizada pelos estudos M20 e M13, enquanto o M22 utilizou as Directivas da União Europeia 82/711/CEE e 85/572/CEE (EUROPEAN COMMISSION, 1982, EUROPEAN COMMISSION, 1985). Oito estudos (30,7%) não referenciaram o método utilizado (M1, M3, M14, M15, M16, M21, M24 e M25) e um estudo (3,8%) referenciou a metodologia somente do estudo M12 (Tabela 4).

Esses regulamentos oficiais, dentre eles o Regulamento da União Europeia EU/10/2011 (EUROPEAN COMMISSION, 2011d), preveem que o método analítico utilizado para o ensaio de migração deve ser validado segundo os requisitos do artigo 11 do Regulamento (EC) n° 882/2004 (EUROPEAN COMMISSION, 2004), que são: exatidão; aplicabilidade (matriz e gama de concentrações); limite de detecção; limite de quantificação; precisão; repetibilidade; reprodutibilidade; recuperação; seletividade; sensibilidade; linearidade; incerteza das medições. Contudo, somente o artigo M9 informou a determinação desses parâmetros. Cabe ressaltar que a validação confere a confiança estatística no resultado obtido a partir da técnica utilizada, oferecendo evidências científicas mais robustas para a tomada de decisão regulatória quanto às propriedades das NPAg as quais auxiliarão na análise de risco e, com isso, promovendo a segurança aos consumidores. Sendo assim, é necessário que os protocolos de estudo de migração para NM sejam validados para que não haja comprometimento dos estudos realizados. Ainda, o estudo M16 não informou o método utilizado para o estudo de migração, e os estudos M10, M19 e M22, que utilizaram regulamentos oficiais, validaram parcialmente o método, não utilizando todos os parâmetros recomendados pelo Regulamento (EC) n° 882/2004 (EUROPEAN COMMISSION, 2004).

Deste modo, fica evidente que uma importante fragilidade comum nos estudos de migração de NP é o uso de métodos não validados, bem como a ausência de materiais de referência para a adequada validação e rastreabilidade dos métodos utilizados.

#### 4.5.1.5 Avaliação das técnicas de caracterização da nanopartícula de prata

Para analisar e determinar NM, as técnicas analíticas aplicadas devem, primeiramente, serem capazes de detectar a NP com alta seletividade e alta sensibilidade, quantificar a concentração das NP no(s) simulador(es) de alimentos ou nos alimentos reais com precisão e, por último, caracterizar as propriedades como tamanho, forma, estado de aglomeração e composição química das NP que migraram (LABORDA *et al.*, 2016). Atualmente, nenhuma técnica analítica única atende a todos esses requisitos, sendo necessário combinar várias estratégias de identificação de forma a permitir tanto a sua detecção química precisa e sua quantificação, bem como, a determinação das suas características física (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2016).

O guia ENV/JM/MONO (2016) estabelece os parâmetros físico-químicos mais relevantes que devem ser avaliados na NP, dentre elas as de prata, assim como uma lista completa de métodos para a caracterização de NM de acordo com as suas diferentes propriedades. O FDA e a EFSA, também possuem guias que estabelecem os parâmetros físico-químicos, assim como, as técnicas para a caracterização desses NM. As técnicas citadas nestes guias estão listadas na Figura 18.

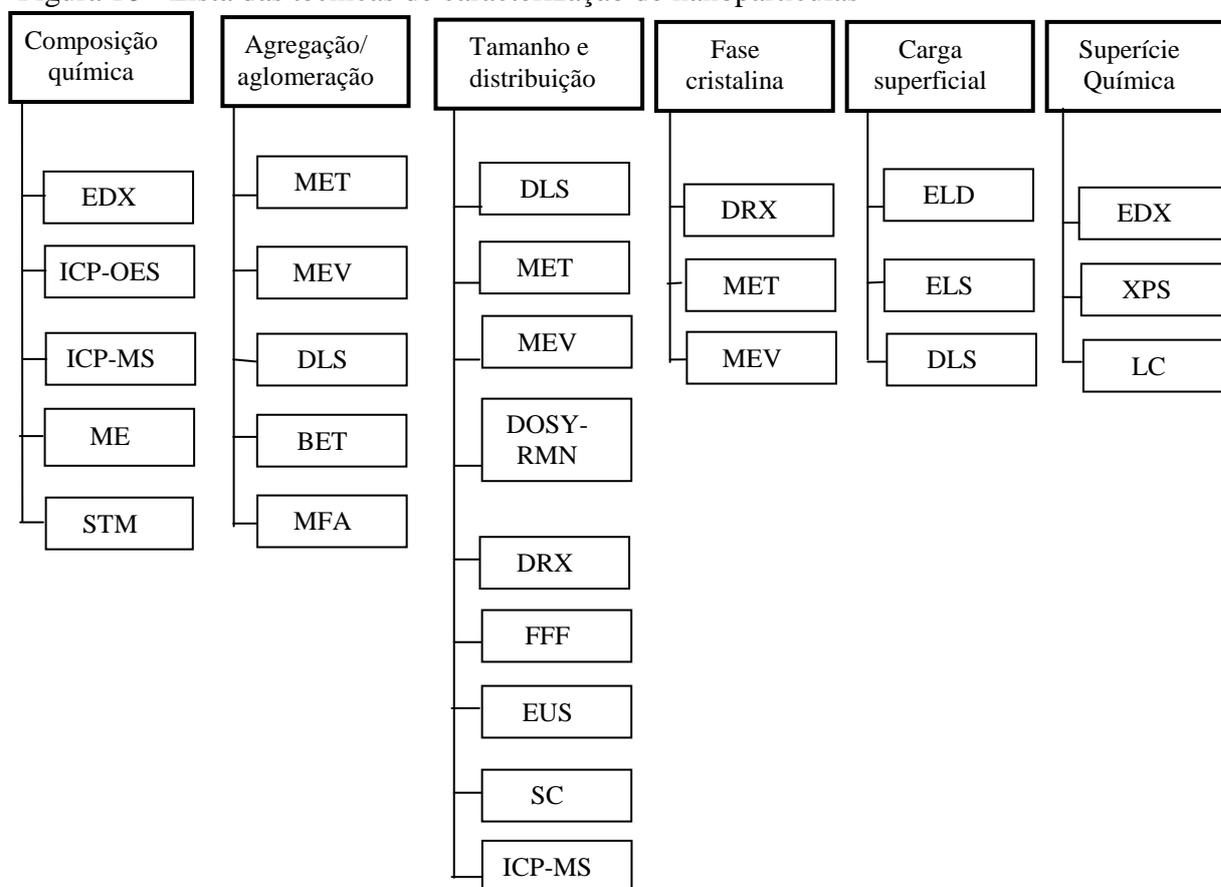
Vale ressaltar que as técnicas utilizadas, além de fornecer informações envolvendo a composição química (composição, massa e concentração de número) e propriedades físicas (por exemplo, tamanho, forma, agregação), deve identificar espécies derivadas das próprias NP e suas transformações no meio para qual migraram (LABORDA *et al.*, 2016).

Embora esteja preconizado pelos Guias da OECD, FDA e EFSA o uso de várias técnicas de caracterização combinadas para análise precisa dos NM, dos 26 artigos que fizeram parte deste estudo, cinco (19,4%) utilizaram somente uma técnica. O artigo M1 utilizou somente a técnica de espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) e os artigos M9, M21, M22 utilizaram somente a técnica de ICP-MS. No entanto, segundo Laborda et al (2016), essas técnicas usadas isoladamente não são específicas para NP, o que compromete a qualidade metodológica destes estudos, e conseqüentemente a aplicabilidade dos seus resultados.

As técnicas de espectrometria atômica como AAS, ICP-OES e ICP-MS podem ser usadas para detecção sensível de elementos químicos, porém, não são capazes de fornecer informação sobre a forma físico-química do elemento (se presente como espécie dissolvida ou em partículas), ou qualquer outra informação relacionada a NP, por exemplo, tamanho e

estado de agregação (LABORDA et al, 2016). Ainda, é preciso considerar os limites de detecção de cada uma destas técnicas: o ICP-MS oferece limites de detecção abaixo de  $\text{ng L}^{-1}$ ; o ICP-OES fornece limites de detecção no intervalo de  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; o AAS oferece um desempenho intermediário entre ICP-MS e ICP-OES (LABORDA *et al.*, 2016). Assim, o ICP-OES pode não ser apropriado para quantificar a concentração da prata migratória devido ao seu limite de detecção, como destacado no estudo M3, no qual os autores relataram que a não detecção da migração pode ter sido devida ao limite de detecção do equipamento (10 ppb).

Figura 18 - Lista das técnicas de caracterização de nanopartículas



Abreviações: Espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX); Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES); espectrometria de plasma / massa acoplada indutivamente (ICP-MS); Microscopia eletrônica (ME); Microscopia de tunelamento com varredura (STM); Microscopia eletrônica de transmissão (MET); Microscopia eletrônica de varredura (MEV), espalhamento dinâmico de luz (DLS), Área superficial específica (BET); Microscopia de Força atômica (MFA); espalhamento dinâmico de luz (DLS); Espectroscopia ordenada por difusão com ressonância magnética nuclear Ressonância Magnética Nuclear (DOSY-RMN), difração de raios-X (DRX), Fracionamento por Campo e Fluxo (FFF); espectroscopia ultrassônica (EUS), Sedimentação por centrifugação (SC); espectrometria de plasma / massa acoplada indutivamente (ICP-MS); eletroforese laser-dopler (ELD), espalhamento da luz eletroforética (ELS) cromatografia líquida (LC) e espectroscopia fotoeletrônica de raio-x (XPS).

Fonte: Da autora, 2018.

O estudo M24 também utilizou somente a técnica de MET, considerada uma das técnicas mais apropriadas para a análise de NM por permitir visualizar nanopartículas e,

portanto, para obter informações sobre seu tamanho, forma ou estado de agregação, bem como para orientar a interpretação dos resultados de outras técnicas. Porém, ela também não pode ser utilizada sozinha, principalmente em estudos de migração, pois não é adequada para detectar a migração para meios complexos como alimentos ou simuladores de alimentos (BANDYOPADHYAY; PERALTA-VIDEA; GARDEA-TORRESDEY, 2013; LABORDA *et al.*, 2016; SMITH, 2007). O estudo M24 falha também ao não informar a técnica utilizada para quantificar as NPAg no filme de LDPE.

As técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e MET podem apresentar limitações para o estudo de partículas de tamanhos muito pequenos ou em baixas concentrações (NOONAN *et al.*, 2014), sendo recomendado para caracterização de NP a associação de outras técnicas tais como, espalhamento dinâmico de luz (DLS), fracionamento por campo e fluxo assimétrico (AF4), técnicas de centrifugação e a técnica emergente de espectrometria de massa de plasma acoplado por indução de partículas únicas (sp-ICP-MS) (BANDYOPADHYAY; PERALTA-VIDEA; GARDEA-TORRESDEY, 2013).

A maioria dos artigos de migração avaliados (21; 80,7%) combinaram de 2 a 5 técnicas para caracterização da NPAg (Tabela 4), sendo que em dez estudos (M5, M6, M8, M10, M11, M12, M15, M17, M20 e M26) a técnica de ICP-MS foi utilizada para avaliar a concentração da NPAg. Apesar desta técnica ter sido bastante utilizada deve-se considerar que ela só pode determinar a concentração da Ag na forma elementar na solução de migração. Nenhuma informação sobre a forma do elemento migrado como íon, NP ou polímero contendo NP podem ser dadas. A técnica de sp-ICP-MS, utilizada nos estudos M2, M4, M18 e M19, pode, devido à sua alta sensibilidade, até certo ponto, resolver esta limitação, pois pode quantificar diretamente a proporção de íons e nanoformas de um determinado elemento em soluções de migração e fornecer distribuições de tamanho de partícula (LABORDA *et al.*, 2016). Nesses estudos, a AgNP foi encontrada tanto na forma iônica como na forma de nanopartícula, fato relevante, pois além da concentração e tamanho da NP, a composição química, a morfologia ou forma, estrutura superficial, carga superficial, a agregação e a solubilidade, e a presença ou ausência de outros grupos funcionais químicos contribuem para a toxicidade potencial de NPs (MARQUIS *et al.*, 2009; SAVOLAINEN *et al.*, 2010).

Um desafio relevante para a detecção, caracterização e quantificação de NP inorgânicas ocorre em amostras complexas, como alimentos e simuladores de alimentos, não estando completamente incorporada à análise de rotina (SINGH *et al.*, 2014). Além disso, para uma detecção inequívoca da NP em matrizes complexas, a técnica analítica deve permitir uma clara distinção ou separação de NP de outras componentes da matriz interferente. Por

exemplo, a técnica de MET fornece informações sobre a forma, tamanho e estruturas das NP e é muito útil quando a matriz é um polímero, mas não é adequada para detectar a migração para meios complexos como alimentos ou simulantes alimentares para os quais são necessárias outras técnicas, como o fracionamento por campo e fluxo assimétrico (AF4), quer acoplado a um detector de dispersão de luz de ângulo múltiplo (MALS) ou de dispersão de luz dinâmica (DLS), que permite a separação de NM de acordo com o seu tamanho e para medir com precisão as distribuições de tamanho de partícula (BANDYOPADHYAY; PERALTA-V; GARDEA-TORRESDEY, 2013; LABORDA *et al.*, 2016). Para permitir a quantificação, o AF4 pode ser associada à espectrometria de plasma de amostras acoplada indutivamente (ICP-MS) (MONTORO-BUSTOS; RUIZ-ENCINAR; SANZ-MEDEL, 2013). Entretanto, somente três estudos (11,5%, M10, M11 e M26) utilizaram o AF4-ICP-MS.

Um grande obstáculo à geração de resultados confiáveis e reproduzíveis está relacionado a falta de padrões analíticos para a NPAg. Em 2012, os padrões analíticos certificados recomendados pela OCDE eram o ouro, dióxido de titânio, nanotubos de carbono e poliestireno (ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT, 2012). A questão é ainda mais complicada pela falta de uma técnica “padrão-ouro” consistente para medir e identificar as propriedades específicas da NPAg, incluindo propriedades de massa, forma e superfície dos NM, sem contar com a grande variabilidade entre diferentes formas de produção. Esta dificuldade em quantificar e caracterizar com precisão as NPAg de forma padronizada e confiável tem impossibilitado a modelagem preditiva da migração, e a subsequente toxicidade da NPAg no meio ambiente. Estas observações deixam em aberta a questão referente a migração, pois questiona-se se a taxa de migração da NP migrada reportada nos artigos não está enviesada pelo uso de técnicas não adequadas, inexistência de padrões analíticos ou falta de métodos padronizados.

