

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

Mayara de Simas Mesquita

**POTENCIAL DE MIGRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES DE EMBALAGEM DE
POLIETILENO PARA OS ALIMENTOS E A RELAÇÃO COM A SAÚDE
HUMANA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Rio de Janeiro

2021

Mayara de Simas Mesquita

**POTENCIAL DE MIGRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES DE EMBALAGEM DE
POLIETILENO PARA OS ALIMENTOS E A RELAÇÃO COM A SAÚDE
HUMANA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

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 obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadores: Dra. Shirley de Melo Pereira
Abrantes
Dr. Antônio Eugênio C.
Cardoso de Almeida

Rio de Janeiro

2021

Catálogo na Fonte
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em
SaúdeBiblioteca

Mesquita, Mayara de Simas

Potencial de migração de antioxidantes de embalagem de polietileno para os alimentos e a relação com a saúde humana: uma revisão sistemática.
/ Mayara de Simas Mesquita. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2021.
206 f.

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, 2021.

Orientadora: Shirley de Mello Pereira Abrantes.
Co-orientadora: Antônio Eugênio C. Cardoso de Almeida.

1. Migração. 2. Antioxidantes. 3. Polietileno. 4. Vigilância Sanitária. I. Título.

Polyethylene packaging's antioxidants potential migration to food and their relationship with human health: a systematic review.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

This study was financed in part by the Coordenação Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

Mayara de Simas Mesquita

**POTENCIAL DE MIGRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES DE EMBALAGEM DE
POLIETILENO PARA OS ALIMENTOS E A RELAÇÃO COM A SAÚDE
HUMANA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Tese apresentada ao curso de Doutorado Acadêmico 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 obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Helena Pereira da Silva Zamith (Doutora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ)

Aline Gaudard e Silva de Oliveira (Doutora)
Faculdade Arthur Sá Earp Neto (FASE/FMP)

Luciene Oliveira Morais (Doutora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ)

ORIENTADORES

Shirley de Melo Pereira Abrantes (Doutora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ)

Antônio Eugênio C. Cardoso de Almeida (Doutor)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/FIOCRUZ)

Dedico este trabalho ao meu marido,
Allan Lussac Pinheiro, companheiro
de todos os momentos, incentivador e
apoiador incondicional de minha
formação profissional.

AGRADECIMENTOS

Primordialmente, quero agradecer a Deus que me permitiu chegar onde estou com muita saúde, sempre me direcionando por caminhos nobres e certos.

Ao meu marido Allan Lussac, que me estendeu a mão durante todo este período cansativo e empolgante, não permitindo que eu enfraquecesse; dando-me forças para continuar todas as vezes que eu me via querendo desistir e compreendeu, com muita paciência, todos os períodos de ausência para a conclusão deste trabalho. Obrigada meu amor!

À minha amada mãe, Andréa Blezer, que me criou para a vida com muito carinho e me proporcionou toda a educação necessária para trilhar meu caminho. Minha mãe é uma lutadora e, se não fosse por ela, eu não teria alcançado nem a metade de todas as conquistas da minha vida.

À minha querida orientadora, Dra. Shirley de Melo, por sua paciência infinita e sua sabedoria, me proporcionando ensinamentos que jamais esquecerei. Muito obrigada pelo prazer em ser sua aluna. Tenho um imenso orgulho em citá-la com uma das responsáveis por minha formação profissional. A senhora é uma inspiração para mim e para todos que a cercam.

Ao meu orientador Dr. Antônio Eugênio por ensinamentos valiosos e por ter esse grande coração disposto a acolher com tanto carinho seus alunos.

À professora Dra. Helena Zamith, por toda ajuda e conselhos a fim de garantir que meu trabalho ficasse o melhor possível.

À professora Luciene de Moraes por todos os ensinamentos maravilhosos referentes à revisão sistemática e carinho sem fim todas as vezes que eu precisei sanar dúvidas.

À professora Dra. Kátia Christina Leandro, pela atenção conferida a mim todas as vezes que precisei.

Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde por ter me aberto as portas para a condução deste trabalho e a todos os profissionais que fazem desta instituição a melhor que ela pode ser.

À minha prima que tanto amo, Pamela de Simas, por todas as conversas de horas que distraíram e ajudaram a encarar caminhos longos que ainda estavam por vir e por todos os planos que colocaremos em prática ao findar dessa minha jornada.

À minha querida e eterna professora, Alexandra Anastácio Monteiro, que me acompanhou desde minha pós-graduação em nutrição clínica, depois no mestrado e início de doutorado, me guiando e oferecendo os melhores conselhos profissionais e de vida. Seguirá sempre no meu coração.

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram e me apoiaram incondicionalmente para a elaboração deste trabalho.

Sou muito abençoada por sempre ter encontrado pessoas de bem, dispostas a ajudar e proporcionar condições ao meu crescimento pessoal e profissional. Muito obrigada a todos vocês e a vida que a todo o momento me fornece oportunidades de desenvolvimento, que Deus os abençoe imensamente.

“Todas as vitórias ocultam uma
abdicação”.

Simone de Beauvoir.

RESUMO

A Vigilância Sanitária procura garantir que a população tenha segurança na utilização dos produtos consumidos. A avaliação do risco à saúde humana é realizada na embalagem de polietileno devido aos aditivos inseridos na mesma e que tendem a migrar para o alimento acondicionado. Este trabalho investiga as evidências a respeito da migração de antioxidantes em embalagens de polietileno para o acondicionamento de alimentos e, se há prejuízo à saúde humana. Revisão sistemática da literatura foi conduzida para os estudos publicados em português, inglês e espanhol, nas bases de dados *PubMed*, *Taylor & Francis online*, *Science Direct*, *SciELO* e *Embase*, sem restrição de data. Também, buscas na literatura cinzenta e pesquisas nas referências dos estudos incluídos. As palavras-chave foram: *migration*, *diffusion*, *antioxidants*, *polyethylene packaging*, *low density polyethylene*, *high density polyethylene*, *food*, *food simulants*, *food packaging*, *food containers*, *food-contact plastics*, *food contact materials*. Dos 480 artigos identificados, 27 atenderam aos critérios de elegibilidade. A migração de antioxidante, reportada nos estudos, foi influenciada pelos fatores: simulantes/alimentos ricos em gordura, tempo de armazenamento, temperatura e tipo de polímero. Não sendo possível responder a questão da toxicidade dos antioxidantes através dessa busca, foi efetuada segunda pesquisa, nas mesmas bases de dados incluindo a Cochrane Library, sem restrição de data, com as palavras-chave: *antioxidant*, *BHT*, *butylated hydroxytoluene*, *BHA*, *butylated hydroxyanisole*, *irganox 1076*, *toxic potential*, *toxicity*, *public health*, *adverse effects*, *poisoning*. Das 194 referências, 17 foram elegíveis. O objetivo dos estudos toxicológicos é o prognóstico dos prováveis efeitos nocivos que podem surgir na população ao ser exposta a certa substância. A busca um e dois foram relacionadas e discutidas para que fosse alcançada uma conclusão a respeito dos antioxidantes e sua migração para os alimentos. Os 17 estudos avaliaram BHA e cinco o BHT. Onze apresentaram evidência toxicológica para BHA e quatro para BHT, portanto a maior parte demonstrou toxicidade para os antioxidantes, sendo desde modificações no metabolismo até ações tóxicas e apoptóticas. Em síntese, o estudo possibilitou uma revisão crítica da literatura.

Palavras-chave: Migração. Antioxidantes. Polietileno. Vigilância Sanitária.

ABSTRACT

Health Surveillance Agency seeks to ensure that the population is safe in using the consumed products. The assessment of potential risk to human health has been essential in the polyethylene packaging due to the use of additives inserted in its structure, which tend to migrate to the food in which it is packaged. This work aimed to investigate the evidence regarding the migration of antioxidants present in polyethylene packaging for food and verify if there is any damage to human health. A systematic literature review was conducted to identify all studies published in Portuguese, English, and Spanish, which evaluated the migration of antioxidants in food packaging, in the electronic databases *PubMed*, *Taylor & Francis Online*, *Science Direct*, *SciELO* and *Embase*, without date restriction. Gray literature searches were also performed, in addition to searches in the references of the included studies. The keywords used were: *migration*, *diffusion*, *antioxidants*, *polyethylene packaging*, *low-density polyethylene*, *high-density polyethylene*, *food*, *food simulants*, *food packaging*, *food containers*, *food-contact plastics*, *food contact materials*. Among the 480 articles identified, twenty-seven met the eligibility criteria. The antioxidant migration, reported in these evaluated studies, was influenced by the following factors: simulants/high-fat foods, storage time, temperature, and type of polymer. As it was not possible to answer the question of the possible toxicity of antioxidants through the search above, a second search was carried out, in the same databases mentioned, with the inclusion of the Cochrane Library, without date restriction, using the following keywords: *antioxidant*, *BHT*, *butylated hydroxytoluene*, *BHA*, *butylated hydroxyanisole*, *irganox 1076*, *toxic potential*, *toxicity*, *public health*, *adverse effects*, *poisoning*. Among the 194 references found, seventeen were eligible. The main objective of toxicological studies is to predict the harmful effects that may arise in the human population when exposed to a certain substance. None of the toxicological studies addressed any type of packaging, even more, studies that contemplated toxicity while dealing with plastic packaging and migration of antioxidants were not found during the search. Therefore, searches one and two were related to each other and their results were discussed in order to reach a conclusion on antioxidants and their migration to food. All studies (17) evaluated BHA and only five evaluated BHT. Eleven studies showed toxicological evidence for BHA and four for BHT, so most demonstrated toxicity to antioxidants. The effects range from changes in metabolism to toxic and apoptotic actions. This study enabled a critical review of the literature.

Keywords: Migration. Antioxidants. Polyethylene. Health Surveillance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Etapas da análise e avaliação do risco.....	26
Figura 2	Diagrama do paradigma do risco	27
Figura 3	Hierarquia da evidência.....	31
Figura 4	Esquema de percurso para a revisão sistemática	32
Figura 5	Produção mundial de resinas termoplásticas	37
Figura 6	Principais resinas consumidas no Brasil	38
Figura 7	Representação da estrutura do polietileno	39
Figura 8	Reação geral da síntese de polietileno: (a) etileno; (b) unidade repetida presente na cadeia do polietileno	40
Figura 9	Estrutura dos tipos de polietileno: de cima para baixo, polietileno de alta densidade (HDPE), polietileno linear de baixa densidade (LLDPE) e polietileno de baixa densidade (LDPE)	41
Figura 10	Mecanismo de ação para os antioxidantes primários	52
Gráfico 1	Percentual dos estudos elegíveis por década.....	90
Gráfico 2	Percentual das embalagens de polietileno distribuídas ao longo do tempo	115
Gráfico 3	Percentual dos antioxidantes encontrados nos estudos de migração distribuídos ao longo do tempo	121
Gráfico 4	Técnicas utilizadas pelos estudos a fim de analisar a migração de antioxidante em embalagens de polietileno.....	129
Gráfico 5	Percentual dos estudos toxicológicos elegíveis por década	139

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Restrições de uso e LME para os antioxidantes do estudo.....	23
Tabela 2 - Resumo das principais propriedades dos tipos de polietileno.....	45
Tabela 3 - Abreviações, estruturas, classificação pelos “SCFs”, IDAs, IDTs, LMEs dos principais aditivos fenólicos	49
Tabela 4 - Lista dos simulantes de alimentos	62
Tabela 5 - Classificação dos alimentos para efeito de embalagem.....	62
Tabela 6 - Condições para os ensaios de migração em embalagens.....	63
Tabela 7 - Solventes simulantes indicados para cada tipo de alimento.....	64
Tabela 8 - Cinco etapas seguidas pelo presente trabalho até a sua conclusão.....	72
Tabela 9 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados: PubMed, Taylor & Francis online e Science Direct.....	77
Tabela 10 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados EMBASE, SciELO e Google Scholar	78
Tabela 11 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados PubMed, Taylor & Francis online, EMBASE, SciELO, COCHRANE LIBRARY, Science Direct e Google Scholar, referentes a possível toxicidade dos antioxidantes	80
Tabela 12 - Resultados da estratégia de busca nas bases de dados selecionadas e o número de artigos identificados sobre o ensaio de migração dos antioxidantes.....	86
Tabela 13 - Motivos para a eliminação dos estudos após a leitura na íntegra.....	87
Tabela 14 - Resultados dos estudos encontrados através da busca manual realizada nos artigos elegíveis da busca 1.....	88
Tabela 15 - Motivos das exclusões dos estudos encontrados através da busca manual realizada nos artigos elegíveis da busca 1.....	89
Tabela 16 - Síntese dos estudos elegíveis da busca um e manual.....	91 a 100
Tabela 17 - Estudos que apresentaram evidência de migração versus estudos sem evidência de migração	101
Tabela 18 - Simulantes de alimentos usados nos estudos de migração no MERCOSUL, EU e EUA	103
Tabela 19 - Principais simulantes utilizados nos estudos.....	104
Tabela 20 - Simulantes para diferentes classes de alimentos	104
Tabela 21 - Principais tipos de estudos toxicológicos e suas características.....	136

Tabela 22 - Resultados da estratégia de busca dos estudos toxicológicos nas bases de dados selecionadas e o número de artigos identificados	138
Tabela 23 - Motivos das exclusões dos estudos toxicológicos.....	139
Tabela 24 - Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos.....	140 a 153
Tabela 25 - Maior concentração de antioxidantes encontrada nos estudos de migração	168 a 170

LISTA DE SIGLAS

a.C.	Antes de Cristo
AFSs	Antioxidantes Fenólicos Sintéticos
ALT	Alanina transaminase
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	Aspartato transaminase
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
BHA	2,3-terc-butil-4-hidroxianisol
BHT	2,6-diterc-butil-p-cresol
CE	Comissão Europeia
CEES	Sulfeto de 2-cloroetiletil
CNNPA	Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos
CO ₂	Dióxido de carbono
CG	Cromatografia gasosa
CLAE ou HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
CL	Cromatografia líquida
CRD	<i>Centre for Reviews and Dissemination</i>
EC	Evidências científicas
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar
EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América
EPS	Poliestireno expandido
<i>Etc</i>	<i>Et cetera</i>
EU	União Europeia
EVA	Etileno-acetato de vinila
FC	Fator de consumo
FD	Fator de distribuição
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Fe-NTA	Nitrilatriacetato férrico
FLD	Detecção de fluorescência
FTIR	Espectroscopia no infravermelho
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
GD	Galato de dodecila
GO	Galato de octila

GP	Galato de propila
GY	Gray
HeLa	Células cancerosas cervicais HeLa
HN2	2-cloro-N-(2-cloroetil) -N-etilmetano-1-amina
IARC	Agência Internacional de Pesquisa do Câncer
IDA	Valores da ingestão diária aceitável
IDE	Ingestão diária estimada
IDT	Ingestão diária tolerável
Irganox 1076	3-(3,5-Di-terc-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
JECFA	Comitê Misto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares
LC	Limites de composição
LDH	Lactato desidrogenase
LCCDMA	Laboratório Central de Controle de Drogas, Medicamentos e Alimentos
LME	Limite de migração específica
LMT	Limite de migração total
MDA	Malonaldeído
N ₂	Nitrogênio
NOAEL	Nível sem efeitos adversos observados
NTP	Programa Nacional de Toxicologia
O ₂	Oxigênio
OECD	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	Policarbonato
PE	Polietileno
PEAD	Polietileno de alta densidade
PEBD	Polietileno de baixa densidade
PELBD	Polietileno linear de baixa densidade
PPPO	Poli (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno) (Simulante alimento seco)
PET	Poli (tereftalato de etileno)
PND	Plano Nacional de Desenvolvimento
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno

PVC	Poli (cloreto de vinila)
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
ROS	Espécies reativas de oxigênio
RS	Revisão sistemática
SCF	<i>Scientific Committee for Foods</i>
SEC	Cromatografia por exclusão de tamanho
SNC	Sistema nervoso central
SUS	Sistema Único de Saúde
TBE	Toxicologia baseada em evidências
TBHQ	Terc-butil-hidroquinona
Tenax	Poli (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno)
<u>TBHQ</u>	Terc-butil-hidroquinona
TLC	Cromatografia em camada fina
Tm	Temperatura de fusão
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
EU	União Europeia
U.S.NRC	<i>United States Nuclear Regulatory Commission</i>
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 Controle, avaliação de risco e estudos toxicológicos	25
1.2 Revisão sistemática	29
1.3 Embalagem	33
1.3.1 Contextualização histórica.....	33
1.3.2 Embalagens plásticas.....	35
1.3.3 Polímeros	38
1.3.4 Polietileno	40
1.3.4.1 <i>Polietileno de baixa densidade (PEBD ou LDPE)</i>	42
1.3.4.2 <i>Polietileno de alta densidade (PEAD ou HDPE)</i>	42
1.3.4.3 <i>Polietileno linear de baixa densidade (PELBD ou LLDPE)</i>	43
1.4 Aditivos	45
1.4.1 Antioxidantes.....	46
1.5 Utilização dos antioxidantes pela indústria	50
1.6 Migração dos antioxidantes	53
1.6.1 <i>Butylated hydroxyanisole (BHA)</i>	55
1.6.2 <i>Butylated hydroxytoluene (BHT)</i>	56
1.6.3 <i>n-octadecyl beta-(3',5'-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propionate (Irganox 1076)</i> ..	57
1.6.4 Galato de propila (GP); Galato de octila (GO); Galato de dodecila (GD).....	58
1.6.5 4-hidroxibenzoato de metila (4 HBM); 4-hidroxibenzoato de propila (4 HBP); 1,4-dihidroxibenzeno (14 DHB)	58
1.7 Legislação sobre Embalagens de Alimentos	59
1.7.1 Um breve discurso sobre a vigilância sanitária e legislação	64
1.8 Justificativa	69
2 OBJETIVO	71
2.1 Objetivo geral	71
2.2 Objetivos Específicos	71
3 METODOLOGIA	72
3.1 Método de pesquisa.....	72
3.2 Etapas da revisão sistemática	73
3.2.1 Desenho do estudo.....	73
3.2.2 Questão norteadora	73

3.2.3 Critérios de elegibilidade	75
3.2.3.1 <i>Critérios de inclusão dos artigos</i>	75
3.2.3.2 <i>Critérios de exclusão dos artigos</i>	75
3.2.4 Busca dos estudos	76
3.2.5 Seleção dos estudos	81
3.2.6 Coleta dos dados	82
3.2.7 Análise de risco de viés.....	82
3.2.8 Resultados	84
3.2.9 Codificação dos artigos elegíveis	84
3.2.10 Implicações éticas.....	84
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
4.1 Pesquisa e identificação dos estudos	85
4.2 Pesquisa nas referências dos estudos elegíveis da busca 1	88
4.3 Avaliação do risco de viés	88
4.4 Características, síntese e análise parcial dos estudos elegíveis	89
4.4.1 <i>Avaliação da migração</i>	101
4.4.2 <i>Avaliação da migração por tipo de simulante</i>	103
4.4.3 <i>Avaliação da migração por tipo de polímero</i>	115
4.4.4 <i>Avaliação da migração por tipo de antioxidante</i>	121
4.4.5 <i>Avaliação das técnicas utilizadas na análise dos antioxidantes</i>	128
4.4.6 <i>Avaliação da metodologia utilizada na análise dos antioxidantes</i>	133
5 PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DOS ESTUDOS TOXICOLÓGICOS	135
6 DETERMINAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DOS CONSUMIDORES AOS COMPONENTES DE EMBALAGENS	165
6.1 Relação entre migração de antioxidantes sintéticos e a toxicologia em seres humanos	166
7 CONCLUSÃO	176
REFERÊNCIAS	180
ANEXOS	197
ANEXO A (TESTE DE RELEVÂNCIA I)	197
ANEXO B (TESTE DE RELEVÂNCIA II)	198
ANEXO C (ROTEIRO PARA EXTRAÇÃO DE INFORMAÇÕES DOS ESTUDOS)	199

ANEXO D (AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS INCLUÍDOS).....	200
ANEXO D1 (AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS TOXICOLÓGICOS)	201
ANEXO E (CHECKLIST PRISMA)	202

1 INTRODUÇÃO

A utilização de embalagens plásticas continua em ascensão e atrelado a isso, está a necessidade de diminuir o desperdício de alimentos e o aumento da demanda graças ao crescimento populacional e expansão de mercado. Entretanto, cada vez mais as preocupações a respeito dos danos causados à saúde humana estão sendo discutidas. As embalagens de plástico contribuem significativamente para exposições químicas da população humana, já que, inúmeros produtos químicos são utilizados na confecção dos plásticos para embalagem de alimentos (GROH *et al.*, 2019).

As indústrias têm dedicado esforço intenso na evolução e expansão de produtos a fim de suprir elevada demanda de consumo, como também, as exigências por parte do consumidor acarretam no acelerado desenvolvimento tecnológico e, conseqüentemente, o surgimento de produtos à disposição, com isso, é nítida a importância da avaliação do risco de determinados produtos de consumo (MORAIS, 2018).

A partir desse cenário, a vigilância sanitária trabalha com ações fundamentais para a saúde pública, garantindo que a população obtenha a segurança necessária ao utilizar produtos posto para consumo, sempre em busca do controle dos riscos sanitários incutidos na fabricação e consumo de produtos e serviços (LUCCHESE, 2001).

A prerrogativa de segurança de produtos sujeitos ao controle sanitário, objetiva eliminar ou reduzir, possíveis riscos à saúde da população, segundo está previsto na Lei Orgânica da Saúde (BRASIL, 1990a). A imensa produção e circulação de bens surgem e predominam como consequência de uma sociedade capitalista e, com uma sede infinita por novos materiais, produtos e tecnologias, aumentando com isso, os riscos à saúde (LUCCHESE, 2001).

Por meio da Constituição Federal de 1988, o governo brasileiro instituiu o dever do Estado em promover políticas públicas, sociais e econômicas, com o intuito de mitigar o risco de doença, assegurando aos cidadãos o direito à saúde. Portanto, no que se refere à área da saúde, minorar o risco mediante medidas preventivas significa proteger e viabilizar a vida, mesmo diante da diversidade dos riscos a que a sociedade está exposta. Logo, a condição regulatória da vigilância sanitária assegura a ela se manter nas competências exclusivas do Estado, já que, a ele compete garantir os interesses sanitários da coletividade, segundo retratado nos preceitos constitucionais (BRASIL, 1988).

A Constituição Federal também estabeleceu o Sistema Único de Saúde (SUS) e uma de suas competências está associada às atividades de vigilância sanitária com a função

precípua de atuar na eliminação ou mitigação do risco sanitário compreendido na produção, circulação e consumo de determinados produtos, processos e serviços. Ademais, a criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), autarquia especial conectada 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, ratificou a incumbência da Vigilância Sanitária no Brasil, no que se refere à atuação, através do SUS, nas condições especiais de risco à saúde da população (BRASIL, 1999a; BRASIL, 1999b; MORAIS, 2018).

Em vista disso, a vigilância sanitária é a forma mais abrangente e enigmática de existência da saúde pública, especialmente a pretexto do caráter preventivo de suas ações, como o reconhecimento dos fatores de risco atrelados à saúde humana e relacionados aos produtos e insumos da área da saúde; sendo a identificação desses fatores essencial para atestar a segurança sanitária (MORAIS, 2018).

Em se tratando de segurança sanitária relacionada às embalagens plásticas, a legislação brasileira apresenta uma lista composta com especificações de substâncias como polímeros, resinas e aditivos permitidos para uso. Nas listas positivas, estão especificadas restrições como limites de composição (LC), limites de migração específica (LME) e limite de migração total (LMT) (FABRIS; FREIRE; REYES, 2006). Migração total é uma medida intrínseca da inércia do material, entretanto não garante a segurança toxicológica. Já a migração específica é uma medida mais importante para a segurança do consumidor, já que permite definir a exposição a inúmeros agentes químicos de maior toxicidade, por isso são estabelecidos limites de migração (COLTRO; MACHADO, 2011).

As exigências de segurança de embalagens são determinadas por regulamentos técnicos da ANVISA articulados com o Mercado Comum do Sul (MERCOSUL) desde a década de 90 (1992), através de listas positivas, ensaios de migração e boas práticas de fabricação. Como exemplo disso, temos a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 91, de 2001, que dispõe sobre “embalagens e equipamentos que entram em contato direto com alimentos durante sua produção, elaboração, fracionamento, armazenamento, distribuição, comercialização e consumo” (ANVISA, 2001), com os critérios gerais para embalagens e especificação dos materiais em contato com alimentos. Menciona os regulamentos para plásticos e outros materiais, tendo alcance da produção ao consumo (FOOD SAFETY BRAZIL, 2021).

No Brasil, o sistema de legislação adotado se baseia em Resoluções e Portarias, para cada tipo de material de embalagem, sendo que estas foram derivadas das Resoluções do MERCOSUL, internalizadas pela ANVISA/Ministério da Saúde. Destacamos a importância

que os Mercados Comuns possuem, como um de seus principais objetivos, conjugarem as legislações de seus países membros, colaborando para o intercâmbio de produtos embalados (FABRIS; FREIRE; REYES, 2006).

Em relação à quantidade máxima e o LME, a ANVISA, a fim de proteger os consumidores, criou uma série de regulamentos para diversos aditivos usados em embalagens plásticas para contato com alimentos. Isso, em consequência ao tamanho reduzido das moléculas dos aditivos, que podem migrar para o alimento acondicionado na embalagem plástica, podendo decorrer em alterações de cor, sabor, odor, textura, etc. A distinção nos LME dos aditivos, especialmente dos antioxidantes, que são os aditivos tratados neste estudo, advém do processo de migração, dependente do tamanho da molécula, polaridade, toxicidade, etc., conceitos que serão explicados mais adiante (COLTRO; MACHADO, 2011).

A seguir, a Tabela 1 apresenta os antioxidantes estudados no presente trabalho com sua restrição de uso e LME, os quais são determinados pela Resolução RDC nº 326, de 03 de dezembro de 2019. Essa Resolução foi publicada em consequência da revogação da antiga RDC nº 17 de 2018; a nova resolução apresenta a lista de aditivos e adjuvantes de polimerização autorizados para a fabricação de materiais plásticos e revestimentos poliméricos destinados a entrar em contato com alimentos, como também, os respectivos limites de composição, de migração específica e as restrições de uso, a forma de cálculo e o uso dos fatores de correção (BRASIL, 2018; BRASIL, 2019; FOOD SAFETY BRAZIL, 2020).

Tabela 1. Restrições de uso e LME para os antioxidantes do estudo segundo a RDC nº 326/2019 e Commission Directive 90/128/EEC

Nome químico/comercial	Função	Nº CAS	LME (mg/kg ⁻¹)
Irganox 1076 3-(3,5-Di-terc-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo	Antioxidante	2082-79-3	06
2,3-terc-butil-4-hidroxianisol (BHA)	Antioxidante	25013-16-5	30
2,6-diterc-butil-p-cresol (BHT)	Antioxidante	128-37-0	03
Galato de propila	Antioxidante	121-79-9	30
4-Hidroxibenzoato de propila	Antioxidante	94-13-3	*
4-Hidroxibenzoato de metila	Antioxidante	99-76-3	*
Galato de octila	Antioxidante	1034-01-1	30
Galato de dodecila	Antioxidante	1166-52-5	30
1,4-Dihidroxibenzeno (hidroquinona)	Antioxidante	123-31-9	0,6
4-sec-butil-2,6-di-ter-butil-fenol	Antioxidante	17540-75-9	*

LME: Limite de migração específica. *Não possui LME estabelecido. CAS: Número CAS – registro único no banco de dados do Chemical Abstracts Service

Fonte: (ANVISA, 2019; EUROPEAN COMMISSION, 1990).

A Lei de 1976 determina que havendo a suspeita de efeitos nocivos à saúde humana, poderá ser executada a suspensão da fabricação e venda de qualquer produto (BRASIL, 1976). No Brasil, temos o Decreto Lei nº 212, de 27 de fevereiro de 1967, que dispõe sobre as medidas de segurança sanitária do país, juntamente com a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que engloba todos os produtos de âmbito sanitário (BRASIL, 1967; BRASIL, 1976). A segurança sanitária se mostra pertinente para a vigilância sanitária tendo em vista a ansia por estratégias satisfatórias na busca de soluções, controle e prevenção dos riscos sanitários (BARBOSA; COSTA, 2010).

Atualmente, a tecnologia produtiva de alimentos primários e de industrializados tende a seguir um caminho que agrava os atuais problemas de Segurança Sanitária. A lógica básica do atual sistema produtivo é quase que exclusivamente focada em questões econômicas, aumento da produtividade e da demanda (LUCCHESI, 2001). Assim, podemos mencionar o

termo “sociedade de risco”, onde os riscos atrelados à produção e distribuição de bens e serviços podem atingir a população, independente de classe social, econômica ou localização geográfica. Também, o acelerado progresso de áreas da ciência e tecnologia colaborou para criar novos riscos associados à exposição e ao consumo de produtos e serviços, gerando resultados de alta gravidade para a saúde humana e para o meio ambiente (BECK, 1992; FALBO; KELLER, 2015; BOSCO; FERREIRA, 2016).

Então, é necessário dar enfoque a um princípio fundamental – “precaução” – princípio esse importante para acompanhar a evolução tecnológica. Aqui, temos a possibilidade de causar dano a alguém, portanto, é necessário que seja aplicado sempre que for necessária uma ação urgente a um possível risco para a saúde humana, animal ou vegetal, quando as evidências científicas ainda não forem capazes de viabilizar uma avaliação completa do risco. Um exemplo que pode ser citado seria na saúde pública, onde há a inibição da disseminação de produtos suscetíveis de ocasionar algum prejuízo à saúde humana (DALLARI; VENTURA 2002; MACHADO, 2008).

Esse princípio está embasado pelo artigo 225, §1º, incisos II, IV e V da Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. O inciso V prevê ao Estado: - “[...] controlar a produção, a comercialização e o emprego de técnicas, métodos e substâncias que comportem risco para a vida, a qualidade de vida e o meio ambiente” (BRASIL, 1988).

Por fim, o princípio da precaução é, portanto, um dispositivo necessário para a avaliação e o gerenciamento do risco, sendo possível instituir um complexo processo de ações multidisciplinares que tem como intuito implantar um sistema de avaliação mais amplo em relação aos que estão em andamento, antes de sua comercialização, seguindo os seus efeitos, e com isso, garantindo a segurança necessária para que os produtos possam conceder o mínimo de risco à saúde dos usuários (DALLARI; VENTURA, 2002; MACHADO, 2008; MORAIS, 2018).

1.1 Controle, Avaliação de risco e estudos toxicológicos

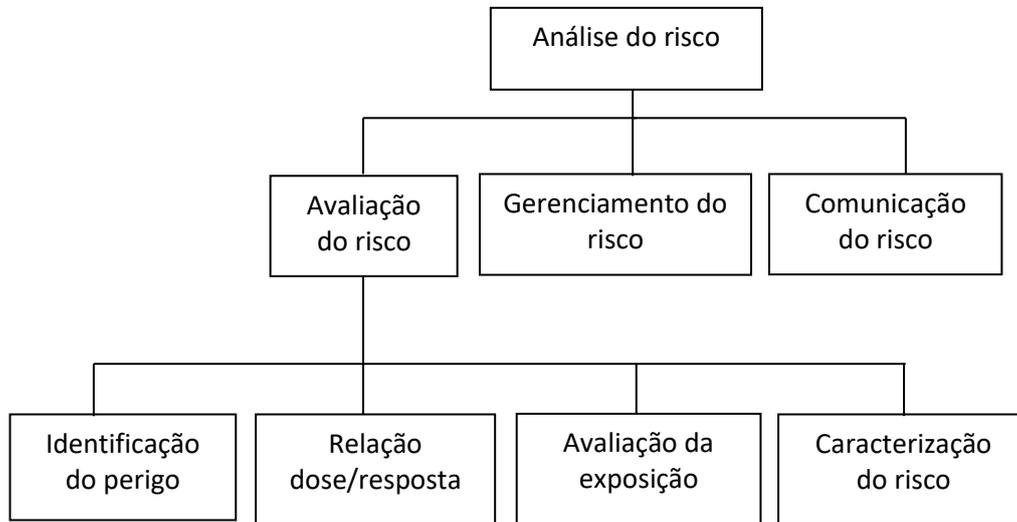
Com as modificações vividas pelo ser humano, criando e integrando ao seu modo de vida as mais diversas tecnologias, associam-se as fontes de perigo às práticas humanas. Temos, portanto, um risco e podemos entender o mesmo como uma organização teórica construída historicamente, com o intuito de intervir na relação do homem com os perigos, aspirando minorar os prejuízos e potencializar os benefícios (NAVARRO, 2009).

“Avaliar o risco” é um método utilizado para pormenorizar e estimar a possibilidade de ocorrência de um efeito adverso para a saúde a começar da exposição a determinados agentes (químico, físico, biológico, etc.), processos industriais, tecnologia ou processo natural. Diferente de “analisar o risco” que é um processo mais amplo e, que compreende aspectos de gestão e comunicação do risco (JARDIM; CALDAS, 2009). A avaliação do risco ocorre em quatro etapas: (1) identificação do perigo, (2) avaliação da relação dose-resposta, (3) avaliação de exposição e (4) caracterização do risco (BREAKWELL, 2000).

Atualmente, o destaque dado à avaliação de risco tem sido imputado ao interesse mundial de estabelecer uma vasta metodologia, onde se possam abranger os inúmeros aspectos relacionados à toxicidade das substâncias, interligando, de uma forma quantitativa, as causas e os efeitos. Há muito tempo existe um esforço voltado para identificar os fatores de risco, como também, a menor tolerância pública à exposição a substâncias eminentemente prejudiciais e o crescimento das enfermidades congênitas têm levado ao estudo dos possíveis fatores ambientais atrelados à etiologia dessas alterações (VEIGA; FERNANDES, 1999). Então, a avaliação de risco pode ser considerada uma metodologia capaz de estimar a probabilidade de certo agente produzir efeitos adversos em dado segmento populacional, em determinadas circunstâncias, e que fornece uma base para as medidas de Saúde Pública (MORAIS, 2018).

Identificar e reduzir riscos são um dos objetivos centrais da vigilância sanitária, segundo a Lei 8.080/1990 e, o controle de risco é um alicerce importante para as práticas regulatórias de saúde; sendo também, por meio da normatização sanitária, que as normas sanitárias regulamentadoras tentam limitar ao máximo os riscos inerentes aos processos de saúde, com o intuito de “garantir a efetividade das tecnologias voltadas para a saúde nos âmbitos éticos, econômicos e sociais” (VITERBO, 2017). Abaixo, a Figura 1 resume as etapas da análise e avaliação do risco.

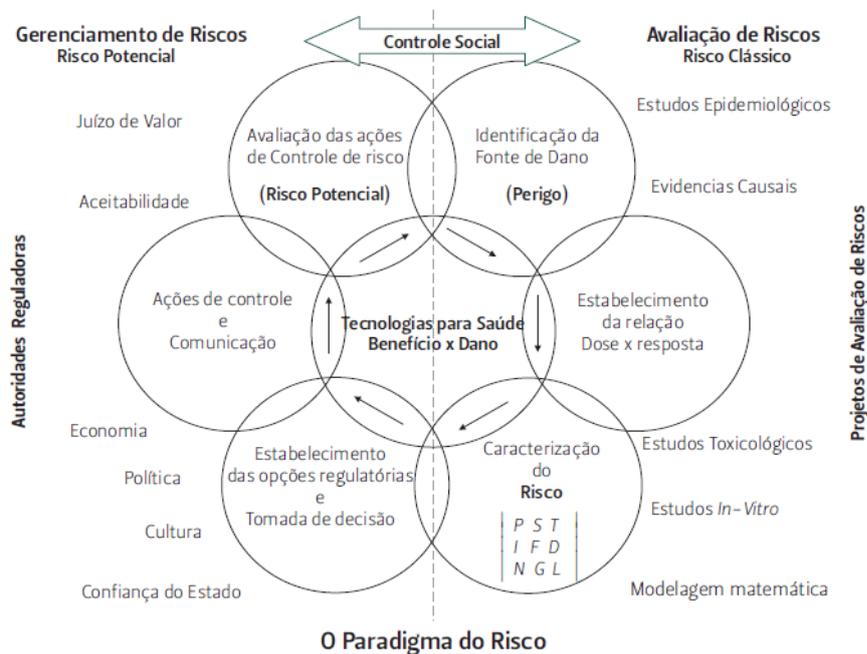
Figura 1 - Etapas da análise e avaliação do risco



Fonte: Adaptado de JARDIM; CALDAS, 2009.

Tendo em vista que as interferências da vigilância sanitária são guiadas pela noção de risco (risco potencial ou dano real provenientes de processos de produção/consumo) a investigação e o gerenciamento do risco tornaram-se uma importante ferramenta no processo de defesa da saúde (BRASIL, 1999a, 1999b). Um diagrama do paradigma dos riscos aplicado à área da vigilância sanitária está representado na Figura 2.

Figura 2. Diagrama do Paradigma do Risco



Fonte: (NAVARRO, 2009).

O diagrama do paradigma dos riscos, aplicado à vigilância sanitária, retrata a relação que existe entre as dimensões do risco e as etapas dos processos de avaliação e gerenciamento de risco. A avaliação usa de evidências objetivas para estabelecer as sequelas à saúde em consequência da exposição de indivíduos/coletividade às situações perigosas, ao mesmo tempo em que, o gerenciamento inclui os resultados da avaliação de riscos com questões econômicas, sociais e políticas (VITERBO, 2017).

Os eventos adversos, no campo sanitário, podem ser compreendidos como um efeito não desejado em humanos proveniente do uso de produtos sob Vigilância Sanitária, ou seja, é um dano ocasionado à saúde de um indivíduo que ocorre ao longo do uso rotineiro de um produto (BRASIL, 2009a).

Podemos classificar os eventos adversos como sendo graves e não graves (ANVISA, 2009), sendo que os graves podem levar o indivíduo a óbito ou provocar alguma deficiência, ou até mesmo um dano permanente em uma estrutura do organismo (BRASIL, 2009a).

À vista disso, para que um produto (ou seus ingredientes) possa(m) ser utilizado(s) com segurança, é necessário submetê-lo (s) a inúmeros ensaios toxicológicos pré-clínicos,

antes da sua liberação para população, para que se tenha certeza da segurança de tal produto ou ingrediente (MOLAK, 1997).

Os estudos toxicológicos vão trabalhar com a predição dos possíveis efeitos nocivos, capazes de ocorrer em um indivíduo, quando esse entra em contato com certa substância, através de alguma via de acesso do corpo (via inalatória, oral, dérmica, etc.) (MORAIS, 2018), ou seja, explora os efeitos adversos provocados pela relação entre os organismos vivos e as substâncias químicas. Essa ciência avalia a possibilidade de ocorrência de efeitos adversos em decorrência de uma determinada exposição a alguma substância e em qual circunstância pode provocar danos. Devido a isso, são realizados estudos para antever os riscos toxicológicos de uma nova substância quando essa for para contato direto com o ser humano, como é o caso dos aditivos alimentares, por exemplo, (MOURA *et al.*, 2012).

A ocorrência de toxicidade de um alimento se dá pela presença de um ou mais elementos que podem ocasionar danos à saúde dos seres vivos. Além disso, para a toxicologia, toda substância pode ser considerada um agente tóxico, e o que dita se ocasionará alguma mazela ou não, vai depender de várias condições, como a exposição à determinada substância, sua concentração no alimento, frequência de ingestão, a dose administrada ou absorvida, entre outros (BARROS; DAVINO, 2003; MOURA *et al.*, 2012).

Ao que tudo indica, por uma ótica, todas as substâncias podem ser potencialmente tóxicas, mas por outro lado, todas podem ser utilizadas de forma segura se as condições de exposição forem mantidas abaixo dos níveis de tolerância e, quando não for possível estabelecer um limite de tolerância, deve-se evitar uma exposição (BARROS; DAVINO, 2003).

O homem está sujeito a inúmeras exposições químicas, como é o caso de produtos químicos no ar, água, solo e alimentos, fatores de estilo de vida, etc., portanto, há grande preocupação de que várias exposições complexas menos estudadas possam ter um forte impacto na saúde como consequência de efeitos combinados ou mistos (SILINS; HÖGBERG, 2011). Nos experimentos científicos que abrangem a segurança alimentar, tendo como foco a vigilância sanitária, as alegações a respeito dos aspectos toxicológicos implicados são importantes para um desfecho correto sobre os temas relacionados à saúde humana. Portanto, a indicação ao consumidor de algum produto é fundamentada, especialmente, nos estudos toxicológicos (BARROS, 2010).

Para fechar, aos estudos toxicológicos compete um processo de avaliação de evidências e tal fato denomina-se de Toxicologia baseada em evidências (TBE). Aqui, encontram-se os tipos de evidências utilizadas no reconhecimento do perigo, avaliação do

risco, e análise da causalidade, proporcionar uma opinião coerente através de conclusões robustas e, conseqüentemente, uma melhor e mais profunda evidência. Para tal afirmação, a TBE possui a revisão sistemática (RS) como uma de suas principais ferramentas (MORAIS, 2018).

1.2 Revisão sistemática

A urgência de aprimorar a qualidade das ações de saúde e do ensino incidiu na maneira como é efetuada a escolha dos estudos. Antes, o foco era na melhora dos estudos primários, agora, o grande número de produções científicas, relacionadas a uma temática semelhante, pede por um método mais elaborado, como é o caso de uma RS, a fim de assimilar e sintetizar as evidências científicas (EC) para amparar e comprovar as concepções de práticas qualificadas em saúde, e concretizar a prática baseada em evidências (PBE) (DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO *et al.*, 2010).

A PBE é definida “como o uso consciente, explícito e criterioso da melhor e mais atual evidência de pesquisa na tomada de decisões clínicas sobre o cuidado de pacientes”. Importante mencionar que estudos elaborados de maneira criteriosa propiciam convicções a fim de amparar a escolha de uma decisão clínica e, não somente para substituir o raciocínio e a experiência do profissional, para definir qual ação seria efetiva ou não para um determinado paciente (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

Uma RS procura agregar todas as evidências empíricas que se adequam “nos critérios de elegibilidade pré-especificados para responder a uma pergunta de pesquisa específica”. Também, se utiliza de métodos claros e metódicos selecionados para diminuir uma desconfiança, a fim de proporcionar respostas confiáveis e, com isso, oferecer conclusões precisas para tomadas de decisões concretas. Já a meta-análise opera através de métodos estatísticos para condensar e conjugar resultados de estudos independentes. RSs podem conter ou não meta-análise (LIBERATI *et al.*, 2009).

A RS é considerada um estudo secundário, a qual tem nos estudos primários (artigos científicos que comunicam os resultados da pesquisa em primeira mão) sua fonte de dados e, tem se mostrado como a melhor opção para uma investigação mais focada, visando identificar, selecionar, avaliar e sintetizar as evidências mais relevantes disponíveis (GALVÃO, PEREIRA, 2014). Importante salientar que além de secundário é também um método retrospectivo, ou seja, desenhada e dirigida posteriormente à publicação de muitos

estudos experimentais sobre um tema. Assim, uma RS é dependente da qualidade da fonte primária (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

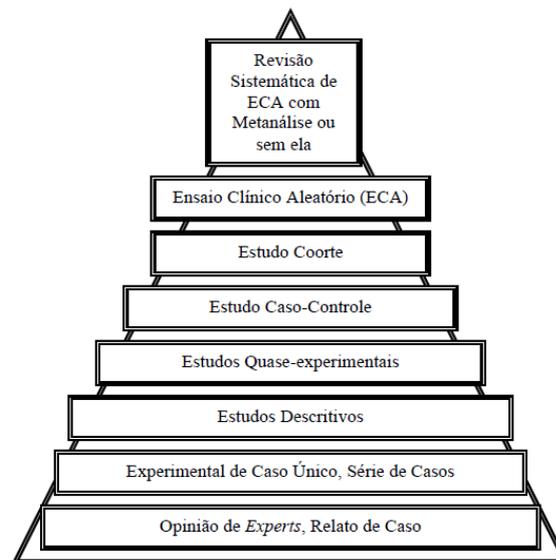
O tema RS há algum tempo vem sendo o “queridinho” na área acadêmica da saúde. Há pouco mais de 30 anos, o estudioso lia toda a literatura da sua área, ao examinar as coleções de revistas na biblioteca. Atualmente, mais de 6.000 artigos são publicados diariamente e tal fato nos mostra a importância da revisão sistemática (CARDOSO, 2017). Também, o imenso volume de informações científicas que surgiram, nas últimas décadas, na área da Saúde indica uma necessidade de uma síntese mais inteligente e que favoreça o acesso às mesmas, proporcionando conclusões fundamentadas na combinação dos resultados advindos de múltiplas fontes (CORDEIRO *et al.*, 2007).

A utilização de métodos sistemáticos limita o viés, ou seja, os erros sistemáticos e, reduz os efeitos do acaso, promovendo, com isso, resultados mais fidedignos para colher conclusões e adotar decisões (HIGGINS; GREEN, 2006).

Em razão do êxito e da credibilidade da RS, o número desses estudos elevou energicamente nos últimos anos (GUYATT *et al.*, 2011) e, hoje, é muito utilizada para o levantamento de evidência científica para o processo de tomada de decisão do risco químico (WHALEY *et al.*, 2015). Portanto, as RSs são importantes instrumentos para sintetizar evidências de maneira rigorosa, concisa e confiável e necessitam ser descritas de forma transparente e completa com o intuito de proporcionar aos leitores uma avaliação dos pontos fortes e fracos da pesquisa (LIBERATI *et al.*, 2009).

A RS ocupa uma das mais importantes posições na hierarquia da evidência (Figura 3). Nessa hierarquia, ao pesquisarmos por uma evidência a respeito da eficácia de uma intervenção ou tratamento, estudos de RS (seja com ou sem meta-análise) tendem a oferecer evidência mais relevante, e, portanto, acabam sendo os estudos mais adequados para responder a tais questionamentos a respeito da eficácia de uma intervenção (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

Figura 3. Hierarquia da evidência



Fonte: (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

Diante de inúmeras ferramentas utilizadas para elaborar uma RS, as mais conhecidas e aceitas pelos periódicos científicos são: o manual da *Cochrane Collaboration* (HIGGINS, 2011), o *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (LIBERATI *et al.*, 2009), o PRISMA EQUITY - 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).

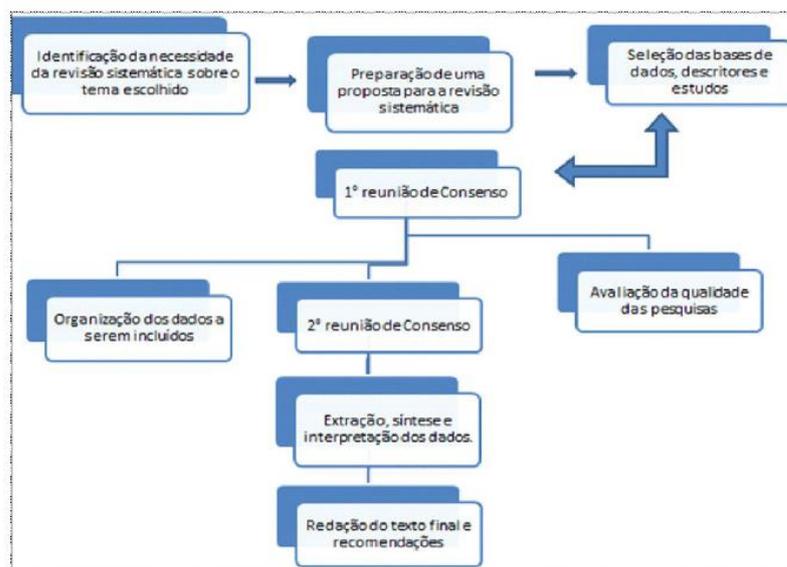
Uma RS precisa ter uma pergunta clara e específica, não podendo essa ser muito ampla ou vaga (HIGGINS, 2011, PETERS *et al.*, 2015). A formulação da pergunta deve utilizar a técnica PICO (HEALTH-EVIDENCE, 2009), descrevendo claramente os itens da pergunta: população, pessoas ou problema de interesse (P); Intervenção, a intenção com respeito à realidade ou problema ou exposição; (I); comparação com a intervenção em uso, técnicas similares ou com não intervenção (C) e Desfecho (*outcome*, no original em inglês) ou resultados que se deseja obter ou conhecer (O).

Com a definição da pergunta, iniciam-se as buscas que devem ser conduzidas por pelo menos dois pesquisadores, de forma independente, em bases de dados eletrônicas (*databases*) indexadas, sendo ainda necessário efetuar o registro de todas as informações a respeito do processo de busca, como o dia e horários em que foram realizadas, metodologia adotada, descritores utilizados, limites e filtros aplicados (SAMPAIO; MANCINI, 2007).

Uma importante etapa da RS é a avaliação da qualidade metodológica da pesquisa primária, analisando o risco de viés dos estudos incluídos (HIGGINS, 2007). Outra etapa é a de apresentação dos resultados, onde os artigos inseridos na RS podem ser exibidos em um quadro que salienta suas principais características, entre elas: 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, esses resultados são analisados e interpretados para a obtenção das conclusões a respeito do tema em questão (SAMPAIO; MANCINI, 2007; GOMES; CAMINHA, 2014).