A detecção de NM em meios complexos, como alimentos e simuladores de alimentos, pode ser muito complexa (SINGH *et al.*, 2014), principalmente devido à elevada reatividade das NP que podem interagir com minerais, carboidratos e cadeias de proteínas dos alimentos em que elas estão em contato (DUDKIEWICZ *et al.*, 2011). Sendo assim, para uma detecção inequívoca de matérias em nanoescala em matrizes complexas, a técnica analítica deve permitir uma clara distinção ou separação desses NM de outros componentes da matriz interferente e este tem sido um ponto importante para a confiabilidade dos estudos de migração. Para a tomada de decisão informado dos gestores de saúde é essencial a realização de estudos com métodos experimentais cientificamente robustos, validados e padronizados. Infelizmente, a avaliação do potencial de migração e os mecanismos de difusão das NP dos

materiais de embalagem para os alimentos são áreas da nanotecnologia que não receberam a mesma atenção que áreas como nano-aerossóis (SAVOLAINEN *et al.*, 2010), nanofluidos (MOHAMMED *et al.*, 2011) e nanomedicamentos (LEHNER *et al.*, 2013).

#### 4.5.1.6 Avaliação da migração por tipo de polímero

Tradicionalmente, os materiais utilizados como embalagem eram o vidro, papel e o metal; entretanto, ao longo das últimas décadas, os polímeros substituíram os materiais convencionais em aplicações de embalagens para alimentos devido à sua funcionalidade, leveza, facilidade de processamento e custo (ARORA; PADUA, 2010; DUNCAN, 2011). Os polímeros derivados do petróleo mais utilizados nas embalagens de alimentos são o PE, o HDPE e o LDPE, o PP, o poliestireno (PS), o PVC, o policarbonato (PC) e o PET. Também são utilizados bionanocompósitos, polímeros biológicos que buscam reduzir a dependência do combustível fóssil e se movem para uma base de materiais sustentáveis. São os derivados de amido e celulose (PA), obtidos pela polimerização do ácido láctico (PLA), produzidos por uma larga variedade de bactérias a partir de materiais de reserva intracelular - polihidroxialcanoatos (PHA) e seus derivados polihidroxibutirato (PHB) e os polímeros produzidos por fermentação de carboidratos como policaprolactona (PCL) e poli(butil-succinato) (PBS) (DUNCAN, 2011; RHIM; PARK; HA, 2013).

A migração da NPAg foi avaliada em um desses tipos de polímeros em 19 estudos (73,1%; M1, M3, M5, M7, M8, M9, M12, M13, M14, M15, M16, M17, M20, M21, M22, M23, M24, M25, M26), dos quais sete (26,9%) utilizaram o PE, quatro (15,4%) PLA incorporado de nanocristais de celulose, quatro (15,4%) LDPE, dois (7,7%) PP, um (3,8%) PVC e um (3,8%) nanocompósito reforçados com montmorilonita.

Segundo Simon, Chaudhry e Bakoš (2008), em embalagem composta por um polímero com viscosidade dinâmica relativamente baixa (por exemplo, poliolefinas tais como LDPE, HDPE e PP), quanto menor for a interação entre a NP e o polímero, maior será a concentração das NP migratórias no alimento. Portanto, a liberação da NPAg pode ocorrer por difusão pelos poros da matriz, por degradação do polímero ou por uma combinação dos dois mecanismos.

A preparação de compósitos ternários com a adição de cargas inorgânicas comerciais, SiO<sub>2</sub> e TiO<sub>2</sub>, propiciam modificações químicas na matriz do nanocompósito que podem refletir em maior estabilidade térmica e resistência mecânica possibilitando uma maior dispersão da NPAg na matriz do polímero, reduzindo a taxa de migração (MAHESH *et al.*,

2014). Isto pode explicar a ausência de migração nos estudos M3 e M5, além das limitações técnicas descritas acima.

Resultados aparentemente controversos foram observados nos estudos M5, M11 e M19, nos quais foi avaliada a migração de NPAg em sacos de plástico comercial (PP) produzidos pelos mesmos fabricantes. Enquanto o M5 não observou migração, esta foi detectada nos estudos M11 e M19. Os três estudos utilizaram metodologia padronizada, porém o M5 detectou partículas com 1.000 nm, em oposição as partículas menores que 100 nm em M11 e M19. A hipótese inicial favorece a expectativa de migração uma vez que o PP, por não possuir grupos polares na sua molécula, é um dos polímeros mais hidrofóbicos, prejudicando a dispersão da NPAg na matriz polimérica, favorecendo sua migração.

A migração de compostos químicos da embalagem para os alimentos é afetada por uma série de parâmetros, incluindo a natureza e a complexidade dos alimentos, o tempo de contato e a temperatura do sistema, o tipo de camada de contato da embalagem e as propriedades dos migrantes. Portanto, não é possível avaliar a migração somente levando-se em conta essa característica do PP. O comportamento do migrante na embalagem também está associado ao processo de migração que pode ocorrer devido à dissolução oxidativa da NPAg provocada pelo pH do simulante/alimento, e pela temperatura e tempo de exposição. Sendo assim, as taxas de migração de íons Ag diminuí com o aumento do pH e aumenta com a temperatura (ECHEGOYEN; NERIN, 2013; LIU, HURT, 2010). Deste modo, no estudo M5, a exposição das amostras a condições de baixa temperatura associada ao maior tamanho das partículas, pode ter desfavorecido a migração das NPAg.

Os artigos M8, M17, M20 e M25, relataram estudos de migração utilizando nanocompósitos biodegradáveis à base de polímeros como o PLA impregnados com NPAg. Os artigos M17 e M20 adicionaram a este polímero nanocristais de celulose modificados (S-CNC), que apesar de terem melhorado a atividade antimicrobiana e o efeito de barreira do filme por reduções na permeabilidade à água e na taxa de transmissão de oxigênio, promoveram maior taxa de migração da Ag. No artigo M8, também ao biopolímero foi adicionado um outro composto, a nanofibrila de celulose (CNFs), entretanto, segundo os autores, em comparação com o filme de PLA puro, observou-se uma redução do nível de migração nos sistemas ternários PLA/CNF/Ag. Este resultado demonstra a necessidade de mais estudos de migração da NPAg, envolvendo estes sistemas de polímeros ternários, particularmente quanto ao efeito da morfologia da matriz na migração da Ag.

Dentre os artigos que avaliaram o potencial de migração da NPAg em mais de um tipo de embalagem plástica, o estudo M2 verificou que o alimento acondicionado na embalagem

de HDPE apresentou maior concentração da NPAg devido a sua migração da embalagem para a matriz alimentar, quando comparada aos alimentos acondicionado em embalagem de PE, sendo ambos os testes realizados sob as mesmas condições metodológicas. Isto indica que as propriedades de cada polímero, como exemplo, densidade, viscosidade, solubilidade, degradabilidade, resistência mecânica, comportamento de inchaço e a distribuição das nanopartículas dentro do compósito (por exemplo, ligação à superfície ou apenas na camada interna), têm influência direta no potencial de migração dos aditivos presentes nas embalagens e esta migração ocorre por difusão e segue, em geral, a lei de Fick de difusão (BEGLEY *et al.*, 2005).

O estudo M9 avaliou o efeito da adição de aditivos ao polímero de PE, os quais diminuíram a migração da NPAg. Apenas cerca de 0,15% da NPAg migrou dos compósitos com os aditivos em ácido acético a 3% após 6 dias de exposição a 70°C, enquanto cerca de 1,3% da NPAg migraram dos compósitos sem os aditivos sob a mesma condição. Considerando que a migração da NPAg tem se tornado um fator preocupante em função da lacuna do conhecimento relacionada ao seu perigo, fica evidente a necessidade de se realizar mais estudos para cada classe de aditivos e a sua contribuição para redução da migração.

O PE é um polímero quimicamente mais simples, constituído por longas cadeias do monômero eteno. A estrutura molecular dos vários tipos de polietileno varia. O LDPE é caracterizado por ramificações laterais longas que dão à resina sua combinação de flexibilidade, transparência e facilidade de processo. O HDPE tem uma estrutura mais linear de cadeias não ramificadas, conferindo alto grau de cristalinidade, permitindo um empacotamento mais denso das moléculas, resultando em um material mais denso e rígido (BHUNIA, 2013). Essa rigidez do HDPE devido a sua alta cristalinidade faz com que as embalagens tenham menor resistência à tração, potencialmente facilitando a migração provocada por pequenas fissuras na embalagem.

Além disso, em duas marcas de embalagem analisadas de PE foi verificado, além da NPAg, a presença de presença de TiO<sub>2</sub>, apesar dos fabricantes não terem declarado a presença dessas partículas no rótulo da embalagem. Conforme relatado anteriormente, a presença do TiO<sub>2</sub> pode refletir em maior estabilidade térmica e resistência mecânica possibilitando uma maior dispersão da NPAg na matriz do polímero (MAHESH *et al.*, 2014; SODOGAR *et al.*, 2013.), reduzindo com isso a taxa de migração da embalagem de PE.

No artigo M4 a caixa de PP, em todas as condições ensaiadas, apresentou maior migração da prata, na forma de NP, de 2 a 3 ordens de magnitude maior do que a mamadeira de policarbonato, ainda que o conteúdo total de prata na caixa de acondicionamento de

alimentos fosse metade do que a determinada na mamadeira. Esta observação revela que a natureza do material polimérico e/ou o procedimento utilizado para incorporar a prata no polímero plástico ou na sua superfície são fatores críticos que afetam a migração da prata a partir destes materiais. Conforme relatado nos parágrafos anteriores, NPAG não fica bem dispersa na matriz polimérica do PP, aumentando a tendência de migração da mesma.

No artigo M11 foram considerados para estudo 2 recipientes de armazenamento de alimentos de polipropileno fabricados na China e na Alemanha e três sacos plásticos de polietileno de alta densidade (HDPE) fabricados na Espanha, China e EUA, sendo que, somente os sacos plásticos fabricados nos EUA estavam rotulados como contendo NPAG. As embalagens da China e Alemanha foram estudadas, segundo os autores, pois ficou subentendido que continham NPAG, uma vez que seus rótulos indicavam propriedades antibacterianas e antimicrobianas, inibidoras do crescimento de microrganismos e capazes de prolongar a vida útil dos alimentos. A análise por ICP-MS de todas as amostras evidenciou a migração da NP somente no saco de HDPE fabricado nos EUA, sendo que para as outras amostras os resultados estavam abaixo do limite de detecção do equipamento ( $<0.03 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Entretanto, a não detecção de NPAG se opõe a propriedade antimicrobiana detectada para estas embalagens. Apesar da grande diversidade de tipos de embalagens avaliada pelos artigos elegíveis, não foi possível concluir qual tipo de polímero proporciona a maior taxa de difusão da NPAG devido à grande variabilidade de condições experimentais.

#### **4.6 Estudos de migração da NPAG como modelo de avaliação de exposição**

A Tabela 5 mostra a maior concentração da NPAG encontradas nos alimentos/simulantes em cada estudo de migração avaliado por esta RS. Apesar dos achados nestes estudos mostrarem que a concentração da NPAG que migrava para o alimento/simulante era muito pequena em termos de massa, fato este inclusive mencionado por alguns autores (CUSHEN *et al.*, 2013; ECHEGOYEN; NERÍN 2013; METAK *et al.*, 2015), muitas vezes, substâncias que são consideradas prejudiciais aos seres humanos podem não existir em doses suficientemente altas para representar um risco real para os seres humanos (HANNON *et al.*, 2015).

Tabela 5 – Maior concentração de NPAg encontrada nos estudos de migração

Código	Referência	Tamanho da NPAg	Evidência de migração	Resultado da migração
M1	FEICHTMEIER <i>et al.</i> , 2016	75 nm <sup>1</sup> ; 20 nm <sup>2</sup>	Sim	0,07 mg L <sup>-1</sup>
M2	MACKEVICA <i>et al.</i> , 2016	10-100 nm <sup>1</sup> 5-400 nm <sup>2</sup>	Sim	0,00751 mg L <sup>-1</sup>
M3	BECARO <i>et al.</i> , 2016	Não há	Não	Não detectado
M4	RAMOS <i>et al.</i> , 2016	250-500 nm <sup>1</sup> 300-900 nm <sup>2</sup>	Sim	0,062 µg dm <sup>-2</sup> Mamadeira 1,887 µg dm <sup>-2</sup> Caixa de alimento
M5	GALLOCCHIO <i>et al.</i> , 2016	1000 nm <sup>1</sup>	Não	Não detectado
M6	OZAKI <i>et al.</i> , 2016	20-100 nm <sup>1</sup> 100 nm <sup>2</sup>	Sim	0,015 mg L <sup>-1</sup>
M7	HANNON <i>et al.</i> , 2016	100-200 nm <sup>1</sup> 215-945 nm <sup>2</sup>	Sim	2,14 mg L <sup>-1</sup>
M8	YU <i>et al.</i> , 2016	15-70 nm <sup>1</sup>	Sim	46 000 mg L <sup>-1</sup>
M9	SU <i>et al.</i> , 2015	20 nm <sup>1</sup>	Sim	Filme plástico sem aditivo 14000mg L <sup>-1</sup> Filme plástico com Aditivo 2000mg L <sup>-1</sup>
M10	NTIM <i>et al.</i> , 2015	10-100 nm <sup>1</sup>	Sim	0,60 mg g <sup>-1</sup>
M11	ARTIAGA <i>et al.</i> , 2015	40-60 nm <sup>2</sup>	Sim	0,018 mg L <sup>-1</sup>
M12	METAK <i>et al.</i> , 2015	100-300 nm <sup>2</sup>	Sim	Filmes -30 µ L <sup>-1</sup> Caixa – 8,0 µg L <sup>-1</sup>
M13	ABREU <i>et al.</i> , 2015	Não há	Sim	0,7 mg g <sup>-1</sup>
M14	CUSHEN <i>et al.</i> , 2014a	8,78 nm <sup>2</sup> ; 14,3 nm <sup>2</sup> ; 66,24 nm <sup>2</sup>	Sim	5,2 mg L <sup>-1</sup>
M15	CUSHEN <i>et al.</i> , 2014b	10 nm <sup>1</sup>	Sim	5 mg L <sup>-1</sup>
M16	JOKAR; RAHMAN, 2014	18.61- 31.8 nm <sup>1</sup>	Sim	1,125 mg L <sup>-1</sup>
M17	FORTUNATI <i>et al.</i> , 2014	1-8 nm <sup>1</sup>	Sim	230 mg L <sup>-1</sup>
M18	ECHEGOYEN; NERÍN, 2013	10-200 nm <sup>2</sup>	Sim	Saco - 3,76 ng cm <sup>-2</sup> Pote 1 - 31,46 ng cm <sup>-2</sup> Pote 2 -10,16 ng cm <sup>-2</sup>
M19	VON GOETZ <i>et al.</i> , 2013	20-100 nm <sup>2</sup>	Sim	9,5 e 0,5 ng cm <sup>-2</sup>
M20	FORTUNATI <i>et al.</i> , 2013	20-80 nm <sup>1</sup>	Sim	0,27 mg L <sup>-1</sup>
M21	CUSHEN <i>et al.</i> , 2013	10 -50 nm <sup>1</sup>	Sim	0,67 mg dm <sup>-2</sup>
M22	SONG <i>et al.</i> , 2011	7 nm <sup>1</sup>	Sim	0,75 µg dm <sup>-2</sup>
M23	HUANG <i>et al.</i> , 2011	100-300 nm <sup>1</sup> 300 nm <sup>2</sup>	Sim	4,0 µg dm <sup>-2</sup>
M24	EMANIFAR <i>et al.</i> , 2011	10 nm <sup>1</sup>	Sim	0,00015 mg L <sup>-1</sup>
M25	BUSOLO <i>et al.</i> , 2010	20 nm <sup>1</sup>	Sim	6 mg L <sup>-1</sup>
M26	BOTT <i>et al.</i> , 2014	10-270 nm <sup>1</sup>	Sim	1010,9 µg dm <sup>-2</sup>

<sup>1</sup> tamanho da nanopartícula encontrada no polímero; <sup>2</sup> tamanho da nanopartícula encontrada no simulante/alimento.