Em suma, as etapas para elaboração da RS contemplam: (a) elaboração da pergunta; (b) busca na literatura; (c) definição de critérios de inclusão e exclusão dos estudos; (d) seleção dos artigos em bases de dados diversas; (e) avaliação da qualidade dos estudos e extração dos dados; (f) avaliação da qualidade metodológica; (g) síntese dos dados (meta-análise); (h) avaliação da qualidade das evidências; e (i) redação e publicação dos resultados (COCHRANE HANDBOOK, 2006; HIGGINS, 2011; GALVÃO; PEREIRA, 2014; STEPHENS *et al*, 2016). Essas etapas podem ser visualizadas na Figura abaixo.

Figura 4. Esquema de percurso para a revisão sistemática



Fonte: (GOMES; CAMINHA, 2014).

Os inúmeros atributos da utilização do método de RS na tomada de decisão fizeram com que a sua utilização fosse essencial, e isso tem se mostrado importante também no campo da avaliação de riscos químicos (WHALEY *et al.*, 2015; STEPHENS *et al.*, 2016). Nesse campo, o alicerce de evidências é bem complexo, tendo a necessidade de vincular as investigações em animais, *in vitro* e *in silico*, e após sintetizar os achados com aqueles de estudos humanos (estando eles disponíveis). No momento em que os diversos tipos de pesquisas toxicológicas são unidos em uma única conclusão geral sobre os riscos à saúde, possibilitados por uma exposição química, os avaliadores do risco são instigados a compor os resultados de uma base muito mais ampla de evidências (LAU *et al.*, 1998, SILBERGELD; SCHERER, 2013; MORAIS, 2018). Ademais, os métodos de RS podem ser empregados com êxito ao campo da avaliação de riscos químicos, já que, acrescentam rigor, objetividade e coerência ao desenvolvimento de coleta de evidências científicas mais importantes (WHALEY *et al.*, 2015).

Por essa razão, o uso da RS é uma ferramenta extremamente eficaz, para não dizer a melhor, no processo de avaliação de riscos associados a produtos químicos (MORAIS, 2018), e dentre esses, as substâncias advindas das embalagens plásticas.

1.3 Embalagem

1.3.1 Contextualização histórica

O ser humano sempre sentiu a necessidade de abrigar os alimentos que conseguia da natureza, utilizando recursos rudimentares, desde pele de animais caçados até folhas verdes. Assim, conseguiam conservar e proteger seus alimentos, como também, transportar os mesmos de maneira mais fácil (DIAS, 2016).

Por volta do ano 4.000 a.C. dá-se início ao intercâmbio de mercadorias entre a Mesopotâmia e o Egito, período em que a embalagem, como conceito de armazenamento e transporte, para fins comerciais, começa a surgir (ESTEVES, 2012).

Uma das maiores invenções na área de embalagens alimentares foi a “comida enlatada”, no século XIX. Isso permitiu que Napoleão Bonaparte resolvesse o problema de escassez de alimentos para as suas tropas, ao conservar os alimentos por longos períodos de tempo, já que, durante as invasões francesas, os inimigos queimavam as terras para inviabilizar que os franceses pudessem utilizar qualquer tipo de recurso das terras conquistadas (DIAS, 2016).

Foram os anos de 1980 que abarcaram a maior introdução de novas embalagens. A

busca permanente por materiais levou a indústria de embalagem a combinar matérias-primas, fabricando embalagens com características especiais como, por exemplo, para o uso em fornos de micro-ondas, tampas removíveis manualmente, proteção contra luz e calor, entre outras (ESTEVES, 2012).

A embalagem foi evoluindo e seguindo uma ordem segundo as necessidades do homem - conter, transportar e armazenar -, com o tempo, foi necessário proteger e conservar os produtos. Finalmente, com o advento da Revolução Industrial e posteriormente Comercial, surgiu a necessidade de vender (ESTEVES, 2012).

Na década de 90, aproximadamente 30 milhões de toneladas de plásticos foram utilizados como embalagens, provocando um dos maiores faturamentos de embalagens para o setor alimentício. De fato, o desenvolvimento e as aplicações têm sido tão grandes que foi definido como sendo nosso presente, a “Idade dos Polímeros” em alusão, por exemplo, à “Idade da Pedra” (ROSA, 2008).

Hoje em dia, o mercado de produção e desenvolvimento de embalagens está inteiramente aderido ao progresso da economia e, quanto maior a produção de bens de consumo e mercadorias, maiores são as necessidades por embalagens; e também, a indústria de alimentos é um dos grandes usuários de embalagens (FABRIS; FREIRE; REYES, 2006).

Também, com a evolução da sociedade e, por conseguinte, a transformação dos estilos de vida, houve enormes alterações nos hábitos alimentares do consumidor, incentivando, com isso, a evolução da tecnologia de embalagem e possibilitando um aumento da oferta de alimentos pré-preparados.

A ANVISA, segundo RDC nº 91, de 11 de maio de 2001 define embalagem de alimentos como:

“... 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).

Tendo em vista o conceito acima, às embalagens são atribuídas algumas funções, sendo a principal, proteger o alimento da ação de fatores ambientais tais como gases, luz, umidade, odores e microrganismos; mas também, é um recipiente que confere proteção contra choques, vibrações e compressões que podem ocorrer durante cada percurso. Outra função demasiadamente importante é a proteção contra adulterações ou perda de integridade,

provocadas por uma clara evidência de abertura (selos, tampas com botão indicador de vácuo, entre outras) (SARANTOPOULOS *et al.*, 2002; ESTEVES *et al.*, 2006; JORGE, 2013).

As embalagens para fins alimentícios podem ser de inúmeros materiais, entre os mais importantes estão o vidro, metal, plásticos e celulósicos. A escolha do tipo de material utilizado vai depender de inúmeros fatores, como o tipo de produto; exigências de proteção; a vida útil do produto requerida; o mercado a que se destina; o circuito de distribuição e venda (BARÃO, 2011). No entanto, também devem ser levados em consideração os aspectos econômico e mercadológico. O aspecto econômico é um dos fatores importantes que contribuíram para a mudança do vidro para o plástico, por exemplo.

1.3.2. Embalagens plásticas

Plásticos representam a classe de embalagens que mais interage com os alimentos (OLIVEIRA, 2013); apresentam características que resultam do tipo de material e de sua composição estrutural, ou seja, há filmes plásticos simples com características de proteção limitadas, como a alta permeabilidade aos gases, ao vapor d' água e irradiações luminosas, como também, as embalagens convertidas, isto é, os laminados com propriedades de proteção equivalentes às dos recipientes metálicos e vidros, ou melhor, quando uma folha de alumínio está integrada a estrutura do laminado (JORGE, 2013).

O termo “*plástico*” é frequentemente utilizado para titular os materiais à base de polímeros sintéticos ou naturais modificados; esses podem ser moldados por calor e/ou pressão. Os materiais plásticos utilizados na confecção de embalagens são bem diversificados na sua estrutura química e exibem múltiplas propriedades em função do processamento, aditivos integrados e fusão com outros polímeros (JORGE, 2013).

Dentre os diversos tipos de materiais para embalagens alimentares, o plástico vem ganhando por possuir enorme destaque e vantagens. A indústria de embalagens tem trabalhado na evolução de tecnologias para atender o consumidor em relação à facilidade de transporte e consumo, abertura e fechamento da embalagem entre outros (GONÇALVES, 2014).

Características importantes acompanham as embalagens plásticas, como a elevada propriedade mecânica, baixo custo, menor peso e uma moldagem mais descomplicada, possuindo diversos tamanhos e formatos. Esse material possui a capacidade de satisfazer imensa variedade de exigências funcionais quando comparado a outros tipos de materiais. Entretanto, é considerável salientar que materiais em contato com alimentos necessitam ser

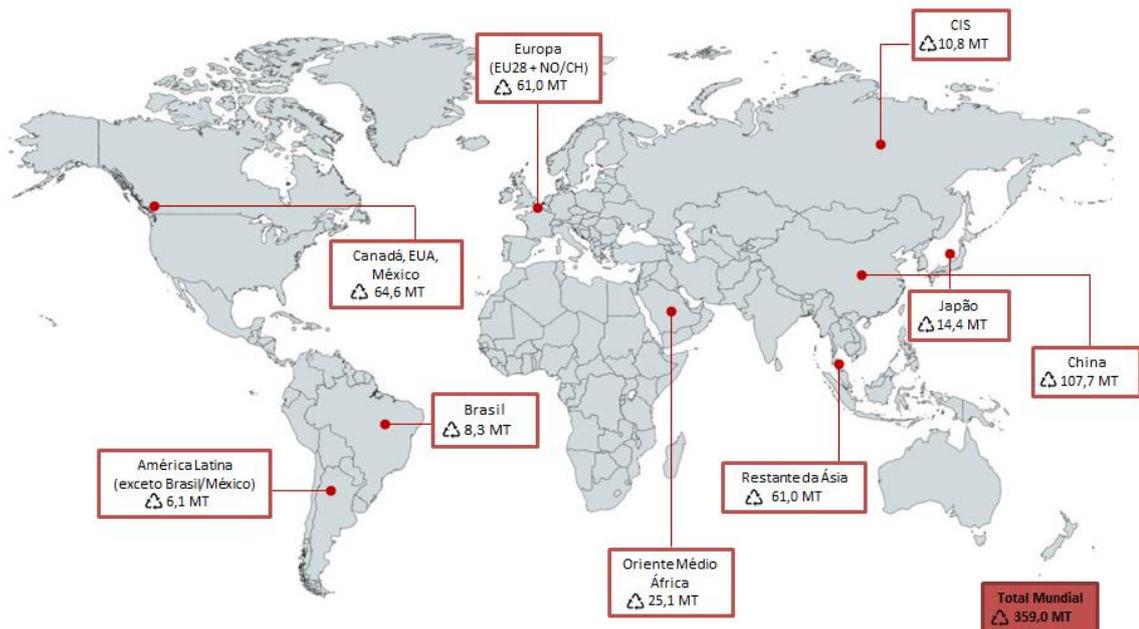
inertes, ou seja, não podem contaminar o alimento através de migração ou transferência de alguma substância utilizada na produção da embalagem (GONÇALVES, 2014; BALAN, et al, 2016).

Em se tratando de plásticos flexíveis, são muito utilizados em embalagem de alimentos objetivando a conservação e proteção dos mesmos. Entretanto, cada alimento carece de um tipo de embalagem específica, que possibilite os requisitos de proteção para sua melhor conservação, como proteção à luz, barreira à umidade, barreira a gases (O₂, CO₂, etc.), resistência mecânica, etc. (COLTRO; MACHADO, 2011).

Em suma, os plásticos integram a classe de embalagens que mais interage com os alimentos. Ademais, é permeável, apesar das suas propriedades de barreira variarem entre os vários tipos de materiais. Uma gama enorme de plásticos tem sido introduzida no mercado de embalagens em ambas as formas, rígidas e flexíveis (OLIVEIRA, 2013).

Os dados da produção mundial de resinas termoplásticas em 2018 mostram os milhões de toneladas desses plásticos no mundo (Figura 5).

Figura 5. Produção mundial de resinas termoplásticas ⁽¹⁾



Legenda:

⁽¹⁾ Dados agregam termoplásticos, poliuretanos, termofixos, elastômeros, adesivos, revestimentos e selantes e fibras de Polipropileno.

MT: Milhões de toneladas.

CIS: Comunidade dos Estados Independentes que incluem Armênia, Bielo-Rússia, Cazaquistão, Federação Russa, Moldávia, Quirguistão, Tadjiquistão, Turcomenistão, Ucrânia, Uzbequistão, Geórgia e Azerbaijão.

Europa: compreende os países da União Europeia (EU), Suíça (CH) e Noruega (NO).

Fonte: (Adaptado de ABIPLAST, 2019 pelo próprio autor).

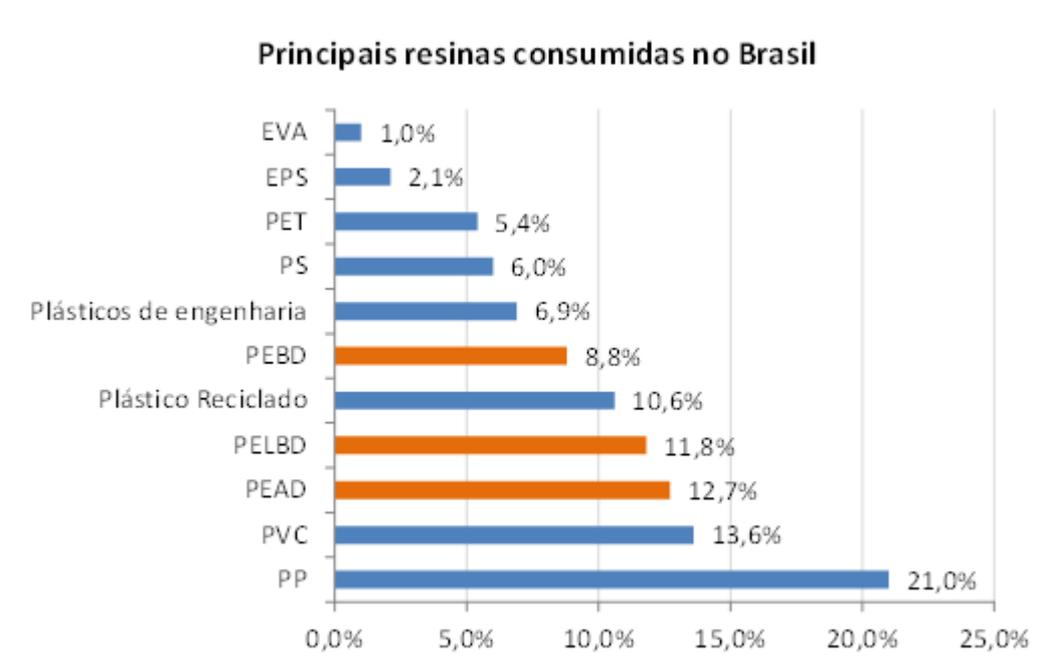
Segundo informações da *Plastics Europe*, em 2019, a produção global de plásticos chegou a quase 370 milhões de toneladas. Na Europa, a produção de plásticos foi de quase 58 milhões de toneladas. Nesse mesmo ano, a China atingiu 31% da produção mundial de plásticos (PLASTICS EUROPE, 2020).

Em se tratando de Brasil, os setores que mais utilizam produtos plásticos em sua composição são o setor de construção civil e o de alimentos e bebidas com 16% (cada) do consumo, e o setor de automóveis/autopeças com 15% do consumo de produtos plásticos (SILVA; NETO, 2015).

Ao longo da história, o vidro, papel e o metal eram os materiais mais utilizados como embalagem, contudo, através das últimas décadas, os polímeros entraram em cena com força e substituíram os materiais convencionais nas embalagens para alimentos, em razão da sua

funcionalidade, leveza, facilidade de processamento e baixo custo. Derivados do petróleo os polímeros mais aplicados nas embalagens de alimentos são o PE, o PEAD e o PEBD, o PP, o poliestireno (PS), o PVC, o policarbonato (PC) e o PET (DUNCAN, 2011; GONÇALVES, 2014). O intuito do presente estudo é abordar somente sobre os principais tipos de Polietileno PE.

Figura 6. Principais resinas consumidas no Brasil



EVA: Etileno-acetato de vinila. EPS: Poliestireno expandido. PET: Poli (tereftalato de etileno). PS: Poliestireno. PEBD: Polietileno de baixa densidade. PELB: Polietileno linear de baixa densidade. PEAD: Polietileno de alta densidade. PVC: Poli (cloreto de vinila). PP: Polipropileno

Fonte: (Adaptado de ABIPLAST, 2019 pelo próprio autor).

1.3.3 Polímeros

A palavra polímero é de origem grega, onde *poly* e *meros*, quer dizer “muitos” e “partes”, respectivamente. Os polímeros representam uma classe de macromoléculas compostas por unidades estruturais repetidas, dispostas e unidas por ligações covalentes, formando uma cadeia longa e complexa. Essas unidades repetidas resultam de moléculas pequenas, designadas monómeros (SILVA, 2017). Já a ligação covalente é o compartilhamento de dois elétrons entre os átomos. Normalmente, essas ligações envolvem curtas distâncias e muita energia. A ligação covalente mais comum, na maioria dos polímeros,

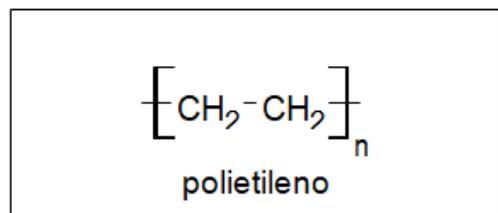
é a ligação C-C e, o polietileno (PE) tem sua principal cadeia formada exclusivamente por esse tipo de ligação. Dependendo da estrutura química (tipo de monômero), número médio de meros por cadeia e tipo de ligação covalente, os polímeros podem ser distribuídos em três grandes classes: plásticos, borrachas e fibras (PORTO, 2013).

Em relação a sua origem, os polímeros podem ser naturais, de origem animal (lã) ou de origem vegetal (fibras celulósicas, algodão); ainda de forma artificial, produzido pelo Homem, ao utilizar polímeros naturais como matérias-primas (acetato de celulose) ou de forma sintética, proveniente do carvão ou petróleo (polietileno) (SILVA, 2017).

Além das macromoléculas obtidas na natureza, como a celulose, por exemplo, inúmeros produtos químicos adquiridos através da via sintética possuem cadeias longas, sendo assim, são nomeados como *polímeros sintéticos*. As características dos polímeros vão depender dos monômeros, do tipo de reação aplicada na sua obtenção e da técnica de preparação (PORTO, 2013).

Em relação à estrutura química, o polímero é estudado mediante estrutura química do seu mero e nessa classificação há duas subdivisões: polímeros de *cadeia carbônica* e polímeros de *cadeia heterogênea*. Em se tratando de *cadeia carbônica*, temos as poliolefinas - polímeros que são originários de monômeros de hidrocarboneto alifático insaturado e, que possuem dupla ligação carbono-carbono reativa – aqui, encontramos o polietileno (Figura, 7) (PORTO, 2013).

Figura 7. Representação da estrutura do polietileno



Fonte: (PORTO, 2013).

Em relação ao comportamento mecânico, os polímeros são classificados em: *plásticos*, *elastômeros* e *fibras*. *Plásticos* são insumos poliméricos sólidos em temperatura ambiente, podendo ser categorizados em *termoplásticos* e *termorrígidos*. *Termoplásticos* são polímeros que amolecem sob o efeito da temperatura e pressão ficando em condições de moldagem.

Além disso, são solúveis e dispõem de cadeia linear ou ramificada, por exemplo, o PE, entre outros. Os *termorrígidos* são polímeros que, ao entrar em contato com determinada temperatura e pressão, amolecem, alcançando a forma do molde e reagindo quimicamente formando ligações cruzadas entre cadeias e se solidificam. Em seguida à solidificação, se transformam em materiais insolúveis, infusíveis e não recicláveis, diferentemente dos termoplásticos que são recicláveis. Alguns exemplos são: baquelite, epóxi, etc. Os polímeros PE são, normalmente, aditivados com corantes, pigmentos, plastificantes, estabilizadores, antioxidantes; todos esses proporcionam características, como cor, flexibilidade, resistência mecânica, resistência às intempéries, etc. (PORTO, 2013).

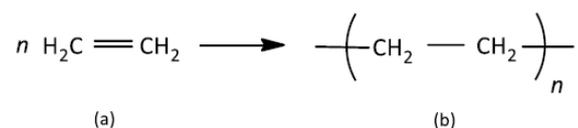
1.3.4 Polietileno

Após a sua descoberta, o polietileno passou a ser um material extremamente promissor, em razão de suas propriedades e estrutura simples, sendo na atualidade, um dos polímeros mais consumidos mundialmente (SILVA, 2017).

Descoberto na Grã-Bretanha em 1933, o polietileno começou a ser comercializado em 1939; considerado um dos plásticos mais vendidos graças às inúmeras vantagens apresentadas – boa transparência, versátil, rígido ou flexível, de fácil processamento, não absorve a umidade do ar (não higroscópico), com valor reduzido - e, dentre os termoplásticos, é considerado o único não tóxico (CANDIAN, 2007).

O monômero utilizado como matéria-prima para sintetizar esse polímero é o etileno (a); o PE apresenta como unidade repetida da sua cadeia a estrutura representada na figura abaixo (b) (Figura 8) (COUTINHO *et al.*, 2003).

Figura 8. Reação geral da síntese de Polietileno: (a) etileno; (b) unidade repetida presente na cadeia do polietileno



Fonte: (SILVA, 2017).

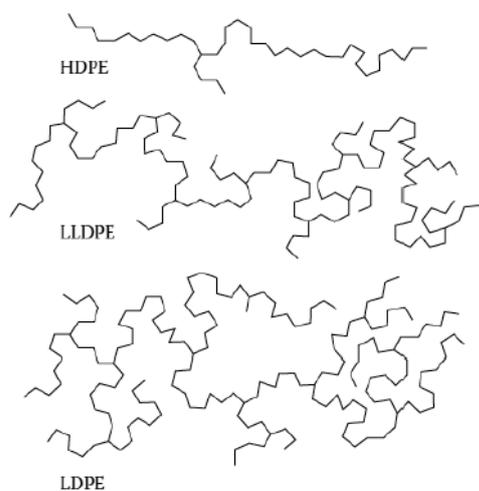
A polimerização é um conjunto de reações químicas que vão provocar o encontro de moléculas pequenas por ligação covalente, tendo a formação de um polímero e como já explicado, o PE é um polímero formado por uma reação de adição, a partir de um único tipo de monômero na quebra da dupla ligação do etileno (eteno), para formar duas ligações simples, onde cada molécula de eteno se une a outras duas levando a cadeia do polímero n (etileno) → polietileno (PISANU, 2008).

O polietileno é inerte face à maioria dos produtos químicos comuns, graças à sua natureza parafínica, alto peso molecular e estrutura parcialmente cristalina; é, em parte, solúvel a todos os solventes em temperatura menor que 60°C (COUTINHO *et al.*, 2003).

Segundo Silva (2017), a distinção entre os tipos de PE está atrelada, especialmente, a densidade, extensão e ao comprimento da ramificação da cadeia, o peso molecular médio e a distribuição do peso molecular, o que vai danificar o grau de cristalinidade, como também, as propriedades físicas e mecânicas. As principais variedades de PE são (Figura 9):

- Polietileno de baixa densidade (PEBD ou LDPE)
- Polietileno de alta densidade (PEAD ou HDPE)
- Polietileno linear de baixa densidade (PELBD ou LLDPE)

Figura 9. Estrutura dos tipos de polietileno: de cima para baixo, polietileno de alta densidade (HDPE), polietileno linear de baixa densidade (LLDPE) e polietileno de baixa densidade (LDPE)



Fonte: (SILVA, 2017).

1.3.4.1 Polietileno de Baixa Densidade (PEBD ou LDPE)

O PEBD é um polímero parcialmente cristalino (40-50%), com 4 a 10 cadeias longas laterais para cada 1000 átomos de carbono; temperatura de fusão (T_m) na faixa de 110 a 115°C. Seu processo de produção utiliza pressões entre 1000 e 3000 atmosferas e demanda temperaturas de até 300°C, acima disso, o polímero tende a se degradar (PISANU, 2008).

Em relação às suas propriedades há uma combinação única: tenacidade, alta resistência ao impacto e flexibilidade, boa processabilidade e estabilidade; também é resistente à água e a algumas soluções aquosas - mesmo em altas temperaturas - e, pouco solúveis em solventes polares, como álcoois, ésteres e cetonas. A permeabilidade à água é baixa e, é muito mais baixa as substâncias orgânicas polares, como álcool ou éster, do que as substâncias apolares, como heptano ou éter dietílico (COUTINHO *et al.*, 2003).

Em relação às suas aplicações, o PEBD é o material mais amplamente utilizado como um revestimento em recipientes para alimentos; pode ser processado por extrusão, injeção e moldagem por sopro. Dessa forma, utilizado em diversos produtos, sendo o principal deles os filmes destinados a embalagens de alimentos líquidos e sólidos e filmes laminados e plastificados para alimentos - produtos de panificação, embalagem de água, leite e margarina, produtos agrícolas e para aves (SCHWOPE *et al.*, 1987).

1.3.4.2 Polietileno de Alta Densidade (PEAD ou HDPE)

O PEAD é demasiadamente cristalino (>90%), pois possui baixo teor de ramificações (4 a 10 cadeias laterais curtas para cada 100 átomos de carbono), com temperatura de fusão de aproximadamente 132°C e densidade entre 0,95 e 0,97 g/cm³. O peso molecular está em torno de 50.000 a 250.000. Esse tem influência sobre as propriedades do PEAD, especialmente devido ao seu efeito na cinética de cristalização, cristalinidade final e ao caráter morfológico da amostra (PISANU, 2008).

Em relação às suas propriedades, as cadeias lineares e, sua maior densidade, proporcionam uma maior eficiência do alinhamento e do empacotamento das cadeias; as forças intermoleculares (Van der Waals) agem de modo mais intenso e, a cristalinidade passa a ser maior quando comparado com o PEBD. A cristalinidade sendo maior, a fusão ocorrerá em uma temperatura mais elevada. Os filmes de PEAD são menos transparentes do que o PEBD (obtido via radicais livres), que é menos cristalino, graças à cristalinidade e à diferença de índice de refração entre as fases amorfa e cristalina (COUTINHO *et al.*, 2003).

Um aumento no teor de ramificações reduz a cristalinidade e é acompanhado por variação significativa das características mecânicas, uma vez que causa um aumento no alongamento na ruptura e uma redução da resistência à tração (COUTINHO *et al.*, 2003).

A orientação das cadeias poliméricas proporciona uma influência forte sobre as propriedades mecânicas do polímero. Materiais fabricados com PEAD orientado são, pelo menos, dez vezes mais resistentes em relação ao fabricado a partir do polímero não orientado, já que a orientação aumenta o empacotamento das cadeias que por sua vez aumenta a rigidez do polímero (COUTINHO *et al.*, 2003).

Em temperaturas elevadas, o oxigênio ataca a macromolécula, reduzindo seu peso molecular; já em baixas temperaturas pode ocorrer degradação foto-oxidativa; também é ligeiramente permeável a substâncias orgânicas, tanto em fase líquida como gasosa. A permeabilidade à água e gases inorgânicos é baixa, sendo menos permeável a gases (CO₂, O₂, N₂) do que o PEBD (COUTINHO *et al.*, 2003).

Em relação às suas aplicações utiliza-se o PEAD em diversos segmentos da indústria de transformação de plásticos, abarcando os processamentos de moldagem por extrusão e injeção. Pelo processo de injeção, é usado para inúmeros objetivos, sendo um deles a confecção de potes para alimentos; já por extrusão, em sacos para congelados, redes para embalagem de frutas, e sacolas de supermercados (COUTINHO *et al.*, 2003).

O PEAD e o PEBD possuem muitas funções em comum, mas em geral, o PEAD é mais duro e resistente e o PEBD mais flexível e transparente. Simplificando o exposto, em relação à dureza e flexibilidade, o PEAD é utilizado na fabricação de tampas com rosca (rígidas) e o PEBD na de tampas sem rosca (flexíveis) (COUTINHO *et al.*, 2003).

1.3.4.3 Polietileno Linear de Baixa Densidade (PELBD ou LLDPE)

O PELBD possui estrutura molecular de cadeias lineares com ramificações curtas e distribuição de peso molecular estreita quando comparada com a do PEBD. É um copolímero de etileno com uma α -olefina (propeno, 1-buteno, 1-hexeno ou 1-octeno). A microestrutura da cadeia dos copolímeros de etileno/ α -olefinas vai depender do tipo e da distribuição do comonômero utilizado, como também do teor de ramificações e, do peso molecular dos polímeros. Esses parâmetros interferem nas propriedades físicas do produto final, já que atuam diretamente na cristalinidade e na morfologia semicristalina (COUTINHO *et al.*, 2003).

Comparando o PELBD com o PEBD verifica-se que, como uma consequência do baixo teor de ramificações curtas e da ausência de ramificações longas, o PELBD é mais

crystalino. Com cadeias lineares de baixo grau de ramificações curtas, o PELBD cristaliza em lamelas mais ordenadas e mais espessas do que o PEBD. Conseqüentemente, o PELBD apresenta melhores propriedades mecânicas e maior temperatura de fusão (COUTINHO *et al.*, 2003).

A maior resistência ao cisalhamento e a maior susceptibilidade à fratura do fundido fazem com que o processamento do PELBD seja mais difícil em comparação com o do PEBD. No entanto, as ótimas propriedades mecânicas de filmes de PELBD, aliadas às suas boas características ópticas, mostram que vale a pena tentar vencer as dificuldades encontradas no processamento desse polímero (COUTINHO *et al.*, 2003).

As propriedades de filmes de PELBD são atribuídas a sua linearidade e cristalinidade. A estrutura molecular do PELBD é essencialmente linear devido ao tipo de catalisador usado. Sua cristalinidade, embora muito menor que a do PEAD, é maior do que a do PEBD. Essa maior cristalinidade em adição à linearidade das cadeias poliméricas afeta positivamente as propriedades mecânicas dos filmes sem causar decréscimo em suas características ópticas. Comparado ao PEAD, o PELBD apresenta resistência à tração e dureza mais baixas, conforme aumenta o teor de ramificações, e exibe maior resistência ao impacto e ao rasgamento (filmes) (COUTINHO *et al.*, 2003).

Em relação às suas aplicações o PELBD é um termoplástico com alta capacidade de selagem a quente, muito utilizado nas embalagens de gêneros de primeira necessidade, como em filmes para uso industrial, brinquedos, fraldas descartáveis e absorventes, artigos hospitalares e farmacêuticos; a extrusão de filmes tubulares proporciona materiais para embalagem de aves e de pão (COUTINHO *et al.*, 2003).

Abaixo, o resumo das principais propriedades dos tipos de polietilenos mencionados acima (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo das principais propriedades dos tipos de polietileno

<p>Polietileno de baixa densidade (PEBD)</p>	<p>Grau de cristalinidade: 42-62% - parcialmente. 4-10 cadeias longas/1000 átomos carbono Temp. Fusão: 110-115°C Densidade: 0,910-0,925 g/cm³ Pressões: 1000-3000 ATM Temperatura até 300°C Resistente a água Filmes destinados a embalagens de alimentos líquidos e sólidos Mais flexível e transparente</p>
<p>Polietileno de alta densidade (PEAD)</p>	<p>Grau de cristalinidade: 67-82% 4-10 cadeias curtas/100 átomos carbono Temp. Fusão: 132°C Densidade: 0,95 e 0,97 g/cm³ Menor permeabilidade à água e gases Potes para alimentos, sacos para congelados, sacola de mercado. Mais duro e resistente</p>
<p>Polietileno linear de baixa densidade (PELBD)</p>	<p>Grau de cristalinidade: 34-62% Baixo teor de ramificações Temp. Fusão: 105-125°C Densidade: 0,910-0,925g/cm³ Estrutura essencialmente linear Melhores propriedades mecânicas e > temperatura de fusão Processamento mais difícil Resistência à tração e dureza mais baixas (PEAD) Alta capacidade de selagem a quente Embalagens de gêneros de 1^o necessidade (filmes para uso industrial, brinquedos, fraldas descartáveis e absorventes, artigos hospitalares e farmacêuticos, embalagens de aves e pães).</p>

Fonte: (COUTINHO et al, 2003; SILVA, 2017).

1.4 Aditivos

Além da matriz polimérica usada como o maior componente na formulação dos materiais poliméricos, são incorporados aditivos orgânicos ou inorgânicos, com a finalidade de moldar e ajustar as propriedades, introduzir novas ou ainda para facilitar o processamento.

Os aditivos são amplamente utilizados na indústria, visto que, pequena quantidade é suficiente para conseguir as propriedades finais desejadas, na maior parte das vezes. A depender do tipo de polímero e do aditivo, esse pode ser incluído no polímero antes de ser processado, na etapa de mistura ou na máquina de processamento (durante o processamento) ou na superfície do produto final conquistado. Ademais, muitas vezes, uma combinação de aditivos está presente (SILVA, 2017).

Existem diversos tipos de aditivos, tais como antioxidantes, plastificantes, deslizantes, estabilizantes, lubrificantes, absorvedores de UV, antiestáticos etc., que são utilizados para

melhorar as características do polímero durante sua produção, processamento e uso. Entretanto, os aditivos utilizados em embalagens plásticas para alimentos não devem interferir nas características do alimento, além de não poderem ser tóxicos e nocivos à saúde humana. Os inúmeros tipos de aditivos - antioxidantes, deslizantes, plastificantes, lubrificantes, estabilizantes, absorvedores de UV, antiestáticos, etc. - são empregados com o objetivo de melhorar as características do polímero não só durante a produção, mas também, no uso como embalagens (DOPICO-GARCÍA *et al.*, 2003; MACHADO *et al.*, 2009).

Os aditivos apresentam tamanho reduzido das suas moléculas e, isso pode ocasionar um processo indesejável de migração para o alimento acondicionado na embalagem plástica, podendo levar a alterações de cor, sabor, textura, entre outros (MACHADO *et al.*, 2009). Os vários tipos de aditivos são comumente incorporados em polímeros em concentrações que podem variar de 0,01-1,0% em peso a fim de minimizar o efeito da degradação oxidativa, tanto durante o processamento como na vida útil do polímero (BAILEY *et al.*, 2008).

1.4.1 Antioxidantes

Os antioxidantes são definidos como substâncias que se opõem à oxidação ou inibe reações promovidas pelo oxigênio ou peróxidos, sendo os aditivos de maior importância na indústria de polímeros, pois ainda, elevam a resistência dos mesmos à temperatura, como também, o tempo de utilização. Em se tratando de antioxidantes para polímeros, atuam especificamente para retardar a oxidação pelo ar atmosférico ou nos efeitos degradativos da oxidação (ABRANTES, 1999).

Ainda, são importantes ingredientes na composição do polietileno devido a uma limitada estabilidade a altas temperaturas e luz ultravioleta (UV). A todas as poliolefinas são adicionados pelo menos um antioxidante na formulação. A determinação dos níveis de antioxidantes no material poliolefínico confere informações sobre seu potencial de migração e, concomitantemente, a medição da qualidade do plástico (DOPICO-GARCÍA *et al.*, 2007; COLTRO; MACHADO, 2011).

Adicionar a um material de embalagem um antioxidante pode ajudar a proteger o produto embalado da oxidação e ranço, uma vez que o oxigênio ataca principalmente a superfície dos alimentos (WESSLING *et al.*, 1998). Também, aumentar a estabilização do polímero e dificultar a degradação durante o processamento, armazenamento e uso final. Assim, são utilizados em pequenas quantidades com o intuito de proteger da degradação quando expostos ao oxigênio atmosférico (SILVA, 2017).

Existem duas principais classes de antioxidantes: os primários ou bloqueadores de radicais, que vão inibir a oxidação através de reação com radicais propagadores de cadeia, sendo, geralmente fenóis estericamente impedidos, ou aminas aromáticas secundárias; os secundários ou decompositores de hidroperóxidos: que vão decompor os peróxidos em produtos estáveis não radicalares, como os tioésteres e fosfitos/fosfonitos (ABRANTES, 1999).

Os fenóis estericamente impedidos são os que possuem a mais ampla variedade de estruturas e compõem mais de 60% dos antioxidantes disponíveis comercialmente. As aminas são pouco usadas em termoplásticos, apesar de serem eficientes, visto que, possibilitam uma forte alteração de cor. São aplicadas em elastômeros pretos vulcanizados.

Em relação aos antioxidantes secundários, os tioésteres são ésteres de cadeia longa do ácido tiodipropiônico. Fosfitos aromáticos e fosfonitos são comumente escolhidos em razão de possuírem maior estabilidade hidrolítica quando comparados aos tipos alifáticos. Regularmente, combinações dos antioxidantes primários e secundários são utilizadas a fim de alcançar efeito sinérgico.

Os PE são um dos polímeros que mais utilizam antioxidantes em sua estrutura, sendo então, estabilizado contra oxidação para prevenir surgimento de cor amarelada e mudança na viscosidade. O antioxidante mais comum aplicado ao PEBD é o butil-hidroxitolueno (BHT), na faixa de 50 a 500 mg, sozinho ou por vezes, associado a um fosfito ou tioéster. O PEAD requer um antioxidante com menor volatilidade e maior peso molecular, como os polifenóis ou fosfitos fenólicos, sendo esses últimos preferíveis para eliminar a formação de cor amarelada em razão da presença de resíduos de catalisadores (LAWSON *et al.*, 1996).

Os sintéticos são os mais predominantemente utilizados pela indústria, pois são de baixo valor comercial e com alta eficiência. Entretanto, pesquisas têm apontado que o uso desses em embalagens de alimentos poderia ter um efeito tóxico e carcinogênico para o ser humano. Alguns dos antioxidantes sintéticos que podem ser citados dentro desse escopo seriam o butil-hidroxianisol (BHA), BHT e galato de propila. Esses podem ser um dos responsáveis por vários agravos à saúde, tais como: danos ao fígado, pulmão e desenvolvimento de alguns tipos de câncer em animais de laboratório (LINO, 2012; FREITAS, 2015; TURELHA, 2019). Também, a ingestão de alguns antioxidantes em longo prazo poderia ser prejudicial ao sistema reprodutivo do corpo humano (LIANG *et al.*, 2020).

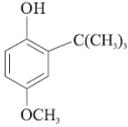
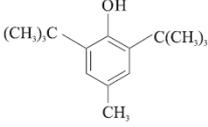
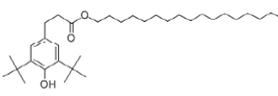
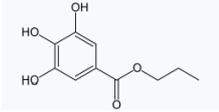
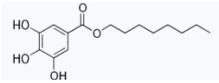
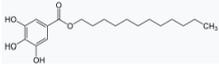
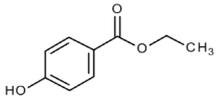
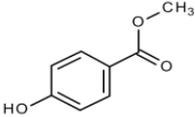
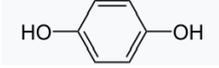
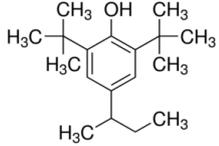
A indústria de poliolefinas utiliza cerca da metade dos antioxidantes desenvolvidos na fabricação de polímeros termoplásticos. No decorrer do processamento, as poliolefinas enfrentam a ação de altas temperaturas (200-300°C) e também exposição à radiação

ultravioleta que, na presença de oxigênio, provoca reação em cadeia via radicais livres acarretando em quebra de ligações e ocorrência de reação cruzada no polímero, com conseqüente deterioração das propriedades físicas do mesmo. Com o objetivo de evitar a degradação do polímero usam-se antioxidantes em uma concentração de 0,1-1% (p/p) da resina (ABRANTES, 1998).

Dentre os antioxidantes utilizados nas poliolefinas destacam-se: o BHT, BHA, galato de propila (GP), galato de octila (GO), galato de dodecila (GD), 4-hidroxibenzoato de metila (4 HBM), 4-hidroxibenzoato de propila (4 HBP), Irganox 1076 - 3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo, 1,4-dihidroxibenzeno (hidroquinona), 4-sec-butil-2,6-di-ter-butil-fenol, que são objetos de estudo do presente trabalho.

A União Europeia (UE) (COMMUNITIES OF EUROPEAN, 1994) relaciona essas substâncias em listas positivas de monômeros e substâncias de partida e de aditivos, com suas classificações quanto as toxicidades e limites de migração específicos praticadas pelo Comitê Científico para Alimentos (*Scientific Committee for Foods, SCF*) (ABRANTES, 1998). A Tabela a seguir, apresenta as abreviações, estruturas, números de classificação dados pelo SCF (nº SCF), valores da ingestão diária aceitável (IDA) ou ingestão diária tolerável (IDT) e os limites de migração específicos (LME) dos antioxidantes estudados.

Tabela 3. Abreviações, estruturas, classificação pelos SCFs, IDAs, IDTs, LMEs dos principais aditivos fenólicos

Substância	Abreviação	Estrutura	n° SCF*	IDA ou IDT (mg/kg) p.c.**	LME (mg/kg)
3-terc-butil-4-hidroxianisol	BHA		1	0,5	30
2,6-di-terc-butil-4-hidroxitolueno	BHT		1	0,05	3
3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo	Irganox 1076		1	0,1	6
Galato de propila	GP		1	0,5	30
Galato de octila	GO		1	0,5	30
Galato de dodecila	GD		1	0,5	30
4-hidroxibenzoato de etila	4 HBE		1	10	#
4-hidroxibenzoato de metila	4 HBM		1	10	#
1,4-dihidroxibenzeno	Hidroquinona		1	0,08%	0,6
4-sec-butil-2,6-di-terc-butil-fenol			1	#	#

IDA = Ingestão diária aceitável; IDT = Ingestão diária tolerável; SCF = *Scientific Committee for Foods*; LME = Limite de migração específico. # não possui.

1 – A IDA foi estabelecida pelo Comitê (SCF) ou pelo Comitê conjunto (JECFA) de peritos em aditivos alimentares da Organização Mundial da Saúde (WHO) e da Organização de Agricultura e Alimentos (FAO).

2 – A IDT foi estabelecida pelo Comitê SCF.

**p.c. = peso corpóreo.

Fonte: (ABRANTES, 1998).

1.5 UTILIZAÇÃO DOS ANTIOXIDANTES PELA INDÚSTRIA

Em 1797 surgiu o primeiro relato da ação anti-oxigênica pelo químico francês Claude Berthollet, ao observar que os vestígios de vapores dos compostos de enxofre bloqueavam a luminescência do fósforo em atmosfera de oxigênio diluído. Em seguida, em 1817, o britânico e químico Humphry Davy descobriu a combustão catalítica ao posicionar um fio de platina aquecido em uma mistura de ar urbano que ficou com coloração branca forte durante a combustão. Duclaux foi o primeiro a demonstrar, em 1886, que o oxigênio atmosférico representava o maior agente causador da oxidação do ácido graxo livre, desta maneira, impulsionou a pesquisa da rancificação de gorduras que se encontrava inativa. Tsujimoto, em 1908, descobriu que a oxidação de triglicerídeos altamente insaturados provocaria odor de ranço em óleo de peixe (VIEIRA; CARRIJO, 2013).

Em 1843 surgem os primeiros estudos que mostram o uso de antioxidantes para adiar a oxidação lipídica. Foi demonstrado por Deschamps que uma pomada feita a base de banha de porco fresco incluindo goma benzóica não se tornaria rançosa, diferentemente da banha pura. A razão desta preservação se dá em razão da ação anti-oxigênica das substâncias fenólicas existentes na benzoína. Em 1852, Wright descreveu a respeito da conservação de gorduras cometida pelos índios americanos do Vale de Ohio através do uso da casca de ulmeiro. Com isso, após 30 anos dessa observação, o produto foi patentado como antioxidante (VIEIRA; CARRIJO, 2013).

Os clássicos estudos de Moureu e Dufraise impulsionaram os conhecimentos atuais a respeito das propriedades de diversos produtos químicos para prevenir a oxidação de gorduras e alimentos gordurosos. No decurso da Primeira Guerra Mundial e anos depois, esses pesquisadores experienciaram a atividade antioxidante de mais de 500 compostos. Essa investigação básica, atrelada com a importância da oxidação de quase todas as operações de manufatura, vem provocando alta procura por aditivos químicos em direção ao controle da oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

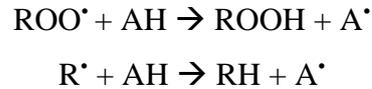
Pela primeira vez, em 1936, Olcott e Mattill demonstraram a sinergia existente entre o antioxidante e os alimentos. Tal fato foi considerável para entender a estabilidade oxidativa em alimentos através de uma combinação de antioxidantes vistos na fração insaponificável de óleos. Descreveram, portanto, os antioxidantes como inibidores e os agruparam em grupos - ácidos, inibidores, fenólicos e hidroquinona (VIEIRA; CARRIJO., 2013).

A datar da década de 1960, em função do desenvolvimento eficiente das técnicas analíticas, o conhecimento de auto-oxidação de lipídios insaturados e mecanismos antioxidantes têm evoluído de forma expressiva, principalmente, as últimas décadas têm sido muito importantes para a pesquisa de antioxidantes. Além disso, por todo o globo, há uma busca por antioxidantes em alimentos e por seus benefícios em potencial para a saúde relacionada à prevenção e ao tratamento de doenças pertinentes com o estresse oxidativo (VIEIRA; CARRIJO, 2013).

Das inúmeras substâncias que têm sido recomendadas para impedir a deterioração oxidativa das substâncias oxidáveis, apenas um pequeno número pode ser utilizado em produtos para consumo humano. Na apuração de antioxidantes, as seguintes propriedades são desejáveis: eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); inexistência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento; conformidade com o alimento e fácil aplicação; equilíbrio nas condições de processo e armazenamento e o composto e seus produtos de oxidação não devem ser tóxicos, ainda que em doses muito maiores do que as que geralmente seriam ingeridas no alimento. Para mais, na escolha de um antioxidante deve-se considerar outras razões, abrangendo a legislação, o custo e a predileção do consumidor por antioxidantes naturais (BAILEY, 1996; RAFECAS et al., 1998).

De acordo com Bailey (1996), podemos classificar os antioxidantes em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos. Os primários são os pesquisados pelo presente estudo, sendo compostos fenólicos que propiciam a remoção ou inativação dos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, mediante doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, findando a reação em cadeia. Abaixo, pode-se observar esse mecanismo através da Figura 10.

Figura 10. Mecanismo de ação para os antioxidantes primários.



Onde: ROO[•] e R[•] - radicais livres; AH – antioxidante com um átomo de hidrogênio ativo e A[•] - radical inerte.

Fonte: (BAILEY, 1996).

O átomo de hidrogênio ativo do antioxidante é separado pelos radicais livres R[•] e ROO[•] com mais destreza que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Desse modo, criam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (A[•]) proveniente do antioxidante. Estabilizado por ressonância, esse radical não tem a habilidade de iniciar ou disseminar as reações oxidativas (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os principais e mais conhecidos antioxidantes desse grupo são os Polifenóis, como butil-hidroxi-anisol (BHA), Butil-hidroxitolueno (BHT), Terc-butil-Hidroquinona (TBHQ) e propil galato (PG), sendo esses sintéticos, e os tocoferóis, que são naturais (NAMIKI, 1990).

O BHA é mais eficaz na remoção da oxidação em gorduras animais comparado a óleos vegetais. Assim como grande parte dos antioxidantes fenólicos, a eficiência desse antioxidante é limitada em óleos insaturados de vegetais ou sementes. Possui baixa estabilidade perante temperaturas elevadas, contudo é, sobretudo eficaz no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta, como os contidos em óleo de coco e palma (BAILEY, 1996). O BHT possui propriedades similares ao BHA, entretanto, ao passo que o BHA é um sinergista para propilgalatos, o BHT não. Esses dois antioxidantes podem atribuir odor em alimentos quando expostos a temperaturas elevadas, como no caso da fritura, por exemplo, por longos períodos. Além disso, são sinergistas entre si; o BHA agindo como sequestrante de radicais peróxidos, à medida que, o BHT age como sinergista, ou recuperador de radicais BHA (OMURA, 1995).

1.6 Migração dos Antioxidantes

As embalagens de alimentos têm a função de proteger os mesmos contra intempéries externas, mas não são completamente inertes. A elas, são adicionados aditivos e outras substâncias a fim de melhorar seus atributos, porém estes podem migrar para os alimentos e por isso, são regulados por legislação específica através de limites de composição nos plásticos ou migração para os alimentos. Com isso, estudos têm sido realizados em embalagens plásticas comerciais para rastrear potenciais migrantes ou também, determinar os níveis de migração nos simuladores de alimentos (DOPICO-GARCÍA *et al.*, 2007; ANVISA, 2019b).

A migração consiste de fenômenos de transferência de massa que incluem a difusão de substâncias de materiais em contato com alimentos, ou seja, a passagem de substâncias de baixo peso molecular. Já a Sorção é a absorção de componentes alimentares por materiais de embalagem. Entretanto, a sorção de um componente pode resultar em permeação, dependendo do gradiente de concentração e da afinidade termodinâmica entre o componente e material de embalagem. Diversos critérios influenciam o processo de migração, como por exemplo, o tipo de alimento, principalmente o teor de gordura do mesmo, a temperatura e o tempo do contato, a concentração de substâncias na embalagem, o tamanho molecular e o estado físico do migrante, a morfologia do polímero, etc. (GARCÍA *et al.*, 2018; GNANASEKHARAN *et al.*, 2012).

Ambos, migração e sorção, são processos de difusão, sendo a difusão em polímeros e compostos contendo polímeros, um fenômeno bem complexo. A análise de migração e sorção é fundamentada na interação entre componentes alimentares e os materiais de embalagem, que podem favorecer a migração e sorção simultâneas, podendo gerar alterações nas propriedades dos materiais de embalagem. As equações básicas que comandam os processos de difusão e, portanto, a migração e sorção, são as leis de Fick (GNANASEKHARAN *et al.*, 2012).

Em outras palavras, em termos de ciências mais elementares, a migração é difusão; e a difusão é o mecanismo principal de transferência de massa dos materiais da embalagem para o alimento. Então, é definida como a “transferência de massa de uma embalagem para o alimento por processos microscópicos causados por gradiente de concentração diferente de zero”. A migração específica é a migração de uma substância em particular, que pode proporcionar repercussões toxicológicas ou perturbações de contaminação sensorial. Já a

migração total dimensiona todas as substâncias que migram, porém não dosa os voláteis (ROSA, 2008).