Fonte: Da autora, 2018

Considerando que as NPAg tendem a ser liberadas da embalagem para matriz alimentar, torna-se necessário adotar estratégias para quantificar o risco da exposição dos seres humanos. Uma forma de quantificar este risco da exposição as NP é através de modelos matemáticos de exposição. Usando os resultados dos estudos de migração de NP como uma entrada para um modelo de exposição, o risco associado a NPAg pode ser previsto com base no cenário em torno do seu uso (CUSHEN *et al.*, 2013).

Dois cenários comuns são frequentemente utilizados para a exposição humana às NP presentes nos produtos de consumo, o pior cenário e o cenário mais provável (CUSHEN *et al.*, 2013). O pior cenário é um valor de exposição com base na ingestão mais provável de uma substância obtida a partir de estudos de migração e dados de pesquisa. O cenário mais provável envolve a maior exposição às NP presentes em produtos de consumo, com base em dados exagerados de migração e consumo (CUSHEN *et al.*, 2013).

Para produzir um modelo de exposição humana, estudos de toxicidade adequados, estudos de migração e dados de consumo devem estar disponíveis. Apesar do crescente número de estudos de migração da NPAg, apenas três estudos apresentaram modelos de exposição humana quantificando o risco para seres humanos de exposição oral as NPAg que migraram de embalagens de alimentos (CUSHEN *et al.*, 2013, 2014b; VON GOETZ *et al.*, 2013).

Dada a proporção desigual dos estudos de migração (26) para as avaliações de exposição humana (3), pode-se observar que é necessário colocar mais ênfase na apresentação de dados de exposição abrangentes que possam gerar informações precisas para elaboração de políticas governamentais de segurança da saúde pública sendo importantes como ferramentas para tomada de decisões no âmbito governamental, para a implantação de medidas de fiscalização e regulação sanitárias.

#### **4.7 Avaliação dos riscos de exposição à NPAg**

Os avanços nas áreas de nanociência e nanotecnologia resultaram em uma infinidade de possibilidades para aplicações de produtos de consumo, muitas dos quais já migraram das bancadas de laboratório para as prateleiras das lojas e para os sítios de comércio eletrônico (VANCE *et al.*, 2015). Produtos contendo NPAg já fazem parte do nosso cotidiano, mesmo que os riscos associados a exta exposição ainda não sejam bem conhecidos. No Brasil, a Agrindus, empresa agropecuária situada em São Carlos (SP), comercializa leite fresco pasteurizado tipo A, com a marca Letti, em embalagens plásticas contendo NPAg, com a

finalidade de aumentar o prazo de validade do leite de 7 para 15 dias, graças ao efeito bactericida da NPAg (FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2015). A fabricante brasileira de embalagens para alimento (AlpFilm) comercializa um filme de PVC esticável, transparente contendo NPAg incorporada ao polímero visando conferir maior durabilidade para o alimento. Esta embalagem já está disponível no mercado e pode ser adquirida pela internet (ALPFILM, 2016). Outros países, como EUA, Coreia e China também produzem e comercializam embalagens contendo NPAg, conforme mostra a Tabela 6 (PEN, 2018).

Tabela 6 – Países fabricantes de embalagens contendo NPAg

<b>País</b>	<b>Fabricante</b>	<b>Produto contendo NPAg</b>
<b>EUA</b>	<i>BlueMoonGoods<sup>TM</sup></i>	<i>Fresh Box<sup>®</sup> food storage containers</i>
<b>EUA</b>	<i>SharperImage<sup>®</sup></i>	<i>FresherLonger<sup>TM</sup> containers &amp; bags</i>
<b>EUA</b>	<i>Oso Fresh</i>	<i>Fresh food container</i>
<b>EUA</b>	<i>Kinetic Go Green</i>	<i>Smartwist food Storage with nano-silver</i>
<b>Coreia</b>	<i>Changmin Chemicals</i>	<i>Nano-silver salad bowl</i>
<b>Coreia</b>	<i>A-Do Global</i>	<i>Plastic food containers &amp; water e bottle</i>
<b>Coreia</b>	<i>Baby Dream<sup>®</sup> Co., Ltd.</i>	<i>Nano Silver Baby Mug Cup &amp; Nurser</i>
<b>China</b>	<i>Quan Zhou Hu Zeng Nano Technology<sup>®</sup> Co., Ltd</i>	<i>Nano-silver storage box</i>

Fonte: HANNON *et al.*, 2015, PEN, 2018.

Vale ressaltar que a embalagem contendo NPAg produzida pela empresa Coreana *Nano Silver Baby Mug Cup & Nurser*, é uma mamadeira com bico, onde ambos contêm NPAg (PEN, 2018). Considerando que dois estudos avaliados por esta RS (M4 e M10) detectaram migração de NPAg em mamadeiras e retomando às questões dos riscos, fica claro que a exposição a NPAg está ocorrendo não só na vida adulta, como também na infância sem o conhecimento das consequências desta exposição precoce.

Diante destas incertezas referentes aos riscos associados à exposição à NPAg, várias lacunas do conhecimento sobre o risco causado pela Ag na forma de NP, tanto para os humanos como para o meio ambiente persistem (WIJNHOVEN *et al.*, 2009). Isto porque nos últimos anos, devido a sua propriedade antimicrobiana única e a possibilidade de ganhos na ordem de bilhões de dólares com a comercialização de produtos de consumo que incorporem a NPAg nas suas formulações, as pesquisas relacionadas à sua aplicação comercial ganharam

atenção mais significativa do que estudos que avaliassem a possível exposição a esta NP e os seus potenciais efeitos tóxicos na saúde humana (CALDERÓN-JIMÉNEZ *et al.*, 2017; DOS SANTOS *et al.*, 2014), ficando em aberto o potencial impacto na Saúde Pública (ASHARANI *et al.*, 2008).

Dessa forma, para que haja segurança na utilização das NPAg é necessário que se faça uma avaliação de risco dessa tecnologia sobre a saúde humana, onde todos os riscos associados devem ser claramente comunicados de forma que os consumidores possam tomar uma decisão com base nas informações fornecidas pelos estudos de migração desta NP. Para isso é necessário que estes estudos experimentais consigam responder de forma precisa a questão norteadora desta RS.

## 5 CONCLUSÕES

Por meio deste estudo de revisão sistemática avaliou-se estudos primários que investigaram a capacidade de migração da NPAg de embalagem de acondicionamento para os alimentos, onde foi possível constatar que:

- Desde 2010 existem publicações de artigos abordando a temática de migração de NPAg, e essas aumentaram com o passar dos anos, principalmente devido ao avanço da área de Nanotecnologia o que resultou na ampla utilização da NPAg como agente antimicrobiano em produtos de consumo, tais como em embalagens de alimentos;
- Dos 26 artigos primários que fizeram parte desta RS, somente dois (7,6%) (M3 e M5) não evidenciaram a migração, entretanto, foram identificadas deficiências metodológicas em todos estudos avaliados, demonstrando a necessidade de padronizar estudos futuros sobre migração de NP;
- As inconsistências verificadas nos estudos primários foram: (i) deficiências no planejamento e execução das técnicas analíticas para extração (tempo, temperatura, tipo de simulante/alimento); (ii) ausência de validação dos métodos analíticos utilizados; (iii) pouco conhecimento dos autores sobre os diversos tipos de polímeros e (iv) deficiências na caracterização da NPAg;
- Apesar da grande diversidade de tipos de embalagens avaliada nos artigos elegíveis, não foi possível concluir qual tipo de polímero promove maior taxa de difusão da NPAg devido à grande variabilidade metodológica utilizada, aumentando o viés e indicando a necessidade de estudos padronizados para a análise da presença e migração da NPAg;
- Embora esteja preconizado pelos Guias da OECD, FDA e EFSA o uso de várias técnicas de caracterização combinadas para análise precisa dos nanomateriais, dos 26 artigos que fizeram parte deste estudo, cinco (19,4%) utilizaram somente uma técnica e 21 (80,7%) combinaram de 2 a 5 técnicas para caracterização da NPAg. Um outro grande obstáculo à geração de resultados confiáveis e reprodutíveis está relacionado a falta de padrões analíticos, para a NPAg. Estas observações deixam em aberta a questão referente à migração. Portanto, será que realmente a taxa de migração da NP encontrada pelos autores corresponde a taxa real? Ou, devido ao uso de técnicas não adequadas, inexistência de padrões analíticos e falta de métodos padronizados estas concentrações foram subdimensionadas?;

- Apesar das deficiências metodológicas identificadas nos estudos primários, algumas evidências importantes sobre o comportamento das NPAg foram identificadas, como: maior tendência de migração da NPAg em pH ácido devido à taxa de oxidação mais elevado de prata elementar em íons Ag neste meio e maior taxa de migração em embalagens contendo NPAg aquecidas em micro-ondas, em virtude da energia do micro-ondas alterar a ordem da estrutura polimérica, facilitando o desprendimento da NPAg;
- Para que a questão a respeito da capacidade de migração da NPAg seja respondida de forma inquestionável, é necessária a criação de um protocolo padronizado que deve ser seguido pelos futuros estudos de migração, incluindo a caracterização da NP na embalagem e no alimento utilizando técnicas adequadas, avaliação do comportamento da NP em diferentes tipos de alimentos/simulantes, verificação da capacidade de migração da NP em diferentes tempo, temperatura e tipo de embalagem, validação dos métodos utilizados e utilização de padrão de referência. Tal providência, certamente, assegurará maior êxito na construção de estudos científicos sobre migração, que de forma efetiva, servirão de apoio à tomada de decisão dos profissionais e gestores públicos. Sendo assim, teremos pesquisas com metodologias adequadas gerando resultados confiáveis, fornecendo subsídios concretos para o processo de tomada de decisão dos órgãos regulatórios nacionais e internacionais;
- Apesar dos resultados deste estudo não terem sido conclusivos quanto ao aspecto relacionado à migração da NPAg, não significa que essas NP não sejam capazes de migrar e, portanto, não há segurança no seu uso, pois, pouco se conhece sobre os riscos associados à exposição a NPAg à saúde humana. Fica evidente a necessidade de uma avaliação adequada dos efeitos a longo prazo da exposição de NPAg na fisiologia humana, sobretudo se levado em consideração o rápido aumento da comercialização de produtos contendo NPAg. Portanto, ao analisarmos esta discrepância, observamos o não cumprimento do princípio da precaução, que deve ser adotado para as situações de incerteza científica, quando há riscos de uma atividade ou riscos associados ao uso de um produto. Tal fato demonstra a necessidade de se intensificar os estudos de toxicidade, principalmente *in vivo*, onde pouco tem sido publicado a respeito dos potenciais mecanismos de toxicidade das NPAg;
- Na ausência de um marco regulatório, diante deste cenário de incertezas, é crucial uma avaliação do risco relacionado à exposição oral à NPAg. Estudos de toxicidade *in vitro*,

mostram a existência de risco associado a esta possível exposição à NPAg, devido ao seu potencial citotóxico e genotóxico, associado ao dano no DNA, apoptose e necrose, cujo principal mecanismo de ação parece envolver a liberação exacerbada de espécies reativas de oxigênio (ROS);

- A crescente aplicação da NPAg, principalmente na indústria de embalagens de alimentos, indica que a exposição humana à esta NP é bastante relevante e a falta de regulamentação deste produto representa um grande desafio para as autoridades sanitárias.

## REFERÊNCIAS

ABREU, A. S. *et al.* Antimicrobial nanostructured starch based films for packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 129, p. 127-134, 2015.

AIASSA, E. *et al.* Applicability and feasibility of systematic review for performing evidence-based risk assessment in food and feed safety. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.55, n.7, p. 1026-1034.

ALLAN, J. **Development of international standards for nanotechnologies**: Secondary Information Committee [Internet]. Australia, 2012. Disponível em: <http://www.standards.org.au/OurOrganisation/vents/Documents/Nanotechnology%20Forum%20-%20Presentation%2011%20-%20Jeremy%20Allan.pdf>. Acesso em: 06 maio 2016.

ALMEIDA, A. C. S. *et al.* Aplicação de nanotecnologia em embalagens de alimentos. **Polímeros**, v. 25, n.spe, p. 89-97, 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Diretrizes para o gerenciamento do risco em farmacovigilância**. 2008. Disponível em: [portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p\\_p\\_id=101&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=maximized&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-1&p\\_p\\_col\\_count=1&\\_101\\_struts\\_action=%2Fasset\\_publisher%2Fview\\_content&\\_101\\_assetEntryId=2893762&\\_101\\_type=document](http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2893762&_101_type=document). Acesso em: 19 mar. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 41, de 16 de setembro de 2011. Dispõe sobre a proibição de uso de bisfenol A em mamadeiras destinadas a alimentação de lactentes e dá outras providências. 2011. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/25d16c804d8b6cc6aa5aebc116238c3b/ALIMENTOS+Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n.41\\_2011+Proibi%C3%A7%C3%A3o+de+amadeiras+com+BPA.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/25d16c804d8b6cc6aa5aebc116238c3b/ALIMENTOS+Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n.41_2011+Proibi%C3%A7%C3%A3o+de+amadeiras+com+BPA.pdf?MOD=AJPERES). Acesso em: 23 mar. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução RDC nº 56, de 16 de novembro de 2012. Dispõe sobre a lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 11 nov. 2012b.

AGUILAR, Z. P. Nanotoxicology and Remediation. *In*: AGUILAR, Z. P. **Nanomaterials for medical applications**. Oxford: Elsevier, 2013. Ch. 8, p. 361–408.

ALPFILM. **Filme PVC ALPFILM PROTECT – Profissional**. 2016. Disponível em: <http://www.alpfilm.com.br/filme-pvc-profissional.php>. Acesso em: 12 jun. 2016.

ANTONIOLLI, J. V. **Desastre farmacêutico nos EUA**: análise da conduta da corporação Merck no caso Vioxx (1996 - 2004). 2010. 44 f. Monografia (Trabalho de Conclusão do Curso de Licenciatura em História) – Instituto de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2010.

AMERICAN SOCIETY OF TESTING AND MATERIALS. **E 2456-06**: terminology for Nanotechnology. West Conshohocken, USA: ASTM, 2008.

ARORA, S. *et al.* Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 236, n. 3, p. 310-318, 2009.

ARORA, A.; PADUA, G. W. Review: nanocomposites in food packaging. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 1, p. 43-49, 2010.