Difusão e solubilidade (quantidade máxima que uma substância pode se dissolver em um líquido) vão depender das dimensões moleculares dos penetrantes. Ao passo que o tamanho molecular do penetrante aumenta, o coeficiente de difusão diminui e o de solubilidade aumenta. Ainda, algumas propriedades do polímero influenciam a migração e sorção, como por exemplo, grau de cristalização, polaridade (composição química), flexibilidade da cadeia, densidade de energia coesiva, temperatura de transição vítrea (Tg), etc.; e essa última, tem forte efeito no transporte de migrantes para dentro e fora do polímero (GNANASEKHARAN *et al.*, 2012).

O Regulamento da União Europeia nº 10/2011 apresenta a lista de substâncias autorizadas a serem utilizadas na fabricação de plásticos destinados a entrar em contato com alimentos, como também, os simuladores que podem ser usados, os quais representam as piores condições de uso dos materiais plásticos. Estes requisitos acrescentam regras gerais determinadas no Regulamento nº1935/2004 referente aos materiais e objetos usados nas embalagens de alimentos (REGULAMENTO UNIÃO EUROPÉIA, 2011).

A Diretriz 82/711/ECC especifica as condições de teste a serem utilizadas ao realizar testes de migração. A Diretiva 85/572/EEC define o simulador alimentar que deve ser utilizado para cada alimento. A Diretiva 90/128/EEC define um limite de migração de 10 mg/dm⁻² (60 mg/kg de alimento) para a migração química de plásticos e, relaciona os monômeros e outros materiais aprovados para uso na fabricação de plásticos, para as aplicações de contato com alimentos (EEC, 1990; COUNCIL DIRECTIVE (ECC), 1982; EEC, 1985; LAWSON *et al.*, 1996).

As implicações toxicológicas da migração de componentes de embalagens para alimentos é um problema sério. A interação da comida com a embalagem é uma questão preocupante e a migração de componentes ou a absorção de sabores é muito associada aos plásticos flexíveis e semirrígidos. Ademais, a maior parte dos plásticos contêm monômeros residuais e outros aditivos, sendo alguns desses suspeitos de serem cancerígenos. A questão da segurança alimentar é provavelmente a motivação mais importante para estudar os componentes de migração dos materiais de embalagens. Qualquer migrante que não esteja presente de forma natural nos alimentos é considerado um aditivo (GNANASEKHARAN *et al.*, 2012). A migração de componentes do polímero para o alimento foi o primeiro tipo de interação estudada em razão dos efeitos na saúde humana (SANTOS, 2013).

O potencial de migração existe em todos os materiais de embalagem. Inúmeras

substâncias são incluídas para proporcionar maior funcionalidade, sendo esses aditivos as principais fontes de migrantes, porém no presente projeto, a migração de substâncias de materiais de embalagem foi estudada nos plásticos, especialmente em PE.

Ainda que existam diversos estudos que abordam a migração de antioxidantes no material poliolefínico, geralmente, são focados nos mesmos antioxidantes, sendo os fenólicos mais usuais o Irganox 1076 (DOPICO-GARCIÄÄ *et al*, 2007) e o BHT, o qual foi encontrado em 16 estudos dos 24 abordados nesta RS.

1.6.1 3-t-Butil-4-hidroxianisol (BHA)

O BHA ou 2-t-butil-4-metoxifenol ou ainda, 4-metoxi-2-t-butilfenol, possui fórmula molecular $C_{11}H_{16}O_2$ e peso molecular de 180,2g. Em condições normais de temperatura e pressão é sólido, insolúvel em água e solúvel em etanol, sendo nocivo quando ingerido, inalado ou absorvido através da pele. Pode causar irritação aos olhos, à pele, atua como um irritante às membranas das mucosas e ao sistema respiratório. Longas exposições podem causar reações alérgicas em indivíduos sensíveis. Ademais, demonstrou ser carcinogênico, tendo como órgão alvo o fígado. Suas propriedades toxicológicas não foram completamente investigadas ainda (SIGMA/ALDRICH, 1995).

O BHA é tido como o melhor antioxidante, representando 90% do BHA comercial. Bastante utilizado em óleos a granel e emulsões de óleo em água; também, utilizado nos materiais de embalagem com o intuito de conferir proteção aos alimentos, dentro da embalagem através da volatilização do antioxidante. Além disso, marca presença em demorado em produtos cosméticos (assim como o BHT) (POP; KISS; LOGHIN, 2013).

Avaliações a respeito da ingestão diária de BHA (e BHT) revelaram que sua ingestão mediante alimentação pode chegar bem perto da sua ingestão diária aceitável (IDA). Ademais, a ingestão adicional através de fármacos pode ultrapassar a IDA, ou seja, esses resultados mostram que boa parte da população pode estar sendo sujeita a doses superiores a IDA (POP; KISS; LOGHIN, 2013).

Além disso, há certo receio em relação ao potencial desse antioxidante como um desregulador endócrino interferindo nos efeitos dos hormônios sexuais e conseqüentemente à diminuição da qualidade e quantidade dos espermatozoides, aumento da incidência de câncer no testículo, de próstata e de mama, como também, compeler malformações no aparelho reprodutor masculino, induzir endometriose, perturbar as funções da tireoide e do sistema nervoso central (POP; KISS; LOGHIN, 2013).

Um desregulador endócrino é uma substância que modifica o funcionamento do sistema endócrino implicando em efeitos adversos para a saúde de um indivíduo, sua progênie ou (sub) população. Essas substâncias apresentam múltiplas origens podendo se apresentar através de substâncias estrogênicas farmacêuticas sintéticas, como pesticidas de diferentes classes, produtos químicos para a fabricação de plásticos, detergentes, conservantes de cosméticos, antioxidantes, entre inúmeros outros (POP; KISS; LOGHIN, 2013).

1.6.2 2,6-Di-t-butil-4-hidroxitolueno (BHT)

O 2,6-Di-t-butil-4-hidroxitolueno ou 3,5-di-t-butil-4-hidroxitolueno é um sólido com ponto de fusão 70°C, insolúvel em água, solúvel em metanol, peso molecular igual a 220g e fórmula molecular $C_{15}H_{24}O$ (THE MERCK INDEX, 1989). É relativamente tóxico por exposição e inalação suscitando fraqueza, tremor, irritação nos olhos e no sistema respiratório, vertigem, náuseas, dor de cabeça e mal-estar (THE INTERNATIONAL TECHNICAL INFORMATION INSTITUTE, 1980).

O BHT é um antioxidante sintético, lipossolúvel, extensivamente utilizado na indústria de alimentos para consumo humano. Seu limite legal para a adição à maioria dos alimentos é de 200 mg/kg. Já nas poliolefinas é usado em concentrações de até 500 mg/kg. Durante o processamento do filme, é perdida parte do antioxidante graças a sua capacidade em funcionar como um eliminador de radicais livres, como também, pode ser perdido para o meio ambiente em razão de sua alta volatilidade em temperaturas de processamento (VULIC *et al.*, 2002; SOTO-CANTÚ, *et al.*, 2008).

Estudos mostraram a presença de alguns aditivos em alimentos graças a sua migração. O BHT, uma das menores substâncias fenólicas de maior presença em alimentos, acaba sendo um dos mais expostos ao consumidor, sendo muito usado graças as suas poderosas propriedades antioxidantes e, como estabilizador do plástico, estando presente em níveis de centenas até alguns milhares de miligrama por quilograma no plástico (VITRAC *et al.*, 2007; IBARRA *et al.*, 2017).

Esse antioxidante se mostra muito eficiente, entretanto possui vários problemas práticos, como por exemplo, a alteração de cor que pode provocar, elevada volatilidade, alta velocidade de migração para a superfície em alguns polímeros, provocando perdas de 50%-90% durante o processamento e/ou envelhecimento. Com isso, concentrações mais altas são empregadas a fim de compensar essas perdas (NASCIMENTO, 1999).

A adição de antioxidantes às poliolefinas é uma prática comum durante a sua fabricação para proteger o polietileno de baixa densidade (PEBD) da degradação e, também, para garantir a extensão da vida de prateleira de alimentos passíveis à maior deterioração por oxidação. Os filmes de embalagem ativa precisam ser desenvolvidos com uma maior concentração de antioxidantes em relação aos filmes de poliolefina comuns. Estudos em filmes de poliolefina monocamada, segundo a migração do BHT, mostraram que esse antioxidante apresenta alta mobilidade para alimentos gordurosos (WESSLING *et al.*, 1998; TORRES-ARREOLA *et al.*, 2007; SOTO-CANTÚ *et al.*, 2008).

Ademais, graças à natureza migratória do BHT em PEAD para alimentos e simuladores de alimentos, há enorme inquietação em relação ao seu uso contínuo na função de antioxidante em materiais de embalagem de alimentos. Devido a isso, tem havido maior interesse no uso de antioxidantes alternativos no processamento de polímero, como por exemplo, o α -tocoferol (vitamina E). Esse antioxidante natural se apresenta como uma molécula menor e menos volátil que o BHT e com isso, espera-se que migre menos rapidamente do material de embalagem para o alimento nela armazenado (BAILEY *et al.*, 2008).

As evidências disponíveis em ratos e em humanos sugerem alguma retenção de BHT no tecido adiposo de ambas as espécies. Em indivíduos do Reino Unido e dos EUA, os níveis de BHT no tecido adiposo, foram em média 0,23 e 1,30 mg/kg, respectivamente. Ademais, a respeito da excreção de BHA e BHT em humanos e ratos foi sugerida maior retenção, de ambos os antioxidantes, em tecidos de humanos do que em ratos (CONACHER *et al.*, 1986).

1.6.3. n-octadecyl beta-(3',5'-di-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propionate (Irganox 1076)

O Irganox 1076 é um antioxidante fenólico estável e, um dos mais utilizados em embalagens plásticas de alimentos; protege os materiais plásticos contra degradação termo oxidativa; apresenta baixa volatilidade e alta resistência a extração, sendo muito usado pela indústria de materiais de contato com alimentos, não estando presente de forma natural nos alimentos (BELDÍ *et al.*, 2012; DIAS, 2016).

O BHT e o Irganox 1076 são frequentemente utilizados unidos com o Irgafos 168, para diminuir a formação de substâncias oxidantes indesejáveis durante o processamento do polímero e, geralmente na concentração de até 500 mg/kg, apresentando forte capacidade em migrarem para os alimentos (LINSSEN, *et al.*, 1998).

1.6.4 Galato de propila (GP); Galato de octila (GO); Galato de dodecila (GD)

O GP ou 3,4,5-trihidroxibenzoato de propila ou ainda, 3,4,5-trihidroxibenzeno-1-carboxilato de propila, possui fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_5$ e peso molecular 212g. É um sólido branco com ponto de fusão de 148 a 150°C. O GO ou 3,4,5-trihidroxibenzoato de n-octila, possui fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_5$ e peso molecular 282,34g, sendo um pó branco de ponto de fusão 101 a 104°C. O GD ou galato de laurila, possui fórmula $C_{19}H_{30}O_5$ e peso molecular 338,45g e se apresenta como um sólido com ponto de fusão 96 a 97°C.

Ambos são nocivos se ingeridos, podendo também causar irritação aos olhos e pele, sendo irritantes às membranas das mucosas e sistema respiratório (SIGMA/ALDRICH, 1995). Tanto no caso do GO quanto no GD, suas propriedades toxicológicas ainda não foram completamente estudadas (ABRANTES, 1998).

1.6.5 4-hidroxibenzoato de metila (4 HBM); 4-hidroxibenzoato de propila (4 HBP); 1,4-dihidroxibenzeno (14 DHB).

O 4-HBM ou p-hidroxibenzoato de metila, possui fórmula molecular $C_8H_8O_3$ e peso molecular 152,1g. É um sólido branco de ponto de fusão 126 a 128°C. O 4-HBP ou p-hidroxibenzoato de n-propila tem fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_3$ e peso molecular 180,2g. Também se apresenta como um pó branco, sendo seu ponto de fusão 95 a 98°C. Ambos podem ocasionar irritação aos olhos e a pele, sendo irritante às membranas das mucosas e ao sistema respiratório. Sua toxicologia ainda não é bem conhecida (ABRANTES, 1998).

O 14-DHB ou hidroquinona, apresenta fórmula molecular $C_6H_6O_2$ e peso molecular 110,11g, com ponto de fusão 172 a 175°C e solúvel em água e álcool. Considerado seguro para os seres humanos em baixas concentrações, porém, a ingestão de um grama pode causar náuseas, vômitos, sufocação, respiração curta, cianose, convulsão e delírio (ABRANTES, 1998).

1.7 Legislação sobre Embalagens de Alimentos

A primeira legislação que se refere à embalagem data de algumas centenas de anos e institui pesos e medidas somente. Contudo, a grande revolução a respeito de embalagem para o consumidor processa-se no período de 1950 a 1970, com as grandes mudanças sociais colaborando para a situação atual, onde a utilização de alimentos pré-embalados é regra geral para a maioria dos países industrializados (PADULA; ITO, 2006).

A *Food and Drug Administration* (FDA) foi a primeira instituição a publicar as exigências concernentes à embalagem no capítulo 21 do código de Regulamentações Federais em 1958. As autoridades alemãs publicaram requisitos semelhantes logo em seguida (FREIRE et al., 1998).

As substâncias existentes nas embalagens para alimentos são classificadas como aditivos alimentares indiretos, levando em consideração que estas substâncias podem, direta ou indiretamente, tornar-se componentes do alimento e, mesmo que a migração para o alimento resume-se a uma molécula, ainda será considerada aditivo do alimento. As condições gerais para a utilização de aditivos indiretos para os alimentos está estabelecida no *Code of Federal Regulations*, parte 174 do título 21, com as seguintes restrições: a) o aditivo em questão não poderá ter efeito no alimento, e sim, meramente na embalagem, portanto, na possibilidade de nenhum limite ter sido especificado, a quantidade de aditivo no alimento, não deverá exceder o limite de efeito tecnológico ou físico desejado no artigo; b) seja qual for a substância utilizada em embalagem para alimentos carece possuir pureza compatível com esta finalidade (ABRANTES, 1998).

No que se refere a resinas ou polímeros, o controle é realizado apurando se são utilizados os polímeros permitidos, referentes a lista que contempla todos os compostos autorizados para uso, como também, o limite residual de monômero e de migração global. O controle referente aos coadjuvantes é realizado tanto em relação à composição do material, para o qual a quantidade é especificada, como também ao tipo de polímero a ser utilizado. Eventualmente, os limites são determinados em função da utilização final da embalagem, como o tipo de alimento e a temperatura de uso (ABRANTES, 1998).

Na década de 50 foi instituída a Comunidade Econômica Europeia que tem como objetivo estabelecer adequadas condições ao desenvolvimento econômico e à estabilidade política do Oeste europeu. Na década de 70, pela primeira vez, a Comunidade Europeia manifestou a necessidade de estabelecer regulamentos a respeito de materiais e artigos que se destinam a entrar em contato com alimentos, sendo o principal objetivo de harmonizar a

legislação entre os países-membros. Conseqüentemente a isso, criou-se em 1976, a diretiva sobre materiais e artigos em contato com alimentos (COMMUNITIES OF EUROPEAN, 1976). Tal diretiva determina uma série de princípios gerais e, em seu artigo 2, preconiza que os materiais e artigos necessitam ser manufaturados, segundo as boas práticas de fabricação. Além disso, sob condições normais de uso, não haja transferência para os alimentos de constituintes que possam gerar algum risco à saúde humana e/ou motivar alterações inaceitáveis na constituição dos alimentos ou danos em suas características organolépticas (PRESAS; PRESAS, S. D.).

Através deste regulamento, mais leis foram publicadas, sendo uma das mais importantes, o Regulamento 90/128/EEC, que estabelece os monômeros e outras substâncias que podem ser utilizadas na fabricação das embalagens em contato com alimentos. Para esses monômeros e demais substâncias foram estabelecidos os limites permitidos no material de embalagem ou no alimento que será acondicionado em uma determinada embalagem. Tais monômeros e substâncias estão relacionados em listas positivas.

No Brasil, em 1969, foi implementado o primeiro decreto que instituiu a obrigatoriedade de registro de embalagens para alimentos no Ministério da Saúde (Decreto Lei nº 986/69). A Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) que regulamentava o assunto criou, em 1975, a Resolução 45/77 (COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS, 1977), que aprova a lista de polímeros, resinas e respectivos aditivos, utensílios e equipamentos destinados a entrar em contato com alimentos e bebidas.

Com a criação do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL) em 1991, sobreveio a necessidade de harmonizar as legislações dos países membros - Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai - tendo como resultado a adição, na legislação brasileira, de regulamentos técnicos para materiais de embalagem de vidro, metal e papel. Em 1996 foram publicadas no diário oficial da União as Resoluções MERCOSUL. Essas Resoluções abarcam listas positivas de polímeros (ou monômeros) e listas positivas de aditivos, como também, ensaios de migração total ou global e, de migração específica. Nessas listas positivas o LC é referido em miligrama do monômero ou aditivo por quilograma de matéria da embalagem e o LME, em miligrama de monômero ou aditivo por quilograma de alimento (PADULA; CUERVO, 2004).

O ideal seria avaliar o potencial de migração no próprio alimento a ser conservado no material de embalagem, entretanto, tal procedimento, torna-se impraticável, tendo em vista que a concentração de migrantes é geralmente baixa e a multiplicidade química da maioria dos alimentos iria afetar na dosagem dos mesmos. Pensando nisso, a fim de determinar a

concentração de migrantes, foi adotado a utilização de solventes que simulem os alimentos, os chamados solventes simulantes, nas condições de teste. Além disso, foram estabelecidas condições de extração, natureza de contato entre o material de embalagem e o solvente simulante e o tipo de alimento (ABRANTES, 1998).

Tanto a migração global como a específica são determinadas através da inserção de uma amostra do material em contato com um solvente simulante em condições de tempo e temperatura específicas. Ao findar o período, é quantificado o resíduo que migrou para o simulante através de técnicas analíticas apropriadas como por exemplo a gravimétrica para determinar a migração global e a cromatográfica a gás para a migração específica. O limite de composição é geralmente determinado através da solubilização do material da embalagem em solvente apropriado e quantificando por técnicas analíticas como a cromatografia gasosa (CG) ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC) (ABRANTES, 1998).

Portanto, para tentar resolver a questão dos testes de migração, a solução pode residir na utilização de substâncias simples que simulem o poder extrativo do produto alimentício (solvente simulante). Um simulante precisa satisfazer duas condições básicas, a de apresentar o mesmo poder extrativo que o alimento simulado e o de permitir a análise apropriada da migração. A Tabela 4 apresenta a lista dos solventes simulantes aprovada em nosso país e, a Tabela 5, a classificação dos alimentos (ABRANTES, 1998).

Tabela 4 – Lista dos simulantes de alimentos

Simulante A	Água destilada
Simulante B	Solução a 3% (p/v) de ácido acético em água destilada
Simulante C	Solução a 15% (v/v) de etanol em água destilada ou na concentração mais próxima da real de uso.
Simulante D	Azeite de oliva refinado. Alternativa: N-heptano

Fonte: (BRASIL, 1996a)

Tabela 5 – Classificação dos alimentos para efeito de embalagem segundo a RDC 51/2010

Tipo I	Alimentos aquosos não ácidos (pH > 5)
Tipo II	Alimentos aquosos ácidos (pH < 5)
Tipo III	a) Alimentos aquosos não ácidos contendo óleo ou gordura b) Alimentos aquosos ácidos contendo óleo ou gordura
Tipo IV	Alimentos oleosos ou gordurosos
Tipo V	Alimentos alcoólicos (conteúdo em álcool superior a 5% (v/v))
Tipo VI	Alimentos sólidos secos ou de ação extrativa pouco significativa

Fonte: (RDC 51/2010).

Além do solvente simulante, o tempo e a temperatura a que esses alimentos são submetidos no decorrer de sua elaboração e armazenagem, são muito importantes. Com isso, temos como base os ensaios de migração com as condições apresentadas na Tabela 6. Na Tabela 7 encontram-se os solventes simulantes propostos para cada tipo de alimento.

Tabela 6 – Condições para os ensaios de migração em embalagens segundo a RDC 51/2010

Condições de contato no uso real	Simulante A Água destilada	Simulante B Ácido acético a 3% (p/v)	Simulante C Etanol a 15% (v/v)	Simulante D Azeite de oliva	Simulante D N-heptano
Conservação (contato prolongado) T > 24h T < 5°C 5°C < T < 40°C	5°C-10 dias 40°C-10 dias	5°C-10 dias 40°C-10 dias	5°C-10 dias 40°C-10 dias	5°C-10 dias 40°C-10 dias	5°C-30 min 20°C-30 min
Contato breve à temperatura ambiente (2h < t < 24h)	40°C-24h	40°C-24h	40°C-24h	40°C-24h	20°C-15 min
Contato momentâneo à temperatura ambiente (t < 2h)	40°C-2h	40°C-2h	40°C-2h	40°C-2h	20°C-15 min
Elaboração 40°C < T < 80°C 80°C < T < 100°C T > 100°C	80°C-2h 100°C-30 min 120°C-30 min	80°C-2h 100°C-30 min 120°C-30 min	80°C-2h - -	80°C-2h 100°C-30 min 120°C-30 min	40°C-15 min 50°C-15 min 60°C-15 min

Fonte: (ANVISA, 2010).

Tabela 7 – Solventes simulantes indicados para cada tipo de alimento segundo a RDC 51/2010.

Alimento	Simulante*
Tipo I	A
Tipo II	B
Tipo III a	A, D
Tipo III b	B, D
Tipo IV	D
Tipo V	C
Tipo VI	Nenhum ou, ocasionalmente, A, B, C, ou D, dependendo do tipo do alimento.

*A, B, C e D segundo o descrito na Tabela 4.
Fonte: (ANVISA,2010).

Para serem válidas nos Estados integrantes do MERCOSUL as Resoluções devem ser incorporadas às Legislações Nacionais. No Brasil, a internalização ocorreu através da publicação de Portarias e Resoluções para cada tipo de material de embalagem pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde (PADULA; CUERVO, 2004).

1.7.1 Um breve discurso sobre a vigilância sanitária e legislação

As atuações atreladas ao controle sanitário da produção, circulação e venda de produtos de interesse da saúde ostenta no Brasil uma trajetória vinculada à constituição dos serviços sanitários que se manifestou no início do século XIX, através da instalação da Corte portuguesa (1808). A partir de então, diversos órgãos públicos designados a esses serviços foram concebidos, em resposta às características de ordem econômica, política, institucional, sociosanitária e técnico-científica, nos diversos contextos. A peculiaridade destes serviços, contudo, somente se estabeleceu como um saber específico na área da Saúde Coletiva, no final do século XX, carecendo de trabalhadores com formação especializada.

Desde a década de 70 a área de vigilância sanitária, abrangia uma visibilidade muito modesta no setor saúde, sendo que as suas atividades eram desenvolvidas pelo Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e Farmácia, criado em 1957, como consequência da ampliação do Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina, originado em 1941. À nível estadual, as ações ficavam sob a responsabilidade de órgãos similares, ainda que suas atribuições não se restringissem apenas à fiscalização do exercício profissional. Na esfera federal, as atividades ficavam voltadas para a regulamentação e registro de medicamentos, bem como para o controle de importação e circulação de produtos farmacêuticos. Além de tudo, até a criação dos conselhos profissionais, o órgão federal se responsabilizava pelo registro dos diplomas referentes aos cursos da área da saúde, integrando o Laboratório Central de Controle de Drogas, Medicamentos e Alimentos (LCCDMA) e passou a realizar o registro e controle sanitário de alimentos, exceto dos alimentos de origem animal, que ainda é de responsabilidade da Agricultura.

Posteriormente ao ano de 1968, o desenvolvimento econômico e a ampliação da produção industrial e das exportações, novas demandas ao Estado foram impostas, como as regulamentações para a adequação da produção brasileira às exigências internacionais de qualidade de produtos. Simultaneamente, surgiam exigências para uma reestruturação das questões sociais nas políticas de saúde, provocando a reforma do setor saúde e dos serviços dependentes desse setor. As reformas envolvem a vigilância sanitária, como parte de um projeto maior que ambicionava fortalecer uma sociedade industrial moderna e um modelo de economia mais competitiva, nos moldes do II Plano Nacional de Desenvolvimento (PND).

Destaca-se que na década de 1970, a expressão “vigilância” substituindo o termo “fiscalização”, carrega a construção de um conceito moderno para essas ações. O emprego do termo vigilância sanitária na legislação e na designação do espaço institucional reporta-se às ações voltadas para precaução, cuidado e prevenção, gerando uma noção mais ampla, distinto da concepção de controle e punição, outrora atribuída a estes serviços, caracterizados com o termo “fiscalização”.