ARTIAGA, G. *et al.* Migration and characterisation of nanosilver from food containers by AF4-ICP-MS. **Food Chemistry**, v. 166, p. 76–85, 2015.

ASHARANI, P. V. *et al.* Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. **Nanotechnology**, v. 19, n. 25, p. 255102, 2008.

ASHARANI, P. V. *et al.* Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. **ACS Nano**, v.3 , n. 2, p. 279-290, 2009.

ASSIS, L. M. *et al.* Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99-109, 2012.

ATALLAH, A. N.; CASTRO, A. A. Revisão sistemática da literatura e metanálise. *In*: ATALLAH, A. N.; CASTRO, A. A. **Medicina baseada em evidências**. São Paulo: Lemos-Editorial, 1998. p. 40-47.

AVELLA, M. *et al.* Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. **Food Chemistry**, v. 93, n. 3, p. 467-474, 2005.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; BRITO, E. S. Embalagens e estabilidade de alimentos. *In*: AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 195p.

BAILEY, J.; THEW, M.; BALLS, M. Predicting human drug toxicity and safety via animal tests: Can any one species predict drug toxicity in any other, and do monkeys help? **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 43, n. 6, p. 393–403, 2015.

BALLS, M. Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing. **Laboratory Animals**, v. 28, n. 3, p. 193-211, 1994.

BANDYOPADHYAY, S.; PERALTA-VIDEA, J. R.; GARDEA-TORRESDEY, J. L. Advanced analytical techniques for the measurement of nanomaterials in food and agricultural samples: A review. **Environmental Engineering Science**, v. 30, n. 3, p.118-125, 2013.

BARBOSA, A. O. **Risco, vigilância e segurança sanitária**: desafios à proteção da saúde. 2006. 100 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Comunitária) – Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

BARNES, K. A; SINCLAIR, C. R; WATSON, D. H. **Chemical migration and food contact materials**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2007. 480 p.

BARROS, S. B. M; DAVINO, S. C. Avaliação da toxicidade. *In*: OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 57-68.

BARROS, H. D. **Estudo da exposição do consumidor aos plastificantes ftalato e adipato de di-(2-etil-hexila) adicionados a filmes de PVC, utilizados para acondicionamento de alimentos Gordurosos**. 2010. 79 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010.

BATISTA, A. J. S.; PEPE, V. L. E. Os desafios da nanotecnologia para a vigilância sanitária de medicamentos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 19, n. 7, p. 2105-2114, 2014.

BECARO, A. A. *et al.* Postharvest quality of fresh-cut carrots packaged in plastic films containing silver nanoparticles. **Food Bioprocess Technology**, v. 9, n. 4, p. 637–64, 2016.

BECK, U. **Risk society. Towards a new modernity**. Londres: Sage Publications, 1992. 260 p.

BEGLEY T. *et al.* Evaluation of migration models that might be used in support of regulations for food-contact plastics. **Food Additives & Contaminants**, v. 22, n. 1, p. 73–90, 2005.

BENNETT, S.; BENNETT, J. W. The process of evidence-based practice in occupational therapy: Informing clinical decisions. **Australian Occupational Therapy Journal**, v. 47, p. 171-80, 2000.

BEREKAA, M. M. Nanotechnology in Food Industry; Advances in Food processing, Packaging and Food Safety. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v.4, n. 5, p. 345-357, 2015.

BERGESON, L. L. Belgium Publishes Decree on the Nanomaterial Register. **NANOLEI**, 2017. Disponível em: <http://nanolei.blogspot.com.br/2014/10/belgiumpublishes-decree-on.html#uds-search-results>. Acesso em: 15 mar. 2017.

BERNARDO, P. E. M. *et al.* Bisfenol A: o uso em embalagens para alimentos, exposição e toxicidade – Uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 74, n. 1, p. 1-11, 2015.

BIRNBAUM, L. S.; THAYER, K. A., BUCHER, J. R.; WOLFE, M. S. Implementing systematic review at the National Toxicology Program: Status and next steps. **Environmental Health Perspectives**, v. 121, n. 4, p. A108–A109, 2013.

BOTT, J., STOERMER, A., FRANZ, R. A comprehensive study into the migration potential of nano silver particles from food contact polyolefins. *In*: BENVENUTO, Mark A. *et al.* (ed.). **Chemistry of food, food supplements, and food contact materials: from production to plate**. Washington (DC): American Chemical Society, 2014 p. 51–70.

BOUZA, C.; MUÑOZ, A.; AMATE, J. M. Efficacy of modern dressings in the treatment of leg ulcers: A systematic review. **Wound Repair Regeneration**, v. 13, n. 3, p. 218-229, 2005.

BOVERHOF, D. R. Comparative assessment of nanomaterial definitions and safety evaluation considerations. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. v. 73, n. 1, p. 137-150, 2015.

BRIGHT SIDE. 6 Incredible technologies of the past whose secrets are lost. **Bright Side**, 2018. Disponível em: <https://brightside.me/wonder-curiosities/6-incredible-technologies-of-the-past-whose-secrets-are-lost-338810/>. Acesso em: 19 mar. 2018.

BRANDÃO, H. M. *et al.* Nanotecnologia: A próxima revolução na agropecuária. **Revista - Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v. 17, n. 53, p. 61-67, 2011.

BRASIL. AGÊNCIA BRASILEIRA DE DESENVOLVIMENTO INDUSTRIAL. **Estudo prospectivo nanotecnologia**. Brasília: IBDI, 2010a. 394 p.

BRASIL. Congresso Nacional. Câmara dos Deputados. **Projeto de Lei nº 5.076/2005**. Dispõe sobre a pesquisa e o uso da nanotecnologia no País, cria Comissão Técnica Nacional de Nanosseguurança -CTNano, institui Fundo de Desenvolvimento de Nanotecnologia - FDNano, e dá outras providências. 2005b. Disponível em: [http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop\\_mostrarintegra;jsessionid=66796628BA9A9F732B3E136277CAB410.node2?codteor=337343&filename=Avulso+-PL+5076/2005](http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/prop_mostrarintegra;jsessionid=66796628BA9A9F732B3E136277CAB410.node2?codteor=337343&filename=Avulso+-PL+5076/2005). Acesso em: 02 mar. 2018.

BRASIL. Congresso Nacional. Câmara dos Deputados. **Projeto de Lei nº 5.133/2013**. Regulamenta a rotulagem de produtos da nanotecnologia e de produtos que fazem uso da nanotecnologia, 2013a. Disponível em: <http://www.camara.gov.br/sileg/integras/1072316.pdf>. Acesso em: 19 mar. 2018.

BRASIL. Congresso Nacional. Câmara dos Deputados. **Projeto de Lei nº 6.741/2013**. Dispõe sobre a Política Nacional de Nanotecnologia, a pesquisa, a produção, o destino de rejeitos e o uso da nanotecnologia no país, e dá outras providências, 2013b. Disponível em: <http://www.camara.gov.br/proposicoesWeb/fichadetramitacao?idProposicao=600333>. Acesso em: 19 mar. 2018.

BRASIL. Congresso Nacional. Senado Federal. **Projeto de Lei do Senado nº 131/2010**. Altera o Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969, que institui normas básicas sobre alimentos, e a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências, para determinar que rótulos, embalagens, etiquetas, bulas e materiais publicitários de produtos elaborados com recurso à nanotecnologia contenham informação sobre esse fato. 2010b. Disponível em: [http://www.senado.gov.br/atividade/materia/detalhes.asp?p\\_cod\\_mate=96840](http://www.senado.gov.br/atividade/materia/detalhes.asp?p_cod_mate=96840). Acesso em: 19 mar. 2018.

BRASIL. Constituição da República Federativa do Brasil. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 05 out. 1988.

BRASIL. Decreto nº 3.029, de 16 de abril de 1999. Aprova o Regulamento da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 abr. 1999b.

BRASIL. Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, estabelece as normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria-Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais - CIUCA, mediante a regulamentação da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 jul. 2009b.

BRASIL. Decreto-lei nº 212, de 27 de fevereiro de 1967. Dispõe sobre Medidas de Segurança Sanitária do País. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 1967.

BRASIL. Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos, e dá outras Providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 set. 1976.

BRASIL. Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990. Código de Defesa do Consumidor. Dispõe sobre a proteção do consumidor e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 set. 1990b.

BRASIL. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 set. 1990a.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 11 fev. 1999a.

BRASIL. Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados – OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança – CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança – CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança – PNB, revoga a Lei nº 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória nº 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5o, 6o, 7o, 8o, 9o, 10 e 16 da Lei nº 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, DF, Brasília, 28 mar. 2005a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes metodológicas**: elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos observacionais comparativos sobre fatores de risco de prognóstico. Brasília, DF: MS, 2014.

BRASIL. Portaria nº 491, de 03 de julho de 2012. Institui a Rede Nacional de Métodos Alternativos - Renama e sua estrutura no âmbito do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação - MCTI, que será supervisionada por um Conselho Diretor. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 05 jul. 2012a.

BRASIL. Resolução RDC nº 04, de 10 de fevereiro de 2009. Dispõe sobre as normas de farmacovigilância para os detentores de registro de medicamentos de uso humano **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 11 fev. 2009a.

BRASIL. Resolução RDC nº 51, de 26 de novembro de 2010. Dispõe sobre migração em materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 2010b.

BRASIL. Resolução nº 91, de 11 de maio de 2001. Critérios gerais e classificação de materiais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 maio 2001.

BREAKWELL, G. M. Risk communication: factors affecting impact. **British Medical Bulletin**, v. 56, n. 1, p. 110-120, 2000.

BRITISH STANDARDS INSTITUTION. **PAS 136**: terminology for nanomaterials. London: BSI, 2007. Disponível em: <http://shop.bsigroup.com/upload/Shop/Download/Nano/PAS136.pdf>. Acesso em: 30 mar. 2018.

BRUNEAU, A. *et al.* Fate of silver nanoparticles in wastewater and immunotoxic effects on rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, 174, p. 70-81, 2016.

BUMBUDSANPHAROKÉ, N.; KO, S. Packaging: nano-food: An overview of market, migration research, and safety regulations. **Journal of Food Science**, v. 80, n. 5, p. 910-923, 2015.

BUMBUDSANPHAROKÉ, N.; CHOI, J.; KO, S. Applications of nanomaterials in food packaging. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 15, n. 9, p. 6357-6372, 2015.

BURCZA, A. *et al.* Impact of surface coating and food-mimicking media on nanosilver-protein interaction. **Journal of Nanoparticle Research**, v.17, p. 428, 2015.

BUSOLO, M. A. *et al.* 2010. Novel silver-based nanoclay as an antimicrobial in polylactic acid food packaging coatings. **Journal Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 2, p.1617–1626, 2010.

CALDERÓN-JIMÉNEZ, B. *et al.* Silver nanoparticles: Technological advances, societal impacts, and metrological challenges. **Front Chem.**, v. 5, n. 6, p. 1-26, 2017.

CARBONE, M. *et al.* Silver nanoparticles in polymeric matrices for fresh food packaging. **Journal of King Saud University – Science**, v. 28, n. 4, p. 273-279, 2016.

CAZARIN, K. C. C.; CORRÊA, C. L.; ZAMBRONE, F. A. D. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, p. 289-299. 2004.

CERQUEIRA, N. Métodos alternativos ainda são poucos e não substituem totalmente o uso de animais. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 60, n. 2, p. 47-49, 2008.

CHALMERS, I.; GLASZIOU, P. Avoidable waste in the production and reporting of research evidence. **Lancet**, v. 374, n. 9683, p. 86–89, 2009.

CONSUMER NEWS AND BUSINESS CHANNEL. Global nano-enabled packaging market for food and beverages industry will reach \$15.0 billion in 2020: Persistence market research. **CNBC Website**, 2014. Disponível em: <http://www.cnbc.com/id/102011212> . Acesso em: 22 abr. 2016.

COSTA, E. A. **Vigilância sanitária: proteção e defesa da saúde**. São Paulo: Hucitec, Sobravime; 1999.

COSTA, E. A.; ROZENFELD, S. Constituição da vigilância sanitária no Brasil. *In*: ROZENFELD, S. **Fundamentos da Vigilância Sanitária**. 20. ed. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 2000, p. 15-40.

COSTA, E. A. (org.). **Vigilância sanitária: temas para debate**. Salvador: EDUFBA, 2009. 237 p. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/6bmrk/pdf/costa-9788523208813.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2018.

CHAUDHRY, Q. *et al.* Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. **Food Additives and Contaminants**, v. 25, n. 3, p. 241-258, 2008.

CHAUDHRY, Q.; WATKINS, R.; CASTLE, L. Nanotechnologies in the food arena: New opportunities, new questions, new concerns. *In*: CHAUDHRY, Q.; CASTLE, L; WATKINS, R. (eds.). **Nanotechnologies in Food**. York: Royal Society of Chemistry, 2010. p. 1-17. (RSC Nanoscience & Nanotechnology, n. 14).

COCHRANE. **Cochrane handbook for systematic reviews of interventions 4.2.5**, 2006. Disponível em: [http://http://handbook.cochrane.org/v5.0.2/](http://handbook.cochrane.org/v5.0.2/). Acesso em: 01 maio 2016.

COLLINS, F. S.; GRAY, G. M.; BUCHER, J. R. Transforming environmental health protection. **Science**, v. 319, n. 5865, p. 906-907, 2008.

CUSHEN, M. *et al.* Silver migration from nanosilver and a commercially available zeolite filler polyethylene composites to food simulants. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 31, n. 6, p. 1132–1140, 2014a.

CUSHEN, M. *et al.* Evaluation and simulation of silver and copper nanoparticle migration from polyethylene nanocomposites to food and an associated exposure assessment. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 6, p. 1403–1411, 2014b.

CUSHEN, M. *et al.* Migration and exposure assessment of silver from a PVC nanocomposite. **Food Chemistry**, v. 139, n. 1-4, p. 389–397, 2013.

DAMASCENO, J. C. *et al.* Nanometrologia – desafios para a regulação sanitária. **Visa em Debate**, v.1, n. 4, p.104-114, 2013.

DALLARI, S. G.; VENTURA, D. F. L. O princípio da precaução: dever do Estado ou protecionismo disfarçado? **São Paulo em Perspectiva**, v. 16, n. 2, p. 53-63, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/spp/v16n2/12111.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2017.

DAMM, C.; NEUMANN, M.; MUSTEDT, H. Proprieties of nanosilver coatings on polymethyl methacrylate. **Chemical Communications**, v. 3, n. 2-3, p. 71-82, 2006.

DANILCAUK, M. *et al.* Conduction electron spin resonance of small silver particles. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.**, v. 63, n. 1, p. 189-191, 2009.

DEARDEN, J. C. *et al.* The development and validation of expert systems for predicting toxicity. The report and recommendations of an ECVAM/ECB workshop (ECVAM workshop 24). **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 25, p. 223-252, 1997.

DEEKS, J. J. *et al.* Evaluating non-randomised intervention studies. **Health Technology Assessment**, v. 7, n. 27, p. 1-173, 2003

DE GROOT, A. S; McMURRY, J.; MOISE, L. Prediction of immunogenicity: in silico paradigms, ex vivo and in vivo correlates. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 8, n. 5, p. 620-626, 2008.