Ainda na década de 70, o governo propôs a Lei nº 6.360 (1976) - Lei de Vigilância Sanitária - encontra-se ainda em vigência, com diversas reformulações integradas a sua redação, em resposta às falhas que vão surgindo ao longo do tempo. Além disso, essa Lei representou uma referência importante no processo de configuração da vigilância sanitária, como parte primordial de uma sequência de medidas de renovação da legislação de saúde implementadas com a influência da Organização Mundial de Saúde (OMS) e Organização Pan-Americana de Saúde. Para mais, essa lei atestou a vigilância sanitária como a possuidora permanente dos órgãos de saúde, ambientado com as demais esferas de gestão. A inclusão da preocupação com o produto, levando em conta a eficácia e a segurança do mesmo, atribuiu uma enorme diferença dessa lei em comparação aos regulamentos anteriores.

A ANVISA regulamenta as embalagens e outros materiais em contato com os alimentos, instituindo os requisitos que garantem a segurança de utilização destes produtos. As embalagens que entram em contato com os alimentos são capazes de transferir substâncias capazes de promover algum risco à saúde de quem consome estes alimentos, por essa razão, todo o material que entra em contato direto com alimentos e/ou bebidas precisa atender ao disposto na legislação sanitária de materiais em contato com alimentos, tendo em vista que as substâncias presentes nestes materiais podem migrar para os alimentos e isso pode representar risco à saúde humana (ANVISA, 2020). Em se tratando disso, é de competência da Lei n.9.782/1999, inciso II do § 1º do Art. 8º, presidir este tema.

Conforme a RDC nº91/01, embalagem para alimentos é o artigo que está em contato direto com alimentos, com o objetivo de contê-los, desde a etapa de fabricação até a chegada ao consumidor, com o propósito de protegê-los de agente externos, de alterações e de contaminações, bem como de adulterações (ANVISA, 2001). Ainda, regulamenta embalagens estruturando por tipo de material, definindo critérios gerais e classificando os materiais para embalagens e equipamentos em contato com alimentos.

A escolha do material e tipo de embalagem é responsabilidade do fabricante do alimento em função das características do produto e da vida de prateleira pretendida, porém, os critérios gerais para embalagens de contato com alimentos devem ser observados segundo as definições listadas pela RDC nº91/2001, como também, os regulamentos específicos de cada material onde são definidas as listas positivas de substâncias que podem ser utilizadas em materiais em contato com alimentos.

No tocante à obrigatoriedade do registro das embalagens destinadas ao contato com alimentos, a Resolução RDC nº27/10, anexo I, determina que as embalagens em geral sejam isentas da obrigatoriedade de registro, contudo, carece efetuar a comunicação de início de fabricação, consoante procedimentos determinados no item 5.1 da Resolução nº23/00.

Determinadas investigações são necessárias em materiais destinados ao contato com alimentos e, na maior parte dos casos, os regulamentos de materiais apontam parâmetros de migração total, migração específica e, em determinados casos, de composição. No momento em que estes parâmetros estiverem estipulados no regulamento do material, torna-se necessária análise para corroborar a conformidade do material. Não há necessidade em se realizar essas análises a cada lote, logo que se tenha comprovação de que as condições de processo e especificações do material não foram modificadas e passam por rígido controle, certificando o atendimento à legislação em vigor.

Os materiais destinados ao contato direto com alimentos devem atender à legislação, levando em consideração o tipo de material, a previsão de uso na respectiva lista positiva e as específicas restrições. Apenas podem ser utilizadas as substâncias que integram as listas positivas para fabricação de embalagens e equipamentos em contato com alimentos. Ademais, todas as substâncias utilizadas na confecção de plásticos para o contato com alimento devem estar presentes nas listas positivas definidas nas Resoluções RDC nº56/2012 e RDC nº17/2008 (aditivos) (ANVISA, 2008; 2012). Portanto, os aditivos para embalagens não precisam de registro, sendo que esses somente são autorizados para uso caso estejam previstos nas listas positivas citados na legislação sanitária.

As regulamentações que se aplicam aos materiais plásticos são numerosas, como por exemplo, a Resolução RDC nº105/99 (disposições gerais), a Resolução RDC nº56/12 (lista positiva de monômeros) e a Resolução RDC nº17/08 (aditivos para materiais plásticos) (ANVISA, 1999; 2008; 2012). Também, existem outros regulamentos referentes a materiais plásticos como é o caso da Resolução RDC nº51/10 (migração).

A Resolução nº105/99 não foi totalmente revogada (ANVISA, 1999). Neste momento, estão em vigência os seguintes itens desta resolução: a) disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos, com exceção ao item 7 que está revogado tacitamente pela resolução RDC nº52/2010, b) anexos VII (critérios gerais para equipamentos fixos de provisão, armazenamento e distribuição de água potável), VIII (embalagens e equipamentos de polietileno fluoretado em contato com alimentos) e IX (embalagens plásticas retornáveis para bebidas não alcoólicas carbonatadas) (ANVISA, 2010).

Segue abaixo um breve resumo sobre as legislações mais importantes a respeito de embalagem plástica.

RDC nº105/1999 (ANVISA, 1999) - Disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos, alterada por:

- RDC nº.51/2010 – Critérios de migração para materiais, embalagens e equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos (ANVISA, 2010).
- RDC nº.52/2010 – Corantes em embalagens e equipamentos plásticos destinados a estar em contato com alimentos.
- RDC nº.56/2012 – Lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos (ANVISA, 2012).

RDC nº.326/2019 - Lista positiva de aditivos destinados à elaboração de materiais plásticos e revestimentos poliméricos em contato com alimentos, alterada por: RDC nº.391/2020.

1.8 JUSTIFICATIVA

No início da civilização humana, o homem não utilizava alimentos acondicionados em nenhum material, ou seja, não existia a necessidade de proteger seus mantimentos, pois tudo era consumido no local onde se obtinha o mesmo. Entretanto, quando aumentou a complexidade da vida, os locais de trabalho e de moradia ficaram mais distantes das fontes alimentares e isso trouxe a necessidade do acondicionamento dos alimentos por mais tempo (MORAIS, 2018).

A embalagem de alimentos progrediu de um simples recipiente para armazenar alimentos, para um produto que pode desempenhar um papel ativo e importante na qualidade dos mesmos, como por exemplo, barreiras ao oxigênio, umidade e sabores. Portanto, a embalagem facilitou o acesso a muitos alimentos durante todo o ano e que de outra maneira, isso não seria viável (RISCH, 2009).

Em se tratando de embalagem plástica, a qual representa excelente material para a indústria de alimentos graças a seus benefícios na preservação dos mesmos, tem na sua fabricação uma grande variedade de substâncias químicas adicionadas à sua estrutura, como por exemplo, os antioxidantes, os quais podem ser de baixo peso molecular e acabam por passar da embalagem para o alimento num processo conhecido como migração. Esse fenômeno tem recebido enorme atenção quando se fala em segurança alimentar, pois esses antioxidantes podem acarretar um risco à saúde dos consumidores (IBARRA *et al.*, 2019).

Como essas embalagens plásticas não são completamente inertes e os antioxidantes presentes não estão ligados quimicamente ao polímero formador do plástico, estes aditivos podem migrar para os alimentos. A legislação impõe limites de migração específicos para substâncias individuais com o potencial de migrar de plásticos para alimentos, de acordo com a toxicidade individual (DOPICO-GARCÍA *et al.*, 2003).

A determinação dos níveis de antioxidantes no material plástico dá informações sobre seu potencial migração e, ao mesmo tempo, uma medida da qualidade do plástico. Embora existam muitos estudos sobre a migração de antioxidantes, em sua grande maioria, são focados em alguns antioxidantes mais conhecidos, como é o caso do Irganox 1076, por exemplo. Tendo em vista que os antioxidantes são amplamente utilizados e levando em consideração a escassa informação sobre a grande variedade desses aditivos, uma maior variedade de antioxidantes de diferentes pesos moleculares foi estudada neste trabalho (MARCATO *et al.*, 2003).

Com o exposto, podemos ver uma necessidade para uma análise sistemática com o intuito de se avaliar as consequências da migração de antioxidantes adicionados na embalagem de polietileno. Então, esta revisão possibilitará subsidiar uma adequada análise do potencial de migração, necessária para se estabelecer uma atualização do tema, fornecendo as informações necessárias e claras da segurança do uso de antioxidantes na embalagem de polietileno, de forma a proteger a saúde da população, contribuindo para as ações de Vigilância Sanitária e de Saúde Pública.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar, por meio de revisão sistemática da literatura, evidências sobre a migração de determinados antioxidantes estabelecidos pela RDC nº 326/2019, presentes em embalagens de polietileno para acondicionamento de alimentos e, verificar se há prejuízo à saúde humana.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a produção científica relacionada à migração de determinados antioxidantes presentes em embalagem de polietileno para acondicionamento de alimentos;
- Analisar o nível de evidência das publicações relacionadas ao potencial de migração de antioxidantes da embalagem de polietileno, avaliando as metodologias, os parâmetros, pressupostos e desfechos presentes em cada estudo selecionado e observar a existência de possíveis inconsistências;
- Explorar a relação do migrante com a saúde humana, verificando a qualidade metodológica dos estudos selecionados.

3 METODOLOGIA

3.1 Método de pesquisa

A realização deste trabalho foi pautada pelas recomendações do *Center 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>), devido à equivalência entre eles e estruturado em cinco etapas, como mostra a tabela 8:

Tabela 8: Cinco etapas seguidas pelo presente trabalho até a sua conclusão

1º etapa	Elaboração da questão norteadora do estudo.
2º etapa	Procura dos estudos primários a respeito do potencial de migração de antioxidantes presentes em embalagem de polietileno para alimento/simulante alimentar.
3º etapa	Identificação e seleção dos estudos relacionados aos antioxidantes, segundo os critérios de inclusão e exclusão propostos por este trabalho.
4º etapa	Extração dos dados com análise, descrição e avaliação dos parâmetros e desfechos de cada estudo escolhido.
5º etapa	Parecer da qualidade metodológica dos estudos selecionados.

O acesso à Biblioteca Cochrane na BVS < <https://pesquisa.bvsalud.org/portal> > está disponível para profissionais de saúde da América Latina e Caribe e resulta de um acordo cooperativo entre a BIREME/OPAS, a Colaboração Cochrane e o Centro Cochrane do Brasil (CORDEIRO *et al.*, 2007).

Através dos resultados alcançados no relatório final foi possível redigir um trabalho estruturado e informativo, que sintetizou as ideias levantadas, visando contribuir, com informações precisas e confiáveis, a respeito da migração de antioxidantes das embalagens de polietileno para os alimentos e com isso, fornecer material inédito e compilado. Além disso, o estudo apresentou dados que contribuem para que a área de migração de antioxidantes para alimentos fique sempre atualizada e pronta a dar respostas ao setor de vigilância sanitária.

3.2 Etapas da Revisão Sistemática

3.2.1 Desenho do estudo

O protocolo desta RS foi baseado nos itens do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* – PRISMA checklist (Anexo A) com o intuito de ampliar a qualidade e a evidência da pesquisa (MOHER *et al.*, 2009). Também se pautou no protocolo de construção da tese de doutorado da Dra. 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”, de 2018.

O Protocolo do estudo foi registrado no PROSPERO - *International Prospective Register of Systematic Reviews/Centre for Reviews and Dissemination* (CRD) da *University of York*, sob o código de registro nº CRD42020207620. O PROSPERO é um banco de dados internacional de revisões sistemáticas prospectivamente registradas em saúde. A submissão do estudo nesse banco promove o “aviso” à comunidade científica de que uma RS está em curso, em determinado assunto, evitando, portanto, que dois estudos semelhantes sejam duplicados.

3.2.2 Questão norteadora

A crescente demanda por produtos industrializados acarreta no uso, pela indústria de alimentos, de embalagens plásticas, sendo as flexíveis amplamente utilizadas graças à enorme versatilidade, como também, ao aumento da vida útil do produto nela acondicionado (GUERREIRO *et al.*, 2018).

Se por um lado essa demanda por embalagens é crescente, por outro há um enorme interesse por parte não só dos estudiosos como também da sociedade, a respeito da segurança dessas embalagens plásticas (BELDÍ *et al.*, 2012). Várias contribuições na literatura apontam a possibilidade de migração de antioxidantes da embalagem para o produto nela acondicionado (ALVES, *et al.*, 2007; MARCATO *et al.*, 2003; DOPICO-GARCÍA *et al.*; 2003) e essa migração para o alimento pode representar um risco potencial à saúde humana (BELDÍ *et al.*, 2012).

Os antioxidantes são um dos aditivos de maior importância na indústria de alimentos e são adicionados à embalagem de polietileno com o propósito de eliminar ou diminuir a ação do envelhecimento, aumentam a faixa de temperatura útil e o tempo de utilização do polímero

e retardam a oxidação atmosférica ou os efeitos degradativos da oxidação (ABRANTES, 1997; JIMÉNEZ, 2012). A possível migração de antioxidantes da embalagem de polietileno para os alimentos e os impactos dessa migração para a saúde humana motivaram a questão norteadora deste trabalho.

Tendo sido demonstrada a relevância do tema, foi elaborada a hipótese norteadora da pesquisa, perfazendo com isso, o primeiro passo da presente RS (SAMPAIO; MANCINI, 2007, COCHRANE HANDBOOK, 2009, STILLWELL *et al*, 2010). Para formular a hipótese, foram utilizados os componentes fundamentais baseados no mnemônico PICO, adaptado para análise de riscos químicos - PECO - onde P = população, E = exposição, C = comparação/controle e O = resultados. No mínimo dois desses (P e E) foram obrigatórios para estruturar a pergunta da pesquisa (RICHARDSON *et al*, 1995, SANTOS, 2007, COCHRANE HANDBOOK, 2009, EFSA, 2010, VANDENBERG, 2016).

O mnemônico PECO é um facilitador para a definição dos critérios de elegibilidade das publicações (HIGGINS, GREEN, 2005), sendo possível a definição da pergunta e a orientação das estratégias de buscas, a saber:

- P = produções científicas sobre migração de antioxidantes presentes em embalagem de polietileno para alimentos;
- E = migração de antioxidante da embalagem de polietileno;
- C = relação com a saúde humana;
- O = dados quantitativos relacionados à concentração de antioxidantes encontrados nos alimentos/simulantes.

Com base nesta estratégia, a pergunta norteadora deste trabalho foi: “Ocorre a migração de antioxidantes presentes nas embalagens de polietileno para os alimentos?” e “Quais as possíveis consequências provocadas, pelos antioxidantes presentes nas embalagens de polietileno, à saúde humana?”.

3.2.3 Critérios de elegibilidade

Os critérios de elegibilidade (inclusão e exclusão) foram estabelecidos a partir da questão principal e orientados segundo a estratégia PECO.

3.2.3.1 Critérios de inclusão dos artigos

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

3.2.3.2 Critérios de exclusão dos artigos

- (a) artigos incompletos;
- (b) artigos que não tinham como foco principal a migração de antioxidantes em embalagem de alimento.
- (c) artigos que não abordaram a embalagem proposta pelo estudo – Polietileno.
- (d) somente descrição de um método analítico.
- (e) artigos que não tenham abordado algum antioxidante proposto neste estudo (*Butylated hydroxytoluene (OR BHT); Butylated hydroxyanisole (OR BHA); Propyl gallate; Octyl gallate (OR 3,4,5-trihydroxybenzoic acid octyl ester OR octyl gallate dihydrate); Lauryl gallate (OR dodecyl gallate OR E-312 antioxidant); Methyl 4-hydroxybenzoate; Propyl 4-hydroxybenzoate; Hydroquinone (OR 1,4-dihydroxybenzene); Irganox 1076; 4-sec-butyl-2,6-di-ter-butyl-fenol*).

Os artigos que não estavam na íntegra só foram excluídos após exaustiva pesquisa da sua versão completa.

3.2.4 Busca dos estudos

A busca da evidência científica foi a segunda etapa do estudo, começando com a definição das bases de dados e dos termos ou palavras-chave (SAMPAIO, MANCINI, 2007, COCHRANE HANDBOOK, 2009).

Para realizar as pesquisas e identificar os estudos relevantes, foram consultadas as bases de dados eletrônicas *PubMed*, *Taylor & Francis online* e *Science Direct*, sem restrição de data, até 04 de setembro de 2020. Após ter sido realizada essa pesquisa e a avaliação dos estudos encontrados, ampliamos ainda mais a busca para outras bases de dados, sendo elas: EMBASE, SciELO e na literatura cinzenta, *Google Scholar* (tabela 4). Além disso, foi realizada a busca manual nas referências de todos os estudos considerados elegíveis.

Para a busca foram empregados descritores selecionados mediante consulta aos Descritores da *Medical Subject Headings Terms* (MeSH), do PUBMED e em Ciências da Saúde (DeCS), da BIREME, como também, pelas palavras-chave selecionadas pelos autores, que constituíram a base da equação de busca, posteriormente adaptada para as demais bases utilizadas a saber: # 1. *Migration*; # 2. *Diffusion*; # 3. *Antioxidants*; # 4. *Polyethylene packaging*; # 5. *Low density polyethylene*; # 6. *High density polyethylene*; # 7. *Food*; # 8. *Food simulants*.

Para que a busca ficasse ainda mais específica, juntamente com as palavras-chave, foram selecionados os antioxidantes e demais descritores a seguir: #9. *Butylated hydroxytoluene (BHT)*; #10. *Butylated hydroxyanisole (BHA)* #11. *Propyl gallate*; #12. *Octyl gallate (OR 3,4,5-trihydroxybenzoic acid octyl ester OR octyl gallate dihydrate)* #13. *Lauryl gallate (OR dodecyl gallate OR E-312 antioxidant)*; #14. *Methyl 4-hydroxybenzoate* # 15. *Propyl 4-hydroxybenzoate*; #16. *Hydroquinone (OR 1,4-dihydroxybenzene)*; 17. *Irganox 1076 (3-(3,5-Di-terc-butyl-4-hidroxifenil) propionato de octadecila)*; #18. *4-sec-butyl-2,6-di-ter-butyl-fenol*; AND #19. *Food packaging (OR food containers OR food-contact plastics OR food contact materials)*.

A pesquisa nas bases de dados foi conduzida através de frases construídas utilizando os operadores booleanos AND e OR, para relacionar, unir ou excluir os termos da pesquisa. Foi utilizado também aspas (“”) para integrar termos compostos e frase exata contida no título, resumo ou palavra-chave (parêntesis) para definir a ordem da pesquisa e separar o conjunto de termos. As estratégias foram elaboradas segundo as especificidades de cada base de dados.

A seguir, na Tabela 9, está a estratégia traçada para o estudo, segundo as bases de dados, palavras-chave e recursos de pesquisa sobre o potencial de migração de antioxidantes.

Tabela 9 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados: PubMed, Taylor & Francis online e Science Direct

Base de dados	Data	Estratégias de busca
PubMed	04/09/2020	(#1) migration OR diffusion AND (#2) antioxidants OR “butylated hydroxytoluene” OR BHT OR “butylated hydroxyanisole” OR BHA OR “propyl gallate” OR “octyl gallate” OR “3,4,5-trihydroxybenzoic acid octyl ester” OR “octyl gallate dihydrate” OR “lauryl gallate” OR “dodecyl gallate” OR “methyl 4-hydroxybenzoate” OR “propyl 4-hydroxybenzoate” OR hydroquinone OR “1,4-dihydroxybenzene” OR “Irganox 1076” OR “3-(3,5-Di-terc-butyl-4-hidroxifenil) propionato de octadecila” OR “4-sec-butyl-2,6-di-ter-butyl-fenol” AND (#3) “polyethylene packaging” OR “low density polyethylene” OR LDPE OR “high density polyethylene” OR HDPE OR “food packaging” OR “food containers” OR “food-contact plastics” OR “food contact materials” AND (#4) food OR “food simulants” = #1 AND #2 AND #3 AND #4
Taylor & Francis online	04/09/2020	(migration OR diffusion) AND (antioxidants OR “butylated hydroxytoluene” OR BHT OR “butylated hydroxyanisole” OR BHA OR “propyl gallate” OR “octyl gallate” OR “3,4,5-trihydroxybenzoic acid octyl ester” OR “octyl gallate dihydrate” OR “lauryl gallate” OR 3,4,5-trihydroxybenzoic OR “dodecyl gallate” OR “E-312 antioxidant” OR “methyl 4-hydroxybenzoate” OR “propyl 4-hydroxybenzoate” OR hydroquinone OR “1,4-dihydroxybenzene” OR “Irganox 1076” OR “3-(3,5-Di-terc-butyl-4-hidroxifenil) propionato de octadecila” OR “4-sec-butyl-2,6-di-ter-butyl-fenol” AND (“polyethylene packaging” OR “low density polyethylene” OR LDPE OR “high density polyethylene” OR HDPE) AND (food OR “food simulants”)
Science Direct	04/09/2020	(migration OR diffusion) AND antioxidants AND (“polyethylene packaging” OR “low density polyethylene” OR “high density polyethylene”) AND (food OR “food simulants”)

Em todas essas bases de dados a busca dos estudos foi realizada sem restrição de data até 11 de julho de 2021.

Tabela 10 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados EMBASE, SciELO e Google Scholar

Base de dados	Data	Estratégias de busca
EMBASE	11/07/2021	migration AND antioxidant AND butylated hydroxyanisole OR butylcresol OR 3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl ester OR gallic acid propyl ester OR propyl paraben OR methyl paraben OR octyl gallate OR dodecyl gallate OR hydroquinone AND polyethylene packaging OR low density polyethylene OR polyethylene AND food OR food simulant
SciELO	11/07/2021	migration AND antioxidants OR “butylated hydroxytoluene” OR “butylated hydroxyanisole” OR “propyl gallate” OR “octyl gallate” OR “dodecyl gallate” OR hydroquinone OR “Irganox 1076” OR “3-(3,5-Di-terc-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecila” OR “4-sec-butil-2,6-di-ter-butil-fenol” AND “polyethylene packaging” OR “low density polyethylene” OR “high density polyethylene” AND food OR “food simulants”
Google Scholar	11/07/2021	migration AND antioxidants OR “butylated hydroxytoluene” OR “butylated hydroxyanisole” OR “propyl gallate” OR “octyl gallate” OR “dodecyl gallate” OR hydroquinone OR “Irganox 1076” OR “3-(3,5-Di-terc-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecila” OR “4-sec-butil-2,6-di-ter-butil-fenol” AND “polyethylene packaging” OR “low density polyethylene” OR “high density polyethylene” AND food OR “food simulants”

O acesso às bases de dados foi realizado inteiramente online, na residência dos pesquisadores, tendo em vista que o estudo se deu em meio a pandemia de COVID-19.

Tendo sido concluída a busca na literatura, os artigos foram alocados em um *software* de gerenciamento de revisão sistemática – Parsifal – com disponibilização online em parsif.al – que auxiliou na exclusão das réplicas e organizou os resumos para a fase de elegibilidade. Além desse, também foram transportados para a ferramenta de trabalho *Mendeley*, que permite o armazenamento e a organização das referências bibliográficas permitindo uma inclusão automática das citações e referências no momento da elaboração do texto e a mudança para inúmeros estilos de normalização.

Todo o processo de busca dos artigos foi conduzido por dois pesquisadores independentes, um deles, a própria autora e o outro, a orientadora da pesquisa, doutora em química orgânica com ênfase em migrantes tóxicos em produtos.

O estudo também quis abranger na sua busca os descritores “*health risk*” OR “*risk factors*” OR “*risk factor*” OR “*population at risk*” OR *risk*, a fim de fazer um link entre a migração de antioxidantes e seus possíveis efeitos na saúde, porém, os mesmos não foram

considerados, já que não foi encontrado nenhum estudo quando esses descritores foram incluídos na busca, juntamente com os demais já mencionados.

Devido ao fato de não termos encontrado, nessa primeira pesquisa, artigos que tratassem de polietileno e migração de antioxidantes ao mesmo tempo em que abordassem a parte toxicológica desses aditivos, foi realizada uma nova busca em separado, com os antioxidantes mais encontrados na primeira busca com outros descritores, a saber:

#1. *Antioxidant*; #2. *butylated hydroxytoluene* (OR *butylcresol* OR *BHT*); #3. *butylated hydroxyanisole* (OR *BHA*); #4. *irganox 1076* (OR *3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl*); #5. *toxic potential*; #6. *Toxicity*; #7. *public health*; #8. *adverse effects*; #9. *poisoning*.

Para a pesquisa dos estudos toxicológicos não levamos em consideração a busca obrigatória por artigos que falassem de migração e polietileno, tendo em vista que na busca um não foram encontrados estudos que abordassem, ao mesmo tempo, o tema migração, polietileno e toxicologia. Portanto, resolvemos buscar somente pelo tema toxicologia dos antioxidantes.

Na tabela a seguir (Tabela 11) encontra-se a estratégia traçada, segundo as bases de dados, palavras-chave e recursos de pesquisa sobre a possível toxicidade dos antioxidantes.

Tabela 11 - Descrição das estratégias de busca realizadas nas bases de dados PubMed, Taylor & Francis online, EMBASE, SciELO, COCHRANE LIBRARY, Science Direct e Google Scholar, referentes a possível toxicidade dos antioxidantes

Base de dados	Data	Estratégias de busca
PubMed	12/07/2021	(#1) antioxidant (#2) BHT OR “butylated hydroxytoluene” OR (#3) BHA OR “butylated hydroxyanisole” (#4) “irganox 1076” OR “3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl” (#5) “toxic potential” (#6) toxicity (#7) “public health” (#8) “adverse effects” (#9) poisoning = #1 AND #2 OR #3 OR #4 AND #5 AND #6 AND #7 AND #8 AND #9
Taylor & Francis online	13/07/2021	antioxidant AND BHT OR butylated hydroxytoluene OR BHA OR butylated hydroxyanisole OR irganox 1076 OR 3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl AND toxic potential AND toxicity AND public health AND adverse effects AND poisoning
SciELO	13/07/2021	antioxidant AND BHT OR “butylated hydroxytoluene” OR BHA OR “butylated hydroxyanisole” OR “irganox 1076” OR “3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl” AND “toxic potential” AND toxicity AND “public health” AND “adverse effects” AND poisoning
Science Direct	13/07/2021	antioxidant AND BHT OR butylated hydroxytoluene OR BHA OR butylated hydroxyanisole OR irganox 1076 OR 3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl AND toxic potential AND toxicity AND public health AND adverse effects AND poisoning
Google Scholar	14/07/2021	antioxidant AND BHT OR “butylated hydroxytoluene” OR BHA OR “butylated hydroxyanisole” OR “irganox 1076” OR “3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl” AND “toxic potential” AND toxicity AND “public health” AND “adverse effects” AND poisoning
EMBASE	03/08/2021	antioxidant AND butylated hydroxytoluene OR butylcresol OR 3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl AND toxicity
Cochrane Library	04/09/2021	antioxidants AND BHT OR butylated hydroxytoluene OR BHA OR butylated hydroxyanisole OR irganox 1076 OR 3 (3,5 di tert butyl 4 hydroxyphenyl) propionic acid octadecyl AND food additive AND toxicity AND Acute toxicity OR chronic toxicity AND endocrine disruption

3.2.5 Seleção dos estudos

A execução da seleção, pelos mesmos pesquisadores que realizaram a busca dos estudos de forma separada e cega, se deu em duas fases. A primeira fase envolveu a avaliação dos títulos e resumos das referências encontradas a fim de selecionar os artigos que preenchem os critérios de seleção para inclusão. A segunda fase abarcou a leitura do texto completo dos artigos elegíveis da primeira fase. Nas duas fases as oposições de ideias entre os autores foram resolvidas por consenso, já que cada um apresentou seus argumentos quanto à sua escolha até chegar a um denominador comum. Os estudos que não contemplaram os critérios de inclusão foram eliminados com a devida justificativa.

Para as duas primeiras fases foi utilizado o Teste de Relevância - roteiro elaborado no formato de um questionário que apresenta uma lista de perguntas claras e objetivas, contendo questões da pesquisa e que define a elegibilidade ou não dos artigos e que foram respondidas de forma independente pelos dois pesquisadores mediante a afirmação ou negação. Na primeira fase, com o Teste de Relevância I, foi feita uma seleção preliminar aplicada às referências bibliográficas e ao resumo dos estudos (Anexo A). Na segunda fase, o Teste de Relevância II, aplicado aos artigos acessados na íntegra (Anexo B).

Para avaliar o grau de concordância entre os autores do presente trabalho foi atribuído 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 caracteriza discordância total, o 1 exprime concordância total e o valor 0 a ausência de concordância ou igual ao acaso. Landis e Koch (1977) classificam 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). Este grau de concordância foi relativo a atuação dos dois pesquisadores nesta RS e relativo a cada busca do trabalho.

3.2.6 Coleta dos dados

Os estudos que foram eleitos a partir do Teste de relevância II (Anexo B) tiveram os dados extraídos de maneira padronizada por meio do instrumento para caracterização e extração de dados (MUÑOZ *et al*, 2002) (Anexo C), pelos dois pesquisadores, de forma autônoma. Os dados extraídos de cada trabalho foram:

- a) Referência bibliográfica completa
- b) Tipo de polímero da embalagem
- c) Tipo de embalagem
- d) Antioxidante testado no estudo + quantidade avaliada
- e) Condições propostas ao antioxidante
- f) Dados do (s) alimento (s) e do (s) simulante (s)
- g) Condições propostas ao alimento ou simulante
- h) Método utilizado para caracterizar e quantificar o antioxidante presente na embalagem e no alimento
- i) Descrição do método utilizado
- j) Concentração inicial de antioxidante na embalagem
- l) Descrição da evidência de migração pelo estudo
- m) Resultados quantitativos da migração de antioxidantes

O formulário foi testado de antemão, pelos pesquisadores, em pelo menos, três artigos selecionados, com o intuito de verificar os ajustes necessários previamente à sua aplicação no restante dos estudos.

Após a coleta, foi realizado o cruzamento de todas as informações recolhidas e quando não houve consenso entre os pesquisadores, o processo foi discutido até que ambos chegassem a um parecer comum.

3.2.7 Análise de risco de viés

Para avaliar a qualidade metodológica dos estudos elegíveis, foi utilizado um *checklist* direcionado ao estudo em questão, abordando 14 itens relacionados à técnica de incorporação do antioxidante na embalagem, validade da metodologia de análise e caracterização aplicada à interpretação e aplicabilidade dos resultados (Anexo D), a saber: 1) delineamento da pesquisa bem definido com foco na migração de antioxidantes; 2) descrição dos equipamentos

utilizados; 3) descrição da metodologia utilizada para a avaliação do teste de migração; 4) teste de migração baseado em algum regulamento; 5) descrição dos simulantes utilizados; 6) caracterização do antioxidante na embalagem de polietileno; 7) utilização de técnicas para caracterização do antioxidante na embalagem de polietileno; 8) descrição do tipo de embalagem avaliada; 9) descrição da técnica de incorporação do antioxidante na embalagem; 10) descrição da quantificação do antioxidante; 11) determinação do antioxidante na embalagem de polietileno e no alimento; 12) utilização de padrão de referência; 13) validação do método utilizado e 14) realização de análise estatística (MORAIS, 2018).

Para avaliação da qualidade metodológica dos artigos considerados elegíveis, no que diz respeito aos estudos toxicológicos, também foi criado pelos pesquisadores deste estudo, um segundo *checklist*, abordando 14 itens relacionados à técnica de avaliação dos antioxidantes, a relação desse aditivo e o desfecho com a saúde humana (Anexo D1), sendo eles: 1) delineamento da pesquisa bem definido com foco nos antioxidantes propostos; 2) descrição dos antioxidantes utilizados; 3) descrição dos equipamentos utilizados para a avaliação dos antioxidantes; 4) descrição da metodologia utilizada para a avaliação dos antioxidantes; 5) padrão de referência do antioxidante; 6) estudo conduzido com no mínimo duas espécies de mamíferos; 7) comitê de ética; 8) avaliação da possível toxicidade produzida pelo antioxidante; 9) determinação dos efeitos adversos do antioxidante; 10) caracterização do perfil toxicológico do antioxidante; 11) informações sobre os possíveis efeitos tóxicos; 12) utilização de métodos validados; 13) análise estatística e 14) utilização de regulamento.

Cada um dos itens recebeu a pontuação zero ou um, sendo a nota zero atribuída à resposta negativa, e a nota um a resposta positiva, parecido ao aplicado na ferramenta Downs e Black (1998), formando um escore máximo de 14 pontos. O escore de cada estudo 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 do escore foi baseada no instrumento de avaliação crítica para estudos de prevalência desenvolvido e testado por Munn e colaboradores (2014).

3.2.8 Resultados

Após a extração, os dados foram reunidos em uma tabela sinóptica, com a síntese dos estudos de migração de antioxidantes, para facilitar a exposição dos resultados. A tabela foi elaborada utilizando as informações contidas no instrumento para caracterização e extração de

dados (Anexo C). Também, foi construída uma segunda tabela sinóptica para os estudos toxicológicos (Anexo C1).

3.2.9 Codificação dos artigos elegíveis

Para facilitar a apresentação dos resultados dos estudos elegíveis, alocados na tabela sinóptica, foi imputada uma codificação alfanumérica a cada artigo. Nesta tabela os estudos foram codificados pela letra (E) seguida de um número sequencial (E1, por exemplo). Após extração das informações, foram efetuadas análises qualitativas dos estudos, de maneira crítica e cuidadosa, buscando a síntese e interpretação dos dados. Na tabela dos estudos toxicológicos, foi imputada a codificação T + número (T1, por exemplo).

3.2.10 Implicações éticas

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

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Pesquisa e Identificação dos Estudos

O processo de pesquisa dos estudos primários que exploraram o potencial de migração dos antioxidantes existentes nas embalagens de polietileno para alimentos, nas bases de dados eletrônicas, resultou em 491 referências. Para isso, foi realizado um amplo rastreamento, com a finalidade de alcançar quantidade significativa de estudos. Posteriormente ao rastreamento e identificação dos estudos nas bases de dados eletrônicas, os mesmos foram conduzidos para o programa *Parsifal*, sendo que 11 foram descartados por estarem duplicados.

Na Tabela 12, são exibidos as bases de dados consultadas e o total de estudos identificados que examinavam o potencial de migração dos antioxidantes, segundo os descritores e termos definidos.

Tabela 12 - Resultados da estratégia de busca nas bases de dados selecionadas e o número de artigos identificados sobre o ensaio de migração dos antioxidantes

Base de Dados	Estudos Encontrados	Estudos Excluídos ⁽¹⁾	Estudos Etapa 2⁽²⁾	Estudos Elegíveis ⁽³⁾
Pub Med	45	24	21	14
Taylor & Francis online	332	295	37	09
Science Direct	17	15	02	02
Embase	80	77	03	00
SciELO	00	00	00	00
Google	06	03	03	02
Total	480	414	66	27

(1) Etapa 1: Estudos descartados após leitura de título e resumo.

(2) Etapa 2: estudos selecionados para leitura na íntegra.

(3) Etapa 3: estudos finais.

Na Tabela acima podemos ver que após eliminação dos estudos duplicados (11) restaram 480 referências para a leitura de título e resumo; desses, 414 foram excluídos restando um total de 66 estudos que foram analisados na íntegra, sobrando ao final, 27 estudos elegíveis.

As 480 referências que passaram pelo Teste de Relevância I (Anexo A), foram satisfatoriamente analisadas, levando em consideração todos os critérios de inclusão e exclusão prescritos para a seleção dos estudos nesta revisão. Nesta primeira etapa, os estudos analisados precisavam responder de maneira afirmativa a todos os itens do Teste, a fim de serem julgados elegíveis, portanto, ambos os pesquisadores efetuaram o Teste culminando nas 414 publicações eliminadas.

A literatura mostra que é habitual, nos estudos de RS, ter uma quantidade circunstancial de estudos excluídos, especialmente, pela ampla pesquisa, cujo intuito é evitar que algum artigo importante e pertinente não seja alcançado por este método de rastreio (MORAIS, 2018).

A base de dados que prevaleceu na amostra final foi a PUBMED com 14 estudos elegíveis, vindo logo em seguida, a Taylor & Francis online com nove estudos. EMBASE e SCIELO não contribuíram com absolutamente nenhum estudo (Tabela 12). Após a exclusão dos estudos não condizentes com o nosso tema, seguiu-se para a etapa posterior, com a leitura na íntegra dos 66 estudos contemplados, sendo imposto aos mesmos, o Teste de Relevância II (Anexo B), que para serem considerados elegíveis deveriam responder de forma afirmativa a totalidade das perguntas deste Teste. Por fim, prevaleceram, ao final, os 27 estudos efetivamente utilizados no trabalho. Através da Tabela 13 podemos visualizar os motivos para eliminação dos estudos da etapa dois.

Tabela 13 – Motivos para a eliminação dos estudos após a leitura na íntegra

Motivo	Nº estudos
Estudos de Revisão	11
Estudos que não abordaram os antioxidantes propostos pela nossa pesquisa	03
Estudos que não abordaram a embalagem de PE	09
Estudos que não avaliaram a migração dos antioxidantes da nossa pesquisa	14
Somente descrição de um método analítico	01
Estudos sem dados de migração concretos	01
Total de estudos eliminados	39

A avaliação do Índice de Concordância Kappa entre os pesquisadores foi de 0,96 (IC 95% = 0,90-1,00; $p < 0,029$), representando um nível quase perfeito. Os artigos, que porventura, provocavam alguma discordância foram analisados conjuntamente por ambos os pesquisadores, sendo todos aceitos ou não, por consenso, para a inclusão no trabalho.

4.2 Pesquisa nas referências dos estudos elegíveis da busca 1

Após a análise dos estudos da busca principal (busca um), foi realizada uma busca manual em todos os artigos elegíveis. Nessa busca manual foram encontrados 468 estudos, sem considerar as legislações, resoluções e diretrizes. Nesse total, foram realizadas as mesmas análises já mencionadas nos parágrafos anteriores. Após aplicação do teste de relevância I, foram eliminados 449 estudos, passando para a averiguação do teste de relevância II os 19 restantes. Por fim, 17 artigos foram considerados elegíveis e incluídos no presente trabalho, somando-se aos 27 estudos que permaneceram na busca um. Ao todo, o presente trabalho utilizou 44 estudos para responder a pergunta um desta pesquisa.

A busca manual é realizada através da análise de cada referência mencionada pelos estudos considerados elegíveis. Portanto, cada artigo era avaliado pelo título e respectivo resumo, os que não condiziam com nossa proposta eram eliminados e os que estavam dentro do preconizado, eram separados para a leitura na íntegra. Na Tabela 14 podemos ver o total de estudos e eliminação através da busca manual dos estudos elegíveis.

Tabela 14 - Resultados dos estudos encontrados através da busca manual realizada nos artigos elegíveis da busca um.

Total de estudos encontrados manualmente	Estudos Excluídos ⁽¹⁾	Estudos Etapa 2 ⁽²⁾	Estudos Elegíveis ⁽³⁾
468	449	19	17

(1) Etapa 1: Estudos descartados após leitura de título e resumo.

(2) Etapa 2: estudos selecionados para leitura na íntegra.

(3) Etapa 3: estudos finais.

4.3 Avaliação do risco de vieses

A partir dos 44 estudos considerados elegíveis, foi realizada a Avaliação da Qualidade Metodológica (ANEXO D) dos mesmos, sendo 42 deles classificados como de alta qualidade (10 a 14 pontos) e somente dois de média qualidade (6 a 9 pontos), portanto, nenhum de baixa qualidade (0 a 5 pontos).

Na Tabela 15 consta o quantitativo de estudos excluídos da busca manual e os respectivos motivos para exclusões.

Tabela 15 - Motivos das exclusões dos estudos encontrados através da busca manual realizada nos artigos elegíveis da busca um.

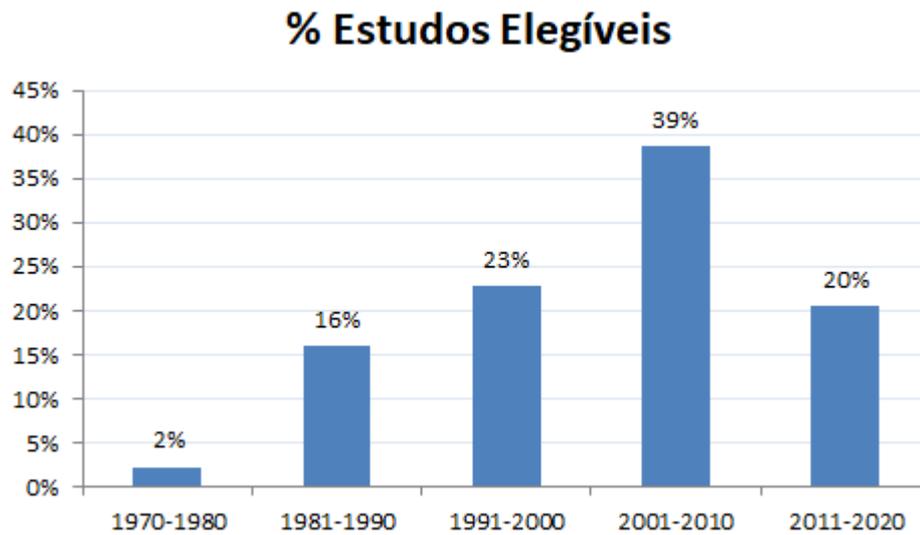
Motivo da exclusão do estudo	Estudos
Não abordou antioxidante	81
Não avaliou migração	54
Não avaliou PE	112
Outro idioma	29
Fora do assunto	56
Livro (NSA*)	25
Revisão	33
Duplicado	25
Não encontrado	36
Total	451

*NSA = não se aplica (fora do tema ou não encontrado).

4.4 Características, Síntese e Análise parcial dos estudos elegíveis.

O Gráfico abaixo mostra a distribuição dos estudos, percentualmente, por década de publicação. Dos 44 estudos elegíveis analisados, 39% foram publicados nos anos 2001 a 2010 e 2% na década de 70. Pode ser observado que o número de estudos foi aumentando ao longo dos anos, apresentando, porém, queda após 2010.

Gráfico 1 – Percentual dos estudos elegíveis por década



Fonte: (próprio autor).

Os estudos elegíveis da busca um mais a busca manual (44), foram organizados e categorizados e os dados extraídos estão descritos na tabela 16 abaixo, segundo o anexo C

Tabela 16 – Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Autor/Ano	Polímero	Antioxidante	Simulante Alimento	Condições do teste	Técnica analítica	Referência método	Concentração inicial do antioxidante embalagem	Evidência Migração	Resultado Migração
(E1) FIGGE et al., 1978	PEBD PEAD Espessura: = 350 µm (0,35 mm)	BHT Irganox 1076	Queijo fresco e processado; Maionese Margarina; Leite pó integral; Sopa desidratada; Suco de laranja; Água destilada; Ácido acético 3%; Etanol 15% Azeite de oliva; HB 307.	10 dias = 10°C 15°C 20°C 40°C	Rádio-Tracer	Figge, 1976 Figge & Piater, 1971 (a, b).	0,2%	SIM	PEAD – 16 dias/40°C: BHT: Azeite = 20,35 mg kg ⁻¹ HB 307 = 17,11 mg kg ⁻¹ I-1076 – Não houve migração PEAD/BHT/10°C em 59 dias Queijo fresco = 9%
(E2) TILL et al., 1982	PEBD Espessura = 0,22 a 0,25mm Densidade = 0,948 g/cm ³	BHT	Água; Etanol 8 e 50%; Ácido acético 3%; ; n-heptano; Óleo de milho; Álcool laurílico; HB 307; Margarina; Cobertura batida; Maionese; Gordura vegetal; Leite em pó; Sopa de frango	1 dia 1 semana 50 dias 1 e 3 meses = 40°C. 4°C 21°C	CLAE TLC	Arthur D. Little, 1981	0,6 mg/kg	SIM	Alimentos sólidos e Semissólidos = valores abaixo do LME Simulantes = valores abaixo do LME
(E3) FIGGE; FREYTA G, 1984	PEAD PEBD Filme plástico Espessura = 0,8 mm Densidade: PEBD: 0,917-0,920 g/cm ³ 0,926-0,929g/cm ³ 0,916-0,918 g/cm ³ 0,917 g/cm ³ PEAD: 0,935 g/cm ³ 0,959 g/cm ³ 0,962 g/cm ³	Irganox 1076	HB 307	10 dias/40°C 5 dias/40°C	Método Radioanalítico	Figge, 1976; 1978; 1980. Figge; Piater, 1971	0,1%	SIM	HB 307/10 dias a 40°C PEAD: 2,80 a 5,82 mg kg ⁻¹ HB 307/5 dias a 40°C PEBD: 1,46 a 3,41 mg kg ⁻¹ Valores abaixo do LME

Tabela 16 – (Continuação) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Antioxidante	Simulante Alimento	Condições do teste	Técnica analítica	Referência método	Concent. inicial do antioxidante mbalagem	Evidência Migração	Resultado Migração
(E4) BIEBER et al., 1984	PEBD PEAD Filme Espessuras: = 0,312 mm = 0,354 mm	Irganox 1076	Leite integral; Iogurte sem gordura; Iogurte de frutas c/ gordura (gordura 1,25%); Queijo duro; Sopa de galinha (gordura 10%); Sopa de tomate (gordura 10%);	10 dias 10°C 15°C 20°C 40°C 120 dias/20°C 360 dias/20°C 70°C/2h 100°C/1h 2h/70°C 1h/100°C	Método Radioanalítico	Figge, 1980; Figge & Freytag, 1979; Figge & Piater, 1971.	PEBD (0,05%) PEAD (0,1%)	SIM	Alimentos = Valores abaixo do LME PEAD: HB 307/360 d a 20°C (7,24 mg kg ⁻¹) PEAD: HB 307/360 d a 20°C (7,90 mg kg ⁻¹) PEAD: HB 307/10 d a 40°C (7,92 mg kg ⁻¹) PEAD: Azeite/360 d a 20°C (7,16 mg kg ⁻¹) PEAD: Azeite/10 d a 40°C (7,46 mg kg ⁻¹) PEBD: HB 307/10 d a 40°C (7,92 mg kg ⁻¹) PEBD: HB 307/1h a 100°C (6,99 mg kg ⁻¹) PEBD: Azeite/10 d a 40°C (7,46 mg kg ⁻¹) PEBD: Azeite/1h a 100°C (6,19 mg kg ⁻¹)
(E5) BIEBER et al., 1985	PEBD PEAD Filme plástico PEBD: Densidade 0.917- 0.920g/cm ³ PEAD: Densidade 0.949-0.953 g/cm ³	Irganox 1076	Ácido Acético HB 307	10 dias/40°C	Métodos Radioanalíticos	Figge and Piater 1971; Figge and Freytag 1979; Figge, 1980)	Não Menciona	SIM	<u>Simulantes:</u> PEBD: 0,019 a 23,84 mg kg ⁻¹ PEAD: 0,0612 a 4,38 mg kg ⁻¹ <u>Em alimentos:</u> PEBD: 0,019 a 23,84 mg kg ⁻¹ PEAD: 0,018 a 4,38 mg kg ⁻¹

Tabela 16 – (Continuação) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Antioxidante	Simulante Alimento	Condições do teste	Técnica analítica	Referência método	Concentração inicial do antioxidante embalagem	Evidência de Migração	Resultado Migração
(E6) SCHWOPE et al., 1987	PEBD Filme Plástico Densidade = 0,920g/cm ³	BHT	N-heptano; Solução aquosa de etanol; Água/Ácido acético 3%; Leite homogeneizado; Suco de laranja/Óleo de milho/carvão ativ. Alimentos sólidos	49°C/1 h 21°C/1 h 4°C/1 semana 49°C	SEC-HPLC	Norma Técnica ASTM- D1928B	200 mg	SIM	Variou de: 0,06 a 3,42 mg kg ⁻¹
(E7) GANDEK et al., 1989	PEBD PEAD PELBD Densidades: 0,920 g/cm ³ 0,918 g/cm ³ 0,948 g/cm ³ 0,920g/cm ³	BHT Irganox 1076	Água	30°C	CLAE	Não menciona	10 a 2000 mg	SIM	PELBD/BHT/24h/60°C = 10% PELBD/BHT/3M/60°C = 40% PEAD/BHT = 10% e 100%
(E8) GOYDAN et al., 1990	PEAD PEBD Densidade: PEAD: 0,963g/cm ³ PEBD: 0,918 g/cm ³	Irganox 1076	Água Etanol 8/95% Óleo de milho Alimento líquido Alim. Semissólido Leite evaporado Caldo de galinha	49 a 135°C	Cromatografi a Líquida + Sistema μBondapak C ₁₈	CFSAN	PEAD – 0,087g PEBD – 0,088g	SIM	Variou de: 0,3 a 2,04 mg kg ⁻¹ Valores abaixo do LME
(E9) HO et al., 1994	PEBD D = 0,96g	BHT	Água	1 e 4 dias 38°C	GC-MS	Não menciona	250 mg/kg	SIM	6,26 mg/kg
(E10) LIMM; HOLLIFIEL D, 1995	PEAD Filme Plástico Densidade: 0,963g/ml	Irganox 1076	Água Óleo de milho	*77°C **135°C	Modelos matemáticos Cromatografi a líquida	ADL 1990, Goydan et al. 1990	PEAD: 0.089% (g/g)	SIM	Água destilada/PEAD: 77°C: 0,018 a 0,090 mg kg ⁻¹ 135°C: 0,33 a 0,36 mg kg ⁻¹ Óleo de milho/PEAD: 77°C: 0,99 mg kg ⁻¹ 135°C: 23,65 mg kg ⁻¹