DENNY, K. H.; STEWART, C. W. Acute, subacute, subchronic, and chronic general toxicity testing for preclinical drug development. *In*: ALI SAID FAQI, A. S. (ed.). **A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development**. 2. ed. Boston: Academic Press, 2017. p. 109-127.

DELGADO, I. F.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Desafios atuais da pesquisa em toxicologia: Avaliação da toxicidade de nanomateriais manufaturados para o desenvolvimento. **Visa em Debate**, v. 1, n. 4, p. 11-24, 2013.

DEWHURST, D. *et al.* Creating computer-assisted alternatives using a sustainable learning objects approach. **ALTEX - Alternatives to Animal Experimentation**, v. 23, Suppl., p. 54-7, 2006.

DERELANKO, M. J.; HOLLINGER, M. A. **CRC Handbook of Toxicology**. Boca Raton: CRC Press, 1995. 948 p.

DIMER, F. A. *et al.* Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1520-1526, 2013.

DONG, X. *et al.* Synthesis of triangular silver nanoprisms by stepwise reduction of sodium borohydride and trisodium citrate. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 5, p. 2070-2074, 2010.

DOS SANTOS, C. A. *et al.* Silver nanoparticles: Therapeutical uses, toxicity, and safety issues. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 7, p. 1931-1944, 2014.

DOWNS, S. H., BLACK, N. The feasibility of creating a checklist for the assessment of the methodological quality both of randomised and non-randomised studies of health care interventions. **Journal Epidemiol Community Health**, v. 52, n. 6, p.:377-84, 1998.

DREXLER, K. E. Nanotechnology: The past and the future. **Science**, v. 255, n. 5042, p. 268-269, 1992.

DUDKIEWICZ, A. *et al.* Characterization of nanomaterials in food by electron microscopy. **Trends in Analytical Chemistry**, v.30, n.1, p.28-43, 2011.

DUNCAN, T. V. Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 363, n. 1, p. 1-24, 2011, 2011.

DUNCAN, T. V.; PILLAI, K. Release of engineered nanomaterials from polymer nanocomposites: Diffusion, dissolution, and desorption. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v.7, n.1, p. 2–19, 2015.

EMAMIFAR, A. *et al.* Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. **Food Control**, v.22, p.408-413, 2011.

ENGELMANN, W.; ALDROVANDI, A.; BERGER FILHO, A. G. Perspectivas para a regulação das nanotecnologias aplicadas a alimentos e biocombustíveis. **Visa em Debate**, v. 1, n. 4, p. 115-127, 2013.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Nanoscale materials stewardship program: Interim report**. Washington: EPA; 2009. Disponível em: <http://www.epa.gov/oppt/nano/nmsp-interim-report-final.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2015.

EUROPEAN COMMISSION. Council Directive 82/711/EEC of 18 October 1982 laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs, 1982. **Official Journal of the European Union**, 297, p. 26–30, 1982.

EUROPEAN COMMISSION. Council Directive 85/572/EEC of 19 December 1985 laying down the list of simulants to be used for testing migration of constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs, 1985. **Official Journal of the European Union**, 372, p.14–21, 1985.

EUROPEAN COMMISSION. Commission directive 97/48/EC: basic rules for overall and specific migration testing. **Official Journal of the European Union**, L 222/10, 1997.

EUROPEAN COMMISSION. Regulation (EC) N° 882/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules. **Official Journal of the European Union**, L 165/1, 2004.

EUROPEAN COMMISSION. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and

Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC. **Official Journal of the European Union**, L.396, p.1-849, 2006.

EUROPEAN COMMISSION. **Commission Recommendation of 07/02/2008 on a code of conduct for responsible nanosciences and nanotechnologies research** [Internet]. Brussels: EU; 2008. Disponível em: [http://ec.europa.eu/nanotechnology/pdf/nanocode-rec\\_pe0894c\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/nanotechnology/pdf/nanocode-rec_pe0894c_en.pdf). Acesso em: 11 nov. 2015.

EUROPEAN COMMISSION. Bisphenol A: EU ban on baby bottles to enter into force tomorrow. Brussels, 2011a. Disponível em: [http://europa.eu/rapid/press-release\\_IP-11-664\\_en.htm](http://europa.eu/rapid/press-release_IP-11-664_en.htm). Acesso em 23 mar. 2018.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Directive 2011/8/EU of 28 January 2011, amending Directive 2002/72/EC as regards the restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles, Directive 2011/8/EU. **Official Journal of the European Union**, 28 jan. 2011b. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:026:0011:0014:EN:PDF>. Acesso em: 23 mar. 2018.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Regulation (EU) 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. **Official Journal of the European Union**, 54: L12, 2011d.

EUROPEAN COMMISSION. Regulamento (UE) n° 1169/2011 do parlamento europeu e do conselho de 25 de outubro de 2011, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, que altera os Regulamentos (CE) n° 1924/2006 e (CE) n° 1925/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho e revoga as Directivas 87/250/CEE da Comissão, 90/496/CEE do Conselho, 1999/10/CE da Comissão, 2000/13/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, 2002/67/CE e 2008/5/CE da Comissão e o Regulamento (CE) n° 608/2004 da Comissão. **Official Journal of the European Union**, L. 304/18, 2011e.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORIT. Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making. **EFSA Journal**, v.8, n.6, p.1637-1726, 2010.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Guidance on the risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain. **EFSA Journal**, v. 9, n. 5, p. 2140–2176, 2011.

ECHEGOYEN, Y.; NERÍN, C. Nanoparticle release from nano-silver antimicrobial food containers. **Food and Chemical Toxicology**, v. 62, p.16–22, 2013.

EMAMIFAR A. *et al.* Effect of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on inactivation of *Lactobacillus plantarum* in orange juice. **Food Control**, v. 22, n. 3-4, p. 408-413, 2011a.

EMAMIFAR, A. *et al.* Evaluation of nanocomposites packaging containing Ag and ZnO on shelf-life of fresh orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 742–748, 2011b.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Background for Advancing Systematic Review Workshop**. 2015a. Disponível em: <http://www2.epa.gov/iris/advancing-systematic-review-workshop-december-2015#background>. Acesso em: 22 mar. 2018.

ESTADOS UNIDOS. Environmental Protection Agency. **Systematic Review Workshop Materials**. 2015b. Disponível em: <http://www.epa.gov/iris/systematic-review-workshop-materials>. Acesso em: 22 mar. 2018.

ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration. **Guidance for Industry: preparation of premarket submissions for food contact substances: chemistry recommendations**. 2007.

Disponível em:

<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/ucm081818.htm>. Acesso em: 07 maio 2017.

ESTADOS UNIDOS. Food and Drug Administration. **Guidance for industry: assessing the effects of significant manufacturing process changes, including emerging technologies on the safety and regulatory status of food ingredients and food contact substances, including food ingredients that are color additives**. 2014. Disponível em:

<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/ucm300661.htm>. Acesso em: 20 jul. 2017.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Committee for Medicinal Products for Human Use. **Reflection paper on nanotechnology-based medicinal products for human use**. 2006.

Disponível em: [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Regulatory\\_and\\_procedural\\_guideline/2010/01/WC500069728.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2010/01/WC500069728.pdf). Acesso em: 30 mar. 2018.

ESTEVEES, A. A. *et al.* Migração dos plastificantes adipatos e ftalatos de di-(2-etil-hexila) utilizados em filmes flexíveis de poli (cloreto de vinila) PVC que acondicionam alimentos gordurosos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 20, n. 139, 2006.

EUROPEAN CENTRE FOR THE VALIDATION OF ALTERNATIVE METHODS. **The SIS databases provide factual information on alternative methods to animal experiments at any stage of development and validation**. [S.l.: s. n.], [2003]. Disponível em: <http://ecvam.jrc.cec.eu.int/index.htm>. Acesso em: 12 out. 2014.

EUROPEAN CHEMICALS AGENCY. **CLP Legislation**. 2012. Disponível em: <http://echa.europa.eu/regulations/clp>. Acesso em: 11 nov. 2015.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. **No consumer health risk from bisphenol A exposure**. Press Release 21 January 2015. Disponível em: <http://www.efsa.europa.eu/en/press/news/150121.htm>. Acesso em: 22 mar. 2018.

EUROPEAN UNION. Commission Staff Working Paper. Types and uses of nanomaterials, including safety aspects. **Accompanying the Communication from the Commission to the European Parliament, the Council and the European Economic and Social Committee on the Second Regulatory Review on Nanomaterials**. Brussels: EU, 2012. Disponível em: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/be32dfc7-1499-4328-b54f-a9f024805f59/language-en>. Acesso em: 22 mar. 2018.

FABRIS, S.; FREIRE, M. T. A.; REYES, F. G. R. Embalagens plásticas: tipos de materiais, contaminação de alimentos e aspectos de legislação. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 19, n. 2, p. 59-70, 2006.

FEICHTMEIER, N. S. *et al.* A direct solid sampling analysis method for the detection of silver nanoparticles in biological matrices. **Anal Bioanal Chem.**, v. 408, n. 1, p. 295–305, 2016.

FENG, Q. L. *et al.* A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Biomedical Materials Research.**, v. 52, n. 4, p. 663–668, 2000.

FEYNMAN, R. P. There's Plenty of Room at the Bottom. An invitation to enter a new field of physics Engineering and Science. **Engineering and Science**, v. 23, n. 5, p. 22-36, 1960. Disponível em: <http://calteches.library.caltech.edu/47/3/ES.23.5.1960.0.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2018.

FOLADORI, G.; INVERNIZZI, N. A regulación de las nanotecnologías: una mirada desde las diferencias EUA-EU. **Visa em Debate**, v. 4, n. 2, p. 8-20, 2016.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology**. Maryland, 2014. 14 p. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/88423/download>. em: 04 maio 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food safety risk analysis: an overview and framework manual: part I. Provisional Edition**. Rome: FAO, 2005. Disponível em: [http://www.fsc.go.jp/sonota/foodsafety\\_riskanalysis.pdf](http://www.fsc.go.jp/sonota/foodsafety_riskanalysis.pdf). Acesso em: 30 abr. 2017.

FORTUNATI, E. *et al.* Combined effects of cellulose nanocrystals and silver nanoparticles on the barrier and migration properties of PLA nano-biocomposites. **Journal of Food Engineering**, v. 118, n. 1, p. 117–124, 2013.

FORTUNATI, E. *et al.* Nano-biocomposite films with modified cellulose nanocrystals and synthesized silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 1122– 1133, 2014.

FRASER, E. D. G. *et al.* Bottom up and top down: Analysis of participatory processes for sustainability indicator identification as a pathway to community empowerment and sustainable environmental management. **Journal of Environmental Management**, v. 78, n. 2, p. 114–127, 2006.

FREIRE, M. T. A. *et al.* Contaminantes voláteis provenientes de embalagens plásticas: desenvolvimento e validação de métodos analíticos. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1522-1532, 2008.

FREITAS, C. M. Avaliação de riscos como ferramenta para a vigilância ambiental em saúde. **Informe Epidemiológico do Sus**, v. 11, n. 4, p. 227-239, 2002.

FREITAS, C. M.; SÁ, I. M. B. Por um gerenciamento de riscos integrado e participativo na questão dos agrotóxicos. In: PERES, F.; MOREIRA, J.C.(org.). **É veneno ou é remédio?:**

**agrotóxicos, saúde e ambiente** [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2003. p. 211-250.

FREITAS, C. M.; GOMEZ, C. M. Análise de riscos tecnológicos na perspectiva das ciências sociais. **História, Ciências, Saúde- Manguinhos**, v. 3, n. 3, p. 500-504, 1997.

FRENCH AGENCY FOR FOOD, ENVIRONMENTAL AND OCCUPATIONAL HEALTH & SAFETY. **Bisphenol A: ANSES demonstrates potential health risks and confirms the need to reduce exposure**. 2013. Disponível em: <https://www.anses.fr/en/content/bisphenolanses-demonstrates-potential-health-risks-and-confirms-need-reduce-exposure>. Acesso em: 23 mar 2018.

FRENCH AGENCY FOR FOOD, ENVIRONMENTAL AND OCCUPATIONAL HEALTH & SAFETY. **Bisphenol A: ANSES publishes its comments in response to the EFSA draft opinion for consultation**. 2014. Disponível em: <https://www.anses.fr/en/content/bisphenol-ansespublishes-its-comments-response-efsa-draft-opinion-consultation>. Acesso em: 23 mar 2018.

FRÖHLICH, E.; SALAR-BEHZADI, S. Toxicological assessment of inhaled nanoparticles: role of in vivo, ex vivo, in vitro, and in silico studies. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 3, p. 4795-4822, 2014.

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Empresa paulista dobra prazo de validade de leite fresco pasteurizado**. 2015. Disponível em: [http://agencia.fapesp.br/empresa\\_paulista\\_dobra\\_prazo\\_de\\_validade\\_de\\_leite\\_fresco\\_pasteurizado/21325/](http://agencia.fapesp.br/empresa_paulista_dobra_prazo_de_validade_de_leite_fresco_pasteurizado/21325/). Acesso em: 04 abr. 2018.

GALOTTO, M. J.; GUARDA, A. Comparison between thermal and microwave treatment on the overall migration of plastic materials intended to be in contact with foods. **Packaging Technology and Science**, v. 12, n. 6, p. 277–281, 1999.

GALLOCCCHIO, F. *et al.* 2016. Testing nano-silver food packaging to evaluate silver migration and food spoilage bacteria on chicken meat. **Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment**, v. 33, n. 6, p. 1063–1071, 2016.

GALDIERO, S. *et al.* Silver nanoparticles as potential antiviral agents. **Molecules**, v. 16, n. 10, p. 8894–8918, 2011.

GARCIA, T. *et al.* Oral subchronic exposure to silver nanoparticles in rats. **Food Chem Toxicol.**, v. 92, p. 177-187, 2016.

GARCIA-CONTRERAS, R. *et al.* Perspectives for the use of silver nanoparticles in dental practice. **International Dental Journal**, v. 61, n. 6, p. 297-301, 2011.

GEBAUER J. S. *et al.* Impact of the nanoparticle–protein corona on colloidal stability and protein structure. **Langmuir**, v. 28, n. 25, p. 9673–9679, 2012.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. 655 p.

GIDDENS, A. **Mundo em descontrolo**: o que a globalização está fazendo de nós. Rio de Janeiro: Record, 2000.

GOGOI, S. K. *et al.* A. Green fluorescent protein-expressing *Escherichia coli* as a model system for investigating the antimicrobial activities of silver nanoparticles. **Lagmuir**, v. 22, n. 22, p. 9322-9328, 2006.

GOMES, I. S.; CAMINHA, I. O. Guia para estudos de revisão sistemática: uma opção metodológica para as Ciências do Movimento Humano. **Movimento**, v. 20, n. 1, p. 395-411, 2014.

GOPINATH, P. *et al.* Signaling gene cascade in silver nanoparticle induced apoptosis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 7, n. 2, p. 240-245, 2010.

GREINER, R. Current and projected applications of nanotechnology in the food sector. **Nutrire: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, v. 34, n. 1, p. 243-260, 2009.

GUYATT, G. *et al.* Grade guidelines: 1. Introduction-grade evidence profiles and summary of findings tables. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 64, n. 4, p. 383-394, 2011.

HANNON, J. C. *et al.* Advances and challenges for the use of engineered nanoparticles in food contact materials. **Trends in Food Science & Technology**, v. 43, n. 1, p. 43-62, 2015.

HANNON, J. C., *et al.* Assessment of the migration potential of nanosilver from nanoparticle-coated low-density polyethylene food packaging into food simulants. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 33, p. 167-178, 2016.

HANCOCK, H. E.; FISK, A. D.; ROGERS, W. A. Everyday products: Easy to use ... or not? **Ergonomics in Design: The Quarterly of Human Factors Applications**, v. 9, n. 4, p. 12-18, 2001.

HARTUNG, T.; WENDEL, A. Detection of pyrogens using human whole blood. **In Vitro Toxicology**, v. 9, n. 4, p. 353-359, 1996.

HARTUNG, T. *et al.* Novel pyrogen tests based on the human fever reaction. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 29, n. 2, p. 99-123, 2001.

HARTUNG, T.; LEIST, M. Food for thought... on the evolution of toxicology and phasing out of animal testing. **ALTEX - Alternatives to Animal Experimentation**, v. 25, n. 2, p. 91-102, 2008.

HARTUNG, T. Food for thought ... on evidence-based toxicology. **ALTEX - Alternatives to animal experimentation**, v. 26, n. 2, p. 75-82, 2009.

HARTUNG, T. Evidence-based toxicology – the toolbox of validation for the 21st century? **ALTEX - Alternatives to animal experimentation**, v. 27, n. 4, p. 253-263, 2010.

HARTUNG, T. From alternative methods to a new toxicology. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.77, n. 3, p.338-349, 2011.

HAYASHI, M. A Challenge to the Ultimate 3R's – In Silico Approach to Evaluate Chemical Safety for Humans. *In: WORLD CONGRESS ON ALTERNATIVES AND ANIMAL USE IN THE LIFE SCIENCES*, 8., 2011, Montreal. **Altex Proceedings**, Germany: Altex, 2012, p.15-19.

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. (ed.). **Cochrane handbook for systematic reviews of interventions**: version 5.1.0. (updated March 2011). Oxford: The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: <https://handbook-5-1.cochrane.org/>. Acesso em: 15 dez. 2017.

HEALTH-EVIDENCE. **Developing an efficient search strategy using PICO**. 2009. Disponível em: <http://www.healthevidence.org/practice-tools.aspx>. Acesso em: 10 jan. 2014.

HEMINGWAY, P.; BRERETON, N. **What is a systematic review**. London: Hayward Medical Communication, 2009.

HOET, P.; BRUSKE-HOLFELD, I.; SALATA, O. Nanoparticles – known and unknown health risks. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 2, P. 12, 2004.

HOFFMANN, S. *et al.* International validation of novel pyrogen tests based on human monocytoid cells. **Journal of Immunological Methods**, v. 298, n. 1-2, p. 161-73, 2005.

HOFFMANN, S.; HARTUNG, T. Toward an evidence-based toxicology. **Human & Experimental Toxicology**, v. 25, n. 9, p. 497-513, 2006.

HUANG, B. Y. *et al.* Nanosilver migrated into food-simulating solutions from commercially available food fresh containers. **Packaging Technology and Science**, v. 24, n.5 p.:291–7, 2011.

HULLEY, B. S. **Delineando a Pesquisa Clínica: uma abordagem epidemiológica**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 384 p.

HWANG, E. T. *et al.* Analysis of the toxic mode of action of silver nanoparticles using stress-specific bioluminescent bacteria. **Small**, v. 4, n. 6, p. 746–750, 2008.

IARED, W.; VALENTE, O. (org.). Revisões sistemáticas de estudos de acurácia. **Diagnóstico & Tratamento**, v. 14, n. 2, p. 85-88, 2009.

ICCVAM. INTERAGENCY COORDINATING COMMITTEE ON THE VALIDATION OF ALTERNATIVE METHODS. **Validation and regulatory acceptance of toxicological test methods**: a report of the ad hoc interagency coordinating committee on the validation of alternative methods. Bethesda: National Institutes of Health, 1997. (NIH Publication, No: 97-3981). Disponível em: <http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/guidelines/validate.pdf>. Acesso em: 10 out. 2015.

ICCVAM. INTERAGENCY COORDINATING COMMITTEE ON THE VALIDATION OF ALTERNATIVE METHODS. **Evaluation of the validation status of toxicological methods**: general guidelines for submissions to ICCVAM. Bethesda: National Institute of

Health, 1999. (NIH Publication, No. 99-4496). Disponível em: <http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/guidelines/subguide.htm>. Acesso em: 10 out. 2015.

ICCVAM. INTERAGENCY COORDINATING COMMITTEE ON THE VALIDATION OF ALTERNATIVE METHODS. **The national toxicology program interagency center for the evaluation of alternative toxicological methods (NICEATM)**. . Bethesda: National Institutes of Health, 2003. Disponível em: <http://iccvam.niehs.nih.gov>. Acesso em: 10 out. 2015.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/DTS 80004-1: nanotechnologies -vocabulary- part I: core terms**. 2010. 16 p.

JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. **Química Nova**, v. 32, n.7, p. 1898-1909, 2009.

JOKAR, M.; RAHMAN, R. A. Study of silver ion migration from melt-blended and layered-deposited silver polyethylene nanocomposite into food simulants and apple juice. **Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment**, v. 31, n. 4, p. 734–742, 2014.

KIM, J. S. *et al.* Antimicrobial effects of silver nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 3, n. 1, p. 95– 101, 2007.

KIM, T. *et al.* Size-dependent cellular toxicity of silver nanoparticles. **J Biomed Mater Res A.**, v. 100, n. 4, p. 1033-1043, 2012.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS, J. B. **Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons**. 5<sup>th</sup>. ed. New York: McGraw-Hill Company, 1999. 1996p.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS, J. B. **Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons**. 6<sup>th</sup>. ed. New York: McGraw-Hill Company, 2001.

KOETER, H. B. Test guideline development and animal welfare: regulatory acceptance of in vitro studies. **Reproductive Toxicology**, v. 7, suppl. 1, p. 117-123, 1993.

KOLLURU, R. V. *et al.* **Risk assessment and management handbook**. New York: McGraw-Hill, 1996.

KREWSKI, D. *et al.* Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B Critical Reviews**, v. 13, n. 2-4, p. 51–138, 2010.

KUMAR, R.; MUNSTEDT, H. Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. **Biomaterials**, v. 26, n. 14, p. 2081–2088, 2005.

LABORDA, F. *et al.* Detection, characterization and quantification of inorganic engineered nanomaterials: A review of techniques and methodological approaches for the analysis of complex samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 904, n. 21, p. 10-32, 2016.

LANDIS, J.; KOCH, G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, n. 1, p.159-174, 1977.

LAU, J.; ROTHSTEIN, H. R.; STEWART, G. B. History & progress of meta-analysis. *In*: KORICHEVA, J.; GUREVITCH, J.; MENGERSEN, K. (ed.). **Handbook of Meta-analysis in Ecology and Evolution**. Princeton: Princeton University Press, 2013. Chapter 25.

LAVIS, J. H. *et al.* Towards systematic reviews that inform health care management and policymaking. **Journal of Health Services Research & Policy**, v. 10, Suppl 1, p. 35-48, 2005.

LEHNER, R. *et al.* Intelligent nanomaterials for medicine: carrier platforms and targeting strategies in the context of clinical application. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 9, n. 6, p. 742-57, 2013.

LELEUX, J.; WILLIAMS, R. O. Recent advancements in mechanical reduction methods: particulate systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 40, n. 3, p. 289-300, 2013.

LIU, J.; HURT, R. H. Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 6, p. 2169–2175, 2010.

LKHAGVAJAV, N. *et al.* Antimicrobial activity of colloidal silver nanoparticles prepared by sol-gel method. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 6, n. 1, p. 149-154, 2011.

LEWIN, S. *et al.* SUPPORT tools for evidence-informed policymaking in health 11: Finding and using evidence about local conditions. **Health Research Policy and System**, v. 7, Suppl 1, p. S11, 2009.

LIBERATI, A. *et al.* The PRISMA statement for reporting systematic reviews and metaanalyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. **British Medical Journal**, v. 339, p. b2700, 2009.

LOK, C. N. *et al.* Silver nanoparticles partial oxidation and antibacterial activities. **J Biol Inorg Chem.**, v. 12, n. 4, p. 527-534, 2007.

LOPES, J. R. **Síntese de nanopartículas de prata (NPsAg) em soluções aquosas de fibroína de seda e gelatina**. 2017. 115f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2017.

LU, H. *et al.* Ultrafine silver nanoparticles with excelente antibacterial efficacy prepared by a handover of vesicle templating to micelle stabilization. **Polymer Chemistry**, v. 4, p. 3448-3452, 2013.

LU, Z. *et al.* Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 24, n. 6, p. 1465–1471, 2013.

- LUCCHESE, G. **Globalização e regulação sanitária**: os rumos da vigilância sanitária no Brasil. 2001. 225f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.
- MACHADO, P. A. L. O princípio da precaução e a avaliação de riscos. **Lusíada**: direito e ambiente, n. 1, p. 275-295, 2008.
- MACKEVICA, A.; OLSSON, M. E.; HANSEN, S. F. Silver nanoparticle release from commercially available plastic food containers into food simulants. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 18, n. 5, p. 1-11, 2016.
- MAHESH, K. P. O. *et al.* Chemically modified polyurethane-SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> hybrid composite film and its reusability for photocatalytic degradation of Acid Black 1 (AB 1) under UV light. **Applied Catalysis A: General**, v. 475, n. 5, p. 35-241, 2014.
- MARAMBIO-JONES, C.; HOEK, E. M. V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 12, n. 5, p. 1531–1551, 2010.
- MORONES, J. R. *et al.* The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**. v. 16, n. 10, p.2346-2353, 2005.
- MARTINS, P. R. *et al.* **Nanotecnologias na Indústria de Alimentos**. São Paulo: PUC, p. 1-15, 2008. (Ciclo de Debates em Economia Industrial, Trabalho e Tecnologia – EITT ).  
Disponível em:  
[http://www.pucsp.br/eitt/downloads/vi\\_ciclo\\_paulomartins\\_marisabarbosa\\_nano\\_puc.pdf](http://www.pucsp.br/eitt/downloads/vi_ciclo_paulomartins_marisabarbosa_nano_puc.pdf).  
Acesso em: 28 out. 2015.
- MARX, U. *et al.* 'Human-on-a-chip' developments: a translational cutting-edge alternative to systemic safety assessment and efficiency evaluation of substances in laboratory animals and man? **Altern. Lab. Anim.**, v. 40, n. 5, p. 235-257, 2012.
- MAPARA, N. *et al.* Antimicrobial potentials of *Helicteres isora* silver nanoparticles against extensively drug-resistant (XDR) clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. **Appl Microbiol Biotechnol.**, v. 99, n. 24, p. 10655–10667, 2015.
- MAYHORN C. B. *et al.* Hazards in the home: using older adults perceptions to inform warning design. **Injury Control and Safety Promotion**, v. 11, n. 4, p. 211-218, 2004.
- MESQUITA, G. Nanotecnologia: a ciência do invisível em ação. **ContilNet Notícias**. 2014.  
Disponível em:  
[https://www.researchgate.net/publication/266078816\\_Nanotecnologia\\_a\\_ciencia\\_do\\_invisivel\\_em\\_acao](https://www.researchgate.net/publication/266078816_Nanotecnologia_a_ciencia_do_invisivel_em_acao). Acesso em: 28 maio 2018.
- METAK, A. M.; NABHANI, F.; CONNOLLY, S. N. Migration of engineered nanoparticles from packaging into food products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 781-787, 2015.
- MEYER, O. Testing and assessment strategies, including alternative and new approaches. **Toxicology Letters**, v. 11, n. 140-141, p. 21-30, 2003.

MEYER, J. N. *et al.* Intracellular uptake and associated toxicity of silver nanoparticles in *Caenorhabditis elegans*. **Aquat Toxicol.**, v. 100, n. 2, p. 140-50, 2010.

MOHAMMED, H. A. *et al.* Convective heat transfer and fluid flow study over a step using nanofluids: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 6, p. 2921-2939, 2011.

MOHER, D. *et al.* PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Plos Med.*, v. 6, n. 7, p. e1000097, 2009.

MOLAK, V. **Fundamentals of Risk Analysis and Risk Management**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1997.

MONTEIRO-RIVIERE, N. A. *et al.* Protein binding modulates the cellular uptake of silver nanoparticles into human cells: implications for in vitro to in vivo extrapolations? **Toxicology Letters**, v. 220, n. 3, p. 286-293, 2013.

MONTORO-BUSTOS, A. R.; RUIZ-ENCINAR, J.; SANZ-MEDEL, A. 2013. Mass spectrometry for the characterisation of nanoparticles. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 17, p. 5637-5643, 2013.

MORARU, C. I. *et al.* Nanotechnology: A new frontier in food science. **Food Technology.**, v. 57, n. 12, p. 24–29, 2003.

MORARU C. I., *et al.* Food nanotechnology: Current developments and future prospects. *In: BARBOSA-CÁNOVAS, G.; MORTIMER, A.; LINEBACK, D.; SPIESS, W.; BUCKLE, K.; COLONNA, P. (ed.). Global Issues Food Sci Technol*. Massachusetts: Academic Press, 2009, p. 369–399.

MORONES, J. R. *et al.* The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 16, n. 10, p. 2346–2353, 2005.

MUNN, Z., *et al.* The development of a critical appraisal tool for use in systematic reviews addressing questions of prevalence. **International journal of health policy and management**, v. 3, n. 3, p. 123–128, 2014.

MUÑOZ, W. I. S. *et al.* Revisão sistemática da literatura e metanálise: noções básicas sobre seu desenho, interpretação e aplicação na área de saúde. *In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE COMUNICAÇÃO EM ENFERMAGEM*, 8., 2002, São Paulo. **Anais**. Disponível em: <http://www.proceedings.scielo.br/pdf/sibracen/n8v2/v2a074.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2016.

NAVARRO, M. V. T. **Conceito e controle de riscos à saúde em radiodiagnóstico: uma abordagem de vigilância sanitária** Salvador. 2007. 301f. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2007.

NAVARRO, E. *et al.* Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. **Ecotoxicology**, v. 17, n. 5, p. 372-86, 2008.

NATIONAL SCIENCE FOUNDATION. **Nanotechnology**. 2018. Disponível em: [https://www.nsf.gov/news/news\\_summ.jsp?cntn\\_id=100602](https://www.nsf.gov/news/news_summ.jsp?cntn_id=100602). Acesso em: 30 mar. 2018.

NATIONAL INSTITUTE OF OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. **Approaches to safe nanotechnology**: managing the health and safety concerns associated with engineered nanomaterials. 2009. p. 104. Disponível em: <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2009-125/>. Acesso em: 30 mar. 2018.

NEL, A. *et al.* Nanomaterial toxicity testing in the 21st century: Use of a predictive toxicological approach and high-throughput screeni. **Accounts of Chemical Research**, v. 46, n. 3, p. 607–621, 2013.

NERÍN, C.; ACOSTA, D. Behavior of some solid food simulants in contact with several plastics used in microwave ovens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 25, p. 7488–7492, 2002.

NEUBERT, D.; CHAHOUD, I. Possible consequences of pre- or early postnatal exposure to substances with estrogenic or androgenic properties. **Endocrine Chemical Environment**, v. 3, p. 24-52, 1995.

NGUYEN, K. C. *et al.* Toxicological evaluation of representative silver nanoparticles in macrophages and epithelial cells. **Toxicology In Vitro**, v. 33, p. 163-73, 2016.

NITA, M. E, *et al.* **Avaliação de tecnologias em saúde**: evidência clínica, análise econômica e análise de decisão. Porto Alegre: Artmed, 2010. 600p.

NOGUEIRA, P. F. M.; PAINO, I. M. M.; ZUCOLOTTI, V. Nanosilver: Propriedades, Aplicações e Impactos na Saúde Pública e Meio Ambiente. **Visa em Debate**, v. 1, n. 4, p. 59-71, 2013.

NOONAN, G. O. *et al.* Measurement methods to evaluate engineered nanomaterial release from food contact materials. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 679-692, 2014.

NTIM, S. A *et al.* Characterisation and potential migration of silver nanoparticles from commercially available polymeric food contact materials. **Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment**, v. 32, n. 6, p. 1003–1011, 2015.

OLIVEIRA, A. G. L. *et al.* Ensaios da membrana cório-alantoide (HET-CAM e CAM-TBS): alternativas para a avaliação toxicológica de produtos com baixo potencial de irritação ocular. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1 p. 153-9, 2012.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América. **Taller nacional de introducción a la evaluación y manejo de riesgos**. Brasília: OPAS; 1996.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test**

**methods for hazard Assessment.** Paris, France: OECD, 2005. 96 p. (OECD Series on testing and assessment. ENV/JM/MONO, number 34, v. 14).

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidance on sample preparation and dosimetry for the safety testing of manufactured nanomaterials.** Paris, France: OECD, 2012. (OECD Series on testing and assessment. ENV/JM/MONO, number 36, v. 40).

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Physical-chemical properties of nanomaterials:** evaluation of methods applied in the OECD-WPMN testing programme. Paris, France: OECD, 2016. (OECD Series on testing and assessment. ENV/JM/MONO, v. 7).

OZAKI, A, *et al.* Contents of Ag and other metals in food-contact plastics with nanosilver or Ag ion and their migration into food simulants. **Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment** v. 33, n. 9, p. 1490-1498, 2016.

PAL, M. Nanotechnology: A New Approach in Food Packaging. **Journal of Food: Microbiology, Safety & Hygiene**, v.2, p. 121, 2017.

PANACEK, A. *et al.* Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 33, p. 16248–16253, 2006.

PARASURAMAN, S. Toxicological screening. **Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics**, v. 2, n. 2, p. 74-79, 2011.

PARK, M.V. *et al.* The effect of particle size on the cytotoxicity, inflammation, developmental toxicity and genotoxicity of silver nanoparticles. **Biomaterials**, v. 32, n. 36, p. 9810–9817, 2011.

PARLAMENTO EUROPEU. Assunto: Proibição do bisfenol A em França. 2015. Disponível em: <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//TEXT+WQ+E-2015-002007+0+DOC+XML+V0//PT>. Acesso em: 23 mar. 2018.

PASCHOALINO M. P.; MARCONE, G. P. S; JARDIM, W. F. Os nanomateriais e a questão ambiental. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 421-430, 2010.

PAUMGARTTEN, F. J. R. Risk assessment for chemical substances: the link between toxicology and public health. **Cadernos de Saúde Pública.**, v. 9, n. 4, p. 439-447, 1993.

PEN – The Project on Emerging Nanotechnologies. **Nanotechproject.org**, 2018. Disponível em: [www.nanotechproject.org/cpi/products/fresherlongertm-plastic-storage-bags/](http://www.nanotechproject.org/cpi/products/fresherlongertm-plastic-storage-bags/). Acesso em: 12 abr. 2018.

PERSISTENCE MARKET RESEARCH. 2014. **Global market study on nano-enabled packaging for food and beverages: intelligent packaging to witness highest growth by 2020.** Persistence Market Research Website. Disponível em: <http://www.persistencemarketresearch.com/market-research/nano-enabled-packaging-market.asp>. Acesso em: 20 abr. 2016.

PETERS, M. D *et al.* Guidance for conducting systematic scoping reviews. **International Journal of Evidence-Based Healthcare**, v. 13, n. 3, p. 141-6, 2015.

PETTICREW, M.; ROBERTS, H. **Systematic reviews in the social sciences: a practical guide**. Malden, MA: Blackwell, 2006.

PINTO V. *et al.* Long time effect on the stability of silver nanoparticles in aqueous medium: effect of the synthesis and storage conditions. **Colloids Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 364, n. 3-4, p. 19–25, 2010.

PIPERIGKOU, Z. *et al.* Emerging aspects of nanotoxicology in health and disease: From agriculture and food sector to cancer therapeutics. **Food Chemical Toxicology**, v. 91, p. 42-57, 2016.

PLASTICS EUROPE. French ban on the use of Bisphenol A (BPA) in food contact: In conflict with European law and risk assessment -severe distortion of the market- no safety benefit for consumers. 2015. Disponível em: [http://www.bisphenol-a-europe.org/uploads/Modules/Mediaroom/stm\\_re\\_french-bpa-ban-being-enforced-01-01-2015.pdf](http://www.bisphenol-a-europe.org/uploads/Modules/Mediaroom/stm_re_french-bpa-ban-being-enforced-01-01-2015.pdf). Acesso em: 22 mar. 2018.

PORTAL BRASIL. Ciência e Tecnologia. **BNDES lança fundo com R\$ 200 milhões para empresas inovadoras**. 2016. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/ciencia-e-tecnologia/2016/02/bndes-lanca-fundo-com-r-200-milhoes-para-esmpresas-inovadores>. Acesso em: 26 mai. 2016.

PRABHU, S.; POULOSE, E. K. Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. **International Nano Letters**, v. 32, p. 2–10, 2012.

POKROPIVNY, V. V.; SKOROKHOD, V. V. Classification of nanostructures by dimensionality and concept of surface forms engineering in nanomaterial science. **Materials Science and Engineering: C**, v. 27, n. 5-8, p. 990–993 2007.

PRATIM ROY, P. *et al.* On two novel parameters for validation of predictive QSAR models. **Molecules**, v. 14, n. 5, p. 1660-1701, 2009.

PUC-RIO. Nanotecnologia. Introdução. Disponível em: [http://nanotech.ica.ele.puc-rio.br/nano\\_introducao.asp](http://nanotech.ica.ele.puc-rio.br/nano_introducao.asp). Acessado em: 15 mar. 2018a.

PUC-RIO. Museu Virtual de Nanociência e Nanotecnologia. Disponível em: [https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/20160/historia\\_bottom2.html](https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/20160/historia_bottom2.html). Acessado em: 7 abr. 2018b.

PULIT-PROCIAK, J.; BANACH, M. Silver nanoparticles—a material of the future...?. **Open Chemistry**, v.14, n. 1, p. 76–91, 2016.

RAMOS, K. *et al.* Silver speciation and characterization of nanoparticles released from plastic food containers by single particle ICPMS. **Talanta**, v.151, n. 1, p. 83–90, 2016.

RAHISUDDIN; AL-THABAITI, S. A.; KHAN, Z.; MANZOOR, N. Biosynthesis of silver nanoparticles and its antibacterial and antifungal activities towards Gram-positive, Gram-negative bacterial strains and different species of *Candida* fungus. **Bioprocess Biosyst Eng.**, v. 38, n. 9, p. 1773–1781, 2015.

RESTUCCIA, D. *et al.* New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. **Food Control**, v. 21, n. 11, p. 1425–1435, 2010.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA, C. S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, v. 38, n. 10-11, p. 1629-1652, 2013.

RICHARDSON, W. S. *et al.* The well-built clinical question: a key to evidence-based decisions. **ACP Journal Club.**, v. 123, n. 3, p. 12-3, 1995.

ROCO, M. C.; MIRKIN, C. A.; HERSAM, M. C. **Nanotechnology Research Directions for Societal Needs in 2020. Retrospective and Outlook.** Berlin: Springer, 2010. Disponível em: [http://www.wtec.org/nano2/Nanotechnology\\_Research\\_Directions\\_to\\_2020/](http://www.wtec.org/nano2/Nanotechnology_Research_Directions_to_2020/). Acessado em: 26 maio 2016.

RODRIGUES, E. C. S. **Síntese de magnetita e ação antibacteriana do Ag<sub>2</sub>O em matriz de alginato magnético.** 2011. 112 f. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade do Estado do Rio Grande do Norte, Mossoró, 2011.

ROH, J. Y. *et al.* Ecotoxicity of silver nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using functional ecotoxicogenomics. **Environ Sci Technol.**, v. 43, n. 1, p. 3933-40. 2009.

ROZENFELD, R. Regulação sanitária: inclusão e proteção à saúde. **Visa em Debate**, v. 2, n. 1, p. 2-6, 2014.

SADEGHI, B. Synthesis and Application of Nanorods. *IN*: YALÇIN, O. (ed.). **Nanorods. Rijeka: InTech**, 2012. p. 117-129. Disponível em: <https://mts.intechopen.com/books/nanorods/synthesis-and-application-of-nanorods>. Acesso em: 03 abr. 2018.

SALMAN, R. A. S. *et al.* Increasing value and reducing waste in biomedical research regulation and management. **Lancet.**, v. 383, n. 9912, p. 176–185, 2014.

SANDERSON, S.; TAT, I. D.; HIGGINS, J. P. Tools for assessing quality and susceptibility to bias in observational studies in epidemiology: a systematic review and annotated bibliography. **International Journal of Epidemiology**, v. 36, n. 3, p. 666-676, 2007.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Rev Bras Fisioter.**, v. 11, n. 1, p. 83-89, 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-35552007000100013&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-35552007000100013&lng=en&nrm=iso). Acesso em: 30 mar. 2018.

SANTOS C. M. C. **Revisão sistemática sobre tratamento tópico de lesões vegetantes malignas.** 2007. 171 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

- SANG-KYU, J. *et al.* Ecotoxicity of silver nanoparticles on the soil nematode *Caenorhabditis elegans* using functional ecotoxicogenomics. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 4, p. 2477–2485, 2015.
- SANTOS, A. S. *et al.* Silver nanoparticles: Therapeutical uses, toxicity, and safety issues. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 7, p. 1931 -1944, 2014.
- SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. *et al.* **Embalagens plásticas flexíveis**: principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267p.
- SAVOLAINEN, K. H. *et al.* Risk assessment of engineered nanomaterials and nanotechnologies: A review. **Toxicology**, v. 269, n. 2-3, p. 92-104, 2010.
- SCHECHTMAN, L. M. Implementation of the 3Rs (Refinement, reduction, and replacement): Validation and regulatory acceptance considerations for alternative toxicological test methods. **ILAR Journal**, v. 43, supl., p. S85-S94, 2002.
- SCHECKEL K. G. *et al.* Synchrotron speciation of silver and zinc oxide nanoparticles aged in a kaolin suspension. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 4, p. 1307–1312, 2010.
- SCHMIDT, C. W. TOX 21: New Dimensions of Toxicity Testing. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, n. 8, p. A348-A353, 2009.
- SCHULZ, P. Nanotecnologia: uma história um pouco diferente. **Revista Ciência Hoje**, v. 308, 28 out. 2013. Disponível em:  
[http://www.cienciahoje.org.br/revista/materia/id/775/n/nanotecnologia:\\_uma\\_historia\\_um\\_poco\\_diferente](http://www.cienciahoje.org.br/revista/materia/id/775/n/nanotecnologia:_uma_historia_um_poco_diferente). Acesso em 26 maio 2016.
- SILBERGEL, E. K. *et al.* Nanotoxicology: “the end of the beginning” - Signs on the roadmap to a strategy for assuring the safe application and use of nanomaterials. **ALTEX - Alternatives to Animal Experimentation**, v. 28, n.3, p. 236-41, 2011.
- SILBERGELD, E.; SCHERER, R.W. Evidence-based toxicology: strait is the gate, but the road is worth taking. **ALTEX - Alternatives to Animal Experimentation X**, v. 3, n. 1, p. 67–73, 2013.
- SILINS, I.; HÖGBERG, J. Combined toxic exposures and human health: Biomarkers of exposure and effect. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, n. 3, p. 629–647, 2011.
- SILVA, A. V. F. G.; LANA, F. C. F. Significando o risco sanitário: modos de atuação sobre o risco na Vigilância Sanitária. **Visa em Debate**, v. 2, n. 2, p. 17-26, 2014.
- ŠIMON, P.; CHAUDHRY, Q.; BAKOŠ, D. Migration of engineered nanoparticles from polymer packaging to food - A physicochemical view. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 47, p. 105–113, 2008.
- SINGH, Y. *et al.* Approaches to increasing yield in evaporation/condensation nanoparticle generation. **Journal of Aerosol Science**, n. 33, n. 9, p.1309-1325, 2002.

SINGH, M.; MANIKANDAN, S.; KUMARAGURU, A.K. Nanoparticles: a new technology with wide applications. **Research Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v.1, n.1, p.1-11, 2011.

SINGH, G. *et al.* Measurement methods to detect, characterize, and quantify engineered nanomaterials in foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p.693–704, 2014.

SMITH, D. J. Characterisation of nanomaterials using transmission electron microscopy. In: J. HUTCHISON, J.; KIRKLAND, A. (ed.). **Nanocharacterisation**. Cambridge: RSC Publishing, 2007. p. 1-27.

SONAI, G. G. **Preparação e caracterização de nanopartículas de Prata em meio aquoso e orgânico, com impregnação em borrachas de silicone contendo  $\text{RuCl}_2(\text{vpy})_4$  para fim antimicrobiano**. 2008. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science.**, v. 275, n. 1, p. 177–182, 2004.

SONG, H. *et al.* Migration of silver from nanosilver–polyethylene composite packaging into food simulants. **Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment.**, v. 28, n. 12, p. 1758–1762, 2011.

SOUZA, G. S.; COSTA, E. A. Considerações teóricas e conceituais acerca do trabalho em vigilância sanitária, campo específico do trabalho em saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, n. 3, p. 3329-3340, 2010.

SOUSA, M. R. de; RIBEIRO, A. L. P. Revisão sistemática e meta-análise de estudos de diagnóstico e prognóstico: um tutorial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia.**, São Paulo, v. 92, n. 3, 2009.

SOZER, N.; KOKINI, J. L. Nanotechnology and its applications in the food sector. **Trends in Biotechnology**, v. 27, n. 2, p. 82-89, 2009.

STEPHENS, M. L. *et al.* “Evidence-based toxicology for the 21st century: Opportunities and challenges”. **ALTEX - Alternatives to Animal Experimentation**, v. 30, n. 1, p. 74-103, 2013.

STEPHENS, M. L. *et al.* The emergence of systematic review in toxicology. **Toxicological Sciences**, v. 152, n. 1, p. 10–16, 2016.

STILLWELL, S.B. *et al.* Evidence-based practice, step by step: asking the clinical question: A key step in evidence-based practice. **American Journal of Nursing**, v. 110, n. 3, p. 58-61, 2010.

STOKES, W. S. Humane endpoint for laboratory animals used in regulatory testing. **ILAR Journal**, v. 43, supl., p. S31-S38, 2002.

STROUP, D. F. Meta-analysis of observational studies in epidemiology: A proposal for reporting. **JAMA**, v. 283, n. 15, p. 2008, 2000.

SU, Q. Z., *et al.* 2015. Effect of antioxidants and light stabilisers on silver migration from nanosilver-polyethylene composite packaging films into food simulants. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 32, p.1561–1566, 2015.

TAVARES, E. T.; SCHRAMM, F. R. Princípio de precaução e nanotecnociências. **Revista Bioética**, v. 23, n. 2, p. 244-55, 2015.

THACKER, S. B. Metanálisis: un enfoque cuantitativo para la integración de investigaciones. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 115, n. 4, p. 328-339, 1993.

TOŠENOVSKÝ, E. Question for written answer to the Commission, Rule 130. European Parliament, Parliamentary questions, P-008546/2014, Subject: possible negative impact on the internal market of measures concerning BPA adopted by the French authorities. 30 out. 2014. Disponível em: <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?type=WQ&reference=P-2014-008546&language=EN>. Acesso em: 22 mar. 2018.

TOŠENOVSKÝ, E. Parliamentary questions. Subject: measures concerning Bisphenol A (BPA). **European Parliament**, 17 mar. 2015. Disponível em: <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//TEXT+WQ+E-2015-004315+0+DOC+XML+V0//EN&language=en>. Acesso em: 22 mar. 2018.

TOUMEY, C. P. Reading Feynman into nanotechnology: A text for a new science. **Techné**, v. 12, n. 3, p. 133-68, 2008.

TRONCOSO, V.; OKANO, V. **Análise de concordância – Kappa**. Disponível em: <http://www.lee.dante.br/pesquisa/kappa/> - author. Acesso em: 20 nov. 2016.

TRONCARELLI, M. Z. *et al.* Nanotechnology and antimicrobials in veterinary medicine. **Formatex**, v. 1 p. 543-556, 2013.

UMAN, L. S. Information management for the busy practitioner: Systematic reviews and meta-analyses. **Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry**, v. 20, n. 1, p. 57-59, 2011.

UNESCO. **Declaração Universal de Bioética e Direitos Humanos**. Paris: UNESCO, 2005. Disponível em: <http://unesdoc.unesco.org/images/0014/001461/146180por.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2018.

VAN DONG, P. *et al.* Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles. **International Nano Letters**, v. 2, n. 1, p. 9, 2012.

VANCE, M. E. *et al.* Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. **Beilstein Journal of Nanotechnology**, v. 6, p. 1769-1780, 2015.

VANDENBERG, L. N. *et al.* A proposed framework for the systematic review and integrated assessment (SYRINA) of endocrine disrupting chemicals. **Environmental Health**, v. 15, n. 1, p. 74, 2016.

VICTAL, J. C. *et al.* Métodos alternativos *in vitro* e *in silico*: métodos auxiliares e substitutivos à experimentação animal. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 36-57, 2014.

VON GOETZ, N. *et al.* Migration of silver from commercial plastic food containers and implications for consumer exposure assessment. **Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment**, v. 30, n. 3, p. 612–620, 2013.

WEST, S. *et al.* Systems to rate the strength of scientific evidence: Summary. **AHRQ Evidence Report Summaries.**, v. 47, p. 1-11, 2002.

WHALEY, P. *et al.* Implementing systematic review techniques in chemical risk assessment: Challenges, opportunities and recommendations. **Environment International**, v. 92-93, p. 556-564, 2015.

WIEDEMANN, P. M.; SCHÜTZ, H. The precautionary principle and risk perception: Experimental studies in the EMF Area. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 4, p. 402-405, 2005.

WIJNHOFEN, S. W. P. Nano-silver - a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment. **Nanotoxicology**, v. 3, n. 2, p. 109-138, 2009.

WEDY, Gabriel de Jesus Tedesco. **O princípio constitucional da precaução como instrumento de tutela do meio ambiente e da saúde pública**. 2008. 15 f. Dissertação (Mestrado em Direito) - Faculdade de Direito, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

WELCH, V. *et al.* PRISMA-equity 2012 extension: reporting guidelines for systematic reviews with a focus on health equity. **PLoS Medicine.**, v. 9, n. 10, p. e1001333, 2012.

WHATMORE, R.W. Nanotechnology: What is it? Should we be worried? **Occupational Medicine**, v. 56, n. 5, p. 295-299, 2006.

WHO/FAO. **Toxicological and health aspects of bisphenol A**. World Health Organization, Ottawa, Canadá, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **IPCS Risk Assessment Terminology: IPCS Harmonization Project Document No.1: Part 1 IPCS/OECD Key Generic Terms and Part 2 IPCS Glossary of Key Exposure (Harmonization Project Documents)**. Geneva: WHO Library, 2004. 122p.

WOODRUFF, T.J., SUTTON, P. The navigation guide systematic review methodology: a rigorous and transparent method for translating environmental health science into better health outcomes. **Environmental Health Perspectives**, v. 122, n. 10, p. 1007–1014, 2014.

WORTH, A. P.; BALLS, M. The principles of validation and the ECVAM validation process. **Alternatives to Laboratory Animals – ATLA**, v. 30, suppl. 2, p. 15-21, 2002.

YU, H. Y. *et al.* Fabrication of multifunctional cellulose nanocrystals/poly(lactic acid) nanocomposites with silver nanoparticles by spraying method. **Carbohydrate Polymers**, v. 140, p. 209–219, 2016.

ZHANG, Y. *et al.* Facile preparation of highly antimicrobial colloid Ag or Au nanoparticles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 325, n. 2, p. 371-376, 2008.

ZHANG, S.; YONGAN, T.; VLAHOVIC, B. A review on preparation and applications of silver-containing nanofibers. **Nanoscale Research Letters**, v. 11, p. 80, 2016.

**APÊNDICE A - TESTE DE RELEVÂNCIA I**  
**(Aplicado ao título e ao resumo dos estudos)**

Referência Bibliográfica:

---



---



---



---

Questões	Sim	Não
1. A publicação está no formato de artigo científico?		
2. A publicação está disponível na íntegra?		
3. O estudo avalia o potencial de migração de nanopartículas de prata em embalagens de alimentos?		
4. O artigo foi publicado em idioma: inglês, espanhol ou português?		

Parecer do avaliador: Este trabalho deve ser selecionado para leitura na íntegra?

Sim ( )      Não ( )

Assinatura do avaliador \_\_\_\_\_

**APÊNDICE B - TESTE DE RELEVÂNCIA II**  
**(Aplicado aos estudos na íntegra)**

Referência Bibliográfica:

---



---



---



---

Questões	Sim	Não
1. Os objetivos do estudo têm relação com a questão que está sendo estudada, que é a migração de nanopartículas de prata das embalagens poliméricas para os alimentos?		
2. Os resultados do estudo contribuem para responder à questão norteadora desta revisão sistemática?		

Parecer do avaliador: Inclusão ( ) Exclusão ( )

Assinatura do avaliador \_\_\_\_\_

**APÊNDICE C - ROTEIRO PARA EXTRAÇÃO DE INFORMAÇÕES DOS ESTUDOS**

---

---

Referência Bibliográfica:

---

---

---

---

---

1. Tipo de polímero da embalagem:

---

2. Tipo de embalagem:

---

3. Tamanho da nanopartícula caracterizada na embalagem e tamanho da nanopartícula após a migração para o alimento/simulante:

---

4. Dados qualitativos dos alimentos utilizados e dados qualitativos e quantitativos dos simulantes utilizados:

---

5. Condições do teste

---

6. Técnicas utilizadas para caracterização e quantificação da NP presente na embalagem e no alimento

---

7. Descrição do método utilizado (referência)

---

8. Concentração inicial da NPAg na embalagem

---

9. Descrição da evidência de migração pelo estudo

---

10. Resultados quantitativos da migração da NPAg

---

---

## APÊNDICE D - AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Questões	Estudo/ pontuação
1. O delineamento da pesquisa está bem definido com foco na migração da NPAg?	
2. Há a descrição dos equipamentos utilizados?	
3. Há descrição da metodologia utilizada para a avaliação do teste de migração da NPAg?	
4. O teste de migração está baseado em algum regulamento?	
5. Há descrição dos reagentes utilizados?	
6. Foi feita a caracterização da NPAg na embalagem testada?	
7. A caracterização da NPAg foi feita com pelo menos 3 técnicas?	
8. Há a descrição do tipo de embalagem avaliada?	
9. O artigo relata como a nanopartícula foi incorporada na embalagem?	
10. A quantificação da NPAg está descrita no estudo?	
11. O artigo determina o tamanho da NPAg na embalagem testada e no alimento?	
12. O artigo utiliza padrão de referência de NPAg?	
13. Os métodos utilizados são validados?	
14. O estudo contempla análise estatística?	
Total	

Alta (10 a 14 pontos), Média (6 a 9 pontos) e Baixa (0 a 5 pontos).

ANEXO A – *Checklist do PRISMA*Quadro 1. Itens do *checklist* a serem incluídos no relato de revisão sistemática ou meta-análise

Seção/tópico	N.	Item do <i>checklist</i>	Relatado na página n°
<b>TÍTULO</b>			
Título	1	Identifique o artigo como uma revisão sistemática, meta-análise, ou ambos.	
<b>RESUMO</b>			
Resumo estruturado	2	Apresente um resumo estruturado incluindo, se aplicável: referencial teórico; objetivos; fonte de dados; critérios de elegibilidade; participantes e intervenções; avaliação do estudo e síntese dos métodos; resultados; limitações; conclusões e implicações dos achados principais; número de registro da revisão sistemática.	
<b>INTRODUÇÃO</b>			
Racional	3	Descreva a justificativa da revisão no contexto do que já é conhecido.	
Objetivos	4	Apresente uma afirmação explícita sobre as questões abordadas com referência a participantes, intervenções, comparações, resultados e desenho de estudo (PICOS).	
<b>MÉTODOS</b>			
Protocolo e registro	5	Indique se existe um protocolo de revisão, se e onde pode ser acessado (ex. endereço eletrônico), e, se disponível, forneça informações sobre o registro da revisão, incluindo o número de registro.	
Crítérios de elegibilidade	6	Especifique características do estudo (ex. PICOS, extensão do seguimento) e características dos relatos (ex. anos considerados, idioma, se é publicado) usadas como critérios de elegibilidade, apresentando justificativa.	
Fontes de informação	7	Descreva todas as fontes de informação na busca (ex. base de dados com datas de cobertura, contato com autores para identificação de estudos adicionais) e data da última busca.	
Busca	8	Apresente a estratégia completa de busca eletrônica para pelo menos uma base de dados, incluindo os limites utilizados, de forma que possa ser repetida.	
Seleção dos estudos	9	Apresente o processo de seleção dos estudos (isto é, busca, elegibilidade, os incluídos na revisão sistemática, e, se aplicável, os incluídos na meta-análise).	
Processo de coleta de dados	10	Descreva o método de extração de dados dos artigos (ex. formas para piloto, independente, em duplicata) e todos os processos para obtenção e confirmação de dados dos	

<b>Seção/tópico</b>	<b>N.</b>	<b>Item do <i>checklist</i></b>	<b>Relatado na página n<sup>o</sup></b>
		pesquisadores.	
Lista dos dados	11	Liste e defina todas as variáveis obtidas dos dados (ex. PICOS, fontes de financiamento) e quaisquer referências ou simplificações realizadas.	
Risco de viés em cada estudo	12	Descreva os métodos usados para avaliar o risco de viés em cada estudo (incluindo a especificação se foi feito durante o estudo ou no nível de resultados), e como esta informação foi usada na análise de dados.	
Medidas de sumarização	13	Defina as principais medidas de sumarização dos resultados (ex. risco relativo, diferença média).	
Síntese dos resultados	14	Descreva os métodos de análise dos dados e combinação de resultados dos estudos, se realizados, incluindo medidas de consistência (por exemplo, $I^2$ ) para cada meta-análise.	
Risco de viés entre estudos	15	Especifique qualquer avaliação do risco de viés que possa influenciar a evidência cumulativa (ex. viés de publicação, relato seletivo nos estudos).	
Análises adicionais	16	Descreva métodos de análise adicional (ex. análise de sensibilidade ou análise de subgrupos, metarregressão), se realizados, indicando quais foram pré-especificados.	
<b>RESULTADOS</b>			
Seleção de estudos	17	Apresente números dos estudos rastreados, avaliados para elegibilidade e incluídos na revisão, razões para exclusão em cada estágio, preferencialmente por meio de gráfico de fluxo.	
Características dos estudos	18	Para cada estudo, apresente características para extração dos dados (ex. tamanho do estudo, PICOS, período de acompanhamento) e apresente as citações.	
Risco de viés em cada estudo	19	Apresente dados sobre o risco de viés em cada estudo e, se disponível, alguma avaliação em resultados (ver item 12).	
Resultados de estudos individuais	20	Para todos os resultados considerados (benefícios ou riscos), apresente para cada estudo: (a) sumário simples de dados para cada grupo de intervenção e (b) efeitos estimados e intervalos de confiança, preferencialmente por meio de gráficos de floresta.	
Síntese dos resultados	21	Apresente resultados para cada meta-análise feita, incluindo intervalos de confiança e medidas de consistência.	
Risco de viés entre estudos	22	Apresente resultados da avaliação de risco de viés entre os estudos (ver item 15).	

<b>Seção/tópico</b>	<b>N.</b>	<b>Item do <i>checklist</i></b>	<b>Relatado na página n<sup>o</sup></b>
Análises adicionais	23	Apresente resultados de análises adicionais, se realizadas (ex. análise de sensibilidade ou subgrupos, metarregressão [ver item 16]).	
<b>DISCUSSÃO</b>			
Sumário da evidência	24	Sumarize os resultados principais, incluindo a força de evidência para cada resultado; considere sua relevância para grupos-chave (ex. profissionais da saúde, usuários e formuladores de políticas).	
Limitações	25	Discuta limitações no nível dos estudos e dos desfechos (ex. risco de viés) e no nível da revisão (ex. obtenção incompleta de pesquisas identificadas, viés de relato).	
Conclusões	26	Apresente a interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências e implicações para futuras pesquisas.	
<b>FINANCIAMENTO</b>			
Financiamento	27	Descreva fontes de financiamento para a revisão sistemática e outros suportes (ex.: suprimento de dados), papel dos financiadores na revisão sistemática.	