Tabela 16 – (Continuação) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Embalagem (Densidade e/ou Espessura)	Antioxidante	Simulante/ Alimento ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concent. inicial do antioxidante embalagem	Evidência migração	Resultado Migração
(E11) YAM et al., 1996	PEAD	Garrafas	BHT	Água engarrafada	65 ± 1°C/20 h	Análise sensorial GC-MS	Hartman et al, 1991.	500 mg	SIM	BHT = 9,16 mg
(E12) O'BRIEN et al., 1997	PEBD PEAD	Espessura: 0,1 mm	Irganox 1076	Ácido acético 3% Etanol 15% Azeite de oliva Óleo de girassol	*40°C/10 dias **121°C/2 h	CLAE Detecção UV	Diretiva CE 93/8/CEE	PEBD: 708 mg/kg 1535 mg/kg 2003 mg/kg PEAD: 500 mg/kg. 2500 mg/kg	SIM	*PEBD/Azeite de oliva: 56,4 mg/kg 69,6 mg/kg *PEAD/Azeite de oliva: 6,2 mg/kg **PEAD: 11,8 mg/kg 58 mg/kg 160,2 mg/kg
(E13) WESSLING et al., 1998	PEBD	Filme Plástico (1g) Densidade: 922 kg/m ³	BHT	Óleo de girassol Etanol 95%	04 e 20°C 07 semanas	GC-MS CLAE	Método Oficial IUPAC 2.432	450 mg/kg	SIM	1,38 mg kg ⁻¹ Por g/filme Valores abaixo do LME
(E14) COOPER et al.,1998	PEAD 1 PEAD 2	2 mm	Irganox 1076	Azeite de oliva Isooctano Etanol 95%	10 dias/40°C 2 dias/20°C	CLAE	Diretiva 82/711/EEC	(1) 0,05% (2) 0,25%	SIM	*Azeite/10 dias/40°C (2) = 6,2 mg/kg *Azeite/2h/121°C (2) = 68,8 mg/kg (autoclave) *Azeite/2h/121°C = 11,8 mg/kg (1) = 55,9 mg/kg (2) *Isooctano/2,5h/60°C = 12,3 mg/kg (2) *Etanol 95%/2h/121°C = 73,8 mg/kg (2)
(E15) LINSSEN et al., 1998	PELBD	Densidade: = 920 kg/m ³ Espessura: = 0,05mm	Irganox 1076	Etanol 55% Etanol 100%	20/30/40°C Até 5 dias	Cromatografia gasosa	Franz et al., 1993 Franz et al., 1994	442 ± 6 mg	SIM	Valores abaixo do LME

Tabela 16 – (Continuação) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Embalagem (Densidade e/ou Espessura)	Antioxi dante	Simulante/ Alimento ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concent. inicial do antioxidante embalagem	Evidência migração	Resultado Migração
(E16) BAILEY et al., 1999	PEAD PEBD	Filme Espessura: = 0,56 mm	BHT	Não menciona	23°C ± 0,5°C 30°C ± 0,5°C 40°C ± 0,5°C	UV + CLAE	Hoojjat et al. 1987.	0.157% (w/w)	SIM	Valores abaixo do LME
(E17) O'BRIEN et al., 1999	PEAD	Densidades: a) 0,962 g/cm ³ b) 0,960 g/cm ³ c) 0,952 g/cm ³ d) 0,955 g/cm ³	Irganox 1076	Azeite oliva	70°C/2 h e 6h 40°C/10 dias	Equações matemáticas	Legislação CEE, 1997 O'Brien et al., 1997 a e b	a) 820 mg/kg b) 800 mg/kg c) 770 mg/kg d) 850 mg/kg	SIM	Valores abaixo do LME
(E18) WESSLING et al., 2000	PEBD	Espessura: = 0,04 mm	BHT	Cereal de aveia	2/4/6/8/10 semanas/20° C 2/4/6/8 dias 30 e 40°C	CLAE	Não menciona	290 mg kg ⁻¹	SIM	2 e 4 dias/30°C = 3 mg kg
(E19) O'BRIEN; COOPER, 2002	PEAD	Filme Densidade: = 952 a 962 kg m ⁻³	Irganox 1076	Azeite de oliva	121°C/2h 70°C/2h 60°C/2h 70°C/6h 40°C/10 dias	Modelo matemático	Baner et al., 1994/95 Limm & Hollifield, 1996 Begley, 1997 Piringer, 1997 Brandsch et al., 1999	0,10%	SIM	Valores abaixo do LME
(E20) BRANDSCH et al., 2002	PEAD	Filme Plástico Densidade: = 0.948 g/cm ⁻³	Irganox 1076	Etanol 100% Etanol 95% Etanol 80% Etanol 70% Etanol 50%	4/10/20 dias 40°C 1/2/4 dias 60°C 24/30/48 horas 80°C	CLAE	Piringer 1993/1994; Baner et al. 1996	2000 mg/kg ⁻¹	SIM	<u>Etanol 100%</u> : 9,42 a 43,14 mg/kg ⁻¹ <u>Etanol 95%</u> : 3,84 a 15,9 mg/kg ⁻¹ <u>Etanol 80%</u> : 3,48 a 13,14 mg/kg ⁻¹ <u>Etanol 70%</u> : 15,96 a 20,34 mg/kg ⁻¹ <u>Etanol 50%</u> : 0,066 a 0,44 mg/kg ⁻¹

Tabela 16 – (Continuação) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Embalagem (Densidade e/ou Espessura)	Antioxidante	Simulante/ Alimento ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concent. inicial do antioxidante embalagem	Evidência migração	Resultado Migração
(E21) FEIGENBAU M et al., 2002	PELBD	Filmes plásticos Densidade: = 0,95/0,96 g/cm ³ Espessura: 2 mm	BHT	Etanol 95% Azeite de Oliva MCTG	40°C	NMR; (HT)-GC- FID; GC- MS; HPLC.	Método Oficial Holandês (van Battum and van Lierop 1988)	Não menciona	NÃO	BHT detectado em nível traço.
(E22) HELMROTH et al., 2002	PEBD	Filme Plástico Densidade: = 0,92 kg/dm ⁻³ Espessura: = 0,108 mm	Irganox 1076	Etanol Isopropanol Isooctano Acetado de etila Ciclohexano Tributirina Tricapilina Azeite de oliva	40°C	GC-FID + Modelo matemático	Press et al. 1994	3297 mg/dm ⁻³	SIM	Quase 100% I-1076 em etanol em 2 dias Quase 90% I-1076 em óleo de oliva em 4 dias
(E23) DOPICO- GARCIA et al., 2003	PEBD	Filmes comerciais Saco de gelo Saco congelar alimentos	BHA BHT Irganox 1076	Água Milli-RO	40 ± 1°C 10 dias	Energia Micro- ondas HPLC-UV	UNE- ENV13130	0,1 mg/L ⁻¹	NÃO	Os antioxidantes não foram detectados nas amostras (ND)
(M24) HAN et al., 2003	PEBD PEAD	Densidades: = 0,917 g/cm ³ = 96,25 g/cm ³	BHT	Etanol 50% Etanol 100%	23/31/40°C	RP-CLAE	ASTM D- 4754-93	PEBD 100 mg/g PEAD 10 mg/g	SIM	Valores abaixo do LME
(E25) STOFFERS et al., 2004 (1)	PEBD PEAD	PEBD Espessura: = 0,993±11 mm Densidade: = 0,917±0,002g/cm ⁻³ PEAD: Espessura: = 1,043 ±9 mm Densidade: = 0,948±0,002 g/cm ⁻³	Irganox 1076	Azeite de oliva Óleo de girassol	100°C/2h	CLAE/UV Ou FLD	Diretiva 2002/72/EC União Europeia	PEBD: 500 ± 23 mg/kg ⁻¹ PEAD: 896 ± 114 mg/kg ⁻¹	SIM	PEBD: 2,17±0,15 mg/kg ⁻¹ PEAD: 0,437±0,033 mg/kg ⁻¹ Valores abaixo do LME
(E26) STOFFERS et al., 2004 (2)	PEBD PEAD	Espessura = 1011 mm	Irganox 1076	Etanol 95%	100°C/2h 40°C/10 dias	CLAE/UV	Não menciona	618 mg kg ⁻¹	SIM	Valores abaixo do LME

Tabela 16 – (Continuação) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Embalagem (Densidade e/ou Espessura)	Antioxidante	Simulante/ Alimento ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concent. inicial do antioxidante embalagem	Evidência migração	Resultado Migração
(E27) BEGLEY et al., 2005	PEBD PEAD	Filme Plástico (1): Espessura = 0,05 cm Filme Plástico (2): Espessura = 0,2 cm	Irganox 1076	Azeite de Oliva	(1): 40°C/10 dias (2): 40°C/1, 2, 4, 10 dias.	Modelos Matemáticos Estimativas teóricas de migração	Diretiva 97/48/EC	(1): 930 mg kg ⁻¹ (2): 222 mg kg ⁻¹ (PEBD) (3): 2000 mg kg ⁻¹ (PEAD)	SIM	PEBD: (1): 2,6 mg kg ⁻¹ (2): 1, 2, 4, 10 dias = 0,85/1,26/1,74/2,75mg kg ⁻¹ PEAD: (3): 3,84 a 15,90 mg kg ⁻¹
(E28) DOPICO-GARCIA, et al., 2007	PEBD PEAD	Sacos plásticos	Irganox 1076 BHA BHT	Água destilada Ácido acético 3% Etanol 10% Azeite de oliva	40°C/10 dias	CLAE (análise) Energia de micro-ondas (extração)	Council Directive 82/711/EEC	0,5 mg/L ⁻¹	SIM	Valores abaixo do LME Traços do I-1076, não sendo possível quantificar.
(E29) TORRES et al., 2007	PEBD	Espessura: 600 cm ² = 4,29g de filme por filé	BHT	Peixes Sierra	-25°C/120 dias	CLAE	Não menciona	40 mg/g	SIM	0 dias = 22,64 mg/g 30 dias = 17,32 mg/g 120 dias = 7,59 mg/g
(M30) JEON et al., 2007	PELBD	Filme Plástico Densidade = 0,2g	Irganox 1076	Ácido acético (04 ml/100 ml água destilada) Etanol (20 ml/100 ml água destilada)	25°C/24h Irradiação da embalagem: 0-200 KGy	GC-MS	Demertzis et al., 1999	Não menciona	SIM	Água destilada: 0,09 ± 0,01 mg kg ⁻¹ Ácido acético: 0,11 ± 0,01 mg kg ⁻¹ Etanol 20%: 0,12 ± 0,02 mg kg ⁻¹ Todos em 25°C/24h Valores abaixo do LME
(E31) VITRAC et al., 2007	PEBD	Filme plástico Densidade: = 924±3kg/m ³	BHT Irganox 1076	Etanol	40°C 120,125 130,135°C	GC-FID	Baner, Brandsch, Franz, and Pirringer (1996)	BHT 136 ± 11 mg/kg ⁻¹ Irganox 1076 995 ± 24 mg/kg ⁻¹	SIM	Alta afinidade de BHT ao Etanol. Valores abaixo do LME

Tabela 16 – (Continuação) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Embalagem (Densidade e/ou Espessura)	Antioxidante	Simulante/ Alimento ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concent. inicial do antioxidante embalagem	Evidência migração	Resultado Migração
(E32) CRUZ et al., 2008	PEBD	Espessura: = 0,45 mm Densidade: = 0,92 g/cm ³	BHT	Queijo macio Queijo cottage Queijo gouda	**5 °C/30dias *25 °C/20 dias	Modelo matemático CLAE	Sanches Silva et al., 2005; Garcia et al., 2004	3315 mg/kg	SIM	**3,86 mg kg ⁻¹ *4,87 mg kg ⁻¹
(E33) SOTO- CANTÚ et al., 2008	PEBD	Embalagem Plástica Filme Ativo Espessura: Filme (0): = 0,09±24,01 mm Filme (8): = 0,09±24,36 mm Filme (14): = 0,10±22,48 mm	BHT	Produto alimentício sólido	5 ± 1°/100 dias 23°C	CLAE	Não descrita pelos autores	8mg BHT: 3.58 ± 0,19 mg/g 14 mg BHT: 4.70 ± 0,37 mg/g	SIM	<u>Em 3 dias contato:</u> 8mg BHT: 2,45 ± 0,12 mg/g 14 mg BHT: 3,42 ± 0,06 mg/g <u>Em 20 dias contato:</u> 8mg BHT: 1,34 ± 0,06 mg/g 14 mg BHT: 1,56 ± 0,15mg/g
(E34) MACHADO et al., 2009	PEBD	Espessura: = 0,18 mm	Irganox 1076	Água Ácido acético 3%	10 dias/40°C	CLAE	ASTM D1996-97	111 ± 4 mg/g	SIM	Valores abaixo do LME
(E35) MAURICIO-IGLESIAS et al., 2010	PELBD	Filme Plástico Espessura: = 0,49 ± 25 mm	Irganox 1076	Etanol (15%) Ácido Acético (3%) Azeite de oliva Água destilada	40°C/ 3, 6, 10, 15 e 26 dias	Espectroscopia UV a 277 nm (FTIR)	Diretivas 85/572/EEC (Comissão Europeia, 1985) 2002/72/EC (Comissão Europeia, 2002)	0,37 mg	SIM	Valores abaixo do LME

Tabela 16 – (Continuação) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Embalagem (Densidade e/ou Espessura)	Antioxidante	Simulante/ Alimento ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concent. inicial do antioxidante embalagem	Evidência migração	Resultado Migração
(E36) COLTRO; MACHADO 2011	PEBD	Espessura = 0,18 mm	Irganox 1076	Água ultraP Isopropanol Ácido acético 3% Álcool etílico Isooctano	10 dias/40°C (simulante aquoso e ácido) 2 dias/20°C (simulante gorduroso = isooctano)	CLAE	ASTM D6953-03, 2009	100 mg/kg ⁻¹ a 250 mg/kg ⁻¹	SIM	Valores abaixo do LME
(E37) BELDÍ et al., 2012	PEBD	Filme plástico Espessura: = 1,01±18 mm Densidade: = 0,916+0.001g cm ⁻³	Irganox 1076	Água destilada Ác. acético 3% Etanol 10% e 95% Azeite Isooctano	5/25 e 40°C 5 até 180 dias	Teor de gordura = Método oficial AOAC GC-MS (migração)	Diretiva 82/711/EEC	1 a 5 mg/kg ⁻¹	SIM	Variou de: <u>Alimentos:</u> 0,11 a 8,48 mg kg ⁻¹ <u>Simulantes:</u> 0,71 a 42,83 mg kg ⁻¹
(E38) REINAS et al., 2012	PEBD	Espessura = 0,06 mm	Irganox 1076	Grãos arroz médios pré-cozidos Tenax	23/40/70°C	GS-MS	Não menciona	2,11 mg	SIM	Valores abaixo do LME
(E39) JAKUBOWSKA et al., 2014	PEBD	Filme plástico Espessura: = 0,41±28.66 mm Densidade: = 0,935 g/cm ⁻³	BHT	PPPO (simulante alimento seco)	60°C/10 dias	GC-MS	ISO 2005 EU 2011	300 mg/kg ⁻¹	SIM	PEBD 15,61mg/kg ou 5,2 %
(E40) HAITAO et al., 2015	PEAD	Espessura = 24 cm ²	BHT	Etanol 95%	40°C	CLAE	Não menciona	a) 1250 mg/kg b) 2000 mg/kg c) 6000 mg/kg d) 8000 mg/kg	SIM	Valores abaixo do LME
(E41) IBARRA et al., 2018	PEBD	Filme plástico Espessura: = 0,09±3.5 mm Densidade: = 0.91g/cm ⁻³	BHT	Etanol 50% Etanol 95% Isooctano	<u>Etanol:</u> 384h/10°C 168h/20°C 24h/40°C <u>Isooctano:</u> 72h/10°C 24h/20°C 8h/40°C	Modelo matemático HPLC GC-MS	UE 10/2011	913.3 mg/kg ⁻¹ ± 39.5 mg/kg ⁻¹	SIM	Etanol 95%: Quase 100% (10/20/40°C) Etanol 50%: 90% (20/40°C); < 90% (10°C)

Tabela 16 – (Conclusão) - Síntese dos estudos elegíveis da busca 1 e manual

Periódico	Polímero	Embalagem (Densidade e/ou Espessura)	Antioxidante	Simulante/ Alimento ou meio de teste	Condições do teste	Técnica analítica	Referência do método	Concent. inicial do antioxidante embalagem	Evidência migração	Evidência Resultado Migração
(E42) RUBIO et al., 2019	PE	Filme plástico Espessura: = 0,00025 mm	BHT	TENAX	4°C/5 dias	Método Of. Holandês GC-MS	UE 2016/1416	0,1 mg/L ⁻¹	SIM	Valores abaixo do LME
(E43) VERA et al., 2019	PEBD PEAD	Filmes plásticos	Irganox 1076	Etanol 95%	10 dias/60°C	UPLC-IMS QTOF	UE 10/2011	Não menciona	SIM	PE17: 0,81 ± 0,06 mg/kg e 0,42 ± 0,03 mg/kg PE18: 1,63 ± 0,07 mg/kg e 1,21 ± 0,05mg/kg Valores abaixo do LME
(E44) LIANG et al., 2020	PEAD	Não menciona	BHA BHT	Água destilada Ácido acético 4% Etanol 20% Água mineral Iogurte Suco e refrigerante	10 dias/40°C	CLAE	GB 31604.1- 2015	0,0012 mg	SIM	Valores abaixo do LME

Abreviações: PE (Polietileno). PEBD (Polietileno de Baixa Densidade). PEAD (Polietileno de Alta Densidade). PELBD (Polietileno Linear de Baixa Densidade). GC-MS (Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa). CLAE (Cromatografia líquida de alta eficiência). FLD (detecção de fluorescência). CG-DIC (Cromatografia gasosa com Detector por Ionização de Chama). LME:(Limite de Migração Específica). HSGC (Cromatografia de gás *headspace*).

4.4.1 Avaliação da migração

Estudos de migração são realizados com o objetivo de identificar os melhores simulantes para a condução da avaliação de produtos alimentícios, como também, a fim de definir as condições de teste (temperatura/tempo de contato) que melhor simulem as situações reais de acondicionamento utilizadas na prática para qualquer produto (FIGGE et al.,1978).

O fenômeno de transferência de massa ou processo de migração envolve a difusão de substâncias de materiais em contato com alimentos. Inúmeros parâmetros podem influenciar no processo de migração como o tipo de alimento, o teor de gordura desse alimento, a temperatura e a duração do contato, a concentração de substâncias na embalagem, a morfologia do polímero, sua densidade, seu tamanho molecular, estado físico do migrante (IBARRA, *et al.* 2018) pH, teor de álcool, entre outros, são capazes de influenciar a migração de substâncias de baixo peso molecular dos plásticos para os alimentos (BIEBER et al., 1984)

Dos 44 artigos primários e elegíveis que fizeram parte desta RS, 20 não apresentaram evidência de migração acima do LME, porém, os demais artigos (24) apresentaram evidência de migração com valores acima do LME, conforme apresentada na Tabela 17.

Tabela 17 – Estudos que apresentaram evidência de migração versus estudos sem evidência de migração

Estudos COM evidência de migração e LME acima do estabelecido pela legislação	Estudos COM evidência de migração e LME abaixo do estabelecido pela legislação
E1, E4, E5, E6, E7, E9, E10, E11, E12, E14, E16, E18, E19, E20, E22, E27, E29, E32, E33, E35, E37, E39, E41, E43.	E2, E3, E8, E13, E15, E17, E21, E23, E24, E25, E26, E28, E30, E31, E34, E36, E38, E40, E42, E44.

LME – Limite de Migração Específico

Alguns estudos não relataram todos os parâmetros que influenciam no resultado de migração. Os estudos E5, E21, E30 e E43 não mencionaram a concentração inicial do antioxidante na embalagem. O E42 não reportou o tipo específico de polietileno utilizado no estudo e, outros deixaram de apontar a densidade do polietileno, como os E1, E4, E11, E12, E14, E16, E18, E23, E26, E27, E28, E29, E33, E34, E35, E36, E38, E40, E42, E43 e E44.

A regulamentação da União Europeia sobre materiais e artigos que se destinam a entrar em contato com alimentos determina normas gerais (EC/1935/2004 – Regulamento

Comissão Europeia 2004), como a de não transferir seus constituintes para os alimentos em quantidades que possam colocar em risco a saúde humana ou acarretar em mudanças nas características organolépticas ou na composição dos alimentos (BELDI, *et al.* 2012).

Porém, não existe a garantia de que não vá ocorrer a migração de forma que não acarrete problemas para a saúde em longo prazo, tendo em vista que pode sim haver a migração de valores maiores do que o preconizado pela legislação. O E13, por exemplo, o qual avaliou a possibilidade de migração do antioxidante BHT do PEBD para simulantes alimentares, concluiu que a segurança do uso desse aditivo, que já foi e ainda é muito questionado, em qualquer concentração na embalagem e nos alimentos deve ser evitada.

O E13 afirma que o BHT é um antioxidante extremamente móvel em filme de PEBD, especialmente quando comparado a um antioxidante natural, como o α -tocoferol, devido ao fato das moléculas do BHT se moverem mais rapidamente através da matriz do polímero. Portanto, o antioxidante natural seria uma substância inofensiva, com uma taxa comparativamente baixa de migração para os alimentos e um substituto adequado para o BHT, como um antioxidante em plásticos.

Outro estudo (E33) que também analisou o PEBD e o BHT, só que em um produto sólido (queijo), constatou que a maior parte do BHT migrou da camada de PEBD para o queijo durante os primeiros 20 dias de armazenamento a 5°C. Nesse estudo, utilizaram duas concentrações diferentes de BHT no polímero, um filme (1) com 8.000 mg kg⁻¹ de BHT, 3 dias de contato com o alimento e, um filme (2) com 14.000 mg kg⁻¹ do antioxidante, com o mesmo tempo de contato. Após três dias, o filme (1) apresentou o valor de 2.450 mg kg⁻¹ e, com 14 dias, 3.420 mg kg⁻¹.

A migração ou transferência de constituintes de materiais plásticos para os alimentos foi regulamentada pela Comissão da União Europeia 2002/72/CE (Comissão Europeia 2002), agora sob regulamento (UE) 10/2011 (União Europeia 2011). A legislação determina, em particular, o LME, que se aplica a toda substância autorizada, bem como, as regras para os testes de migração com os simulantes de alimentos específicos para os diversos tipos de alimentos (BELDI, *et al.* 2012). Assim, a legislação impõe limites de migração específicos para substâncias individuais com o potencial de migrar dos plásticos para os alimentos, segundo sua toxicidade individual; todas as poliolefinas contêm pelo menos um antioxidante (DOPICO-GARCÍA, *et al.* 2003). Os LMEs são estabelecidos de acordo com as avaliações toxicológicas realizadas pela *European Food Safety* (EFSA) (RUBIO, *et al.* 2019).

4.4.2 Avaliação da migração por tipo de simulante

Os simulantes de alimentos utilizados pelo MERCOSUL, UE e EUA em ensaios de migração e as respectivas categorias de alimentos são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 - Simulantes de alimentos usados nos estudos de migração no MERCOSUL, UE e EUA.

Tipo de alimento	Simulante	MERCOSUL	UE	EUA
Aquoso não ácido (pH > 5)	Água destilada	x	x	x
	Solução de etanol em água destilada a 8%		x	x
	Solução de ácido acético em água destilada a 3% (m/v)			x
Aquoso ácido (pH ≤ 5)	Solução de ácido acético em água destilada a 3% (m/v)	x	x	x
	Solução de etanol em água destilada a 8%			x
Alimentos aquosos não ácidos contendo óleo em gordura	Água destilada		x	x
	N-heptano			x
	Azeite de oliva refinado			x
	Óleo de milho			
	Gordura sintética HB 307	x		
	Mistura de triglicerídeos sintéticos	x		
Alimentos aquosos ácidos contendo óleo ou gordura	Água destilada		x	x
	Óleo de milho			x
	Gordura sintética HB 307			x
	Mistura de triglicerídeos sintéticos			x
	Solução de ácido acético em água destilada a 3% (m/v)	x	x	
	Solução de etanol em água destilada a 8%			
Alimentos gordurosos ou oleosos	Azeite de oliva			x
	N-heptano			x
	Óleo de milho			
	Óleo de girassol	x		
	Gordura sintética HB 307		x	
	Mistura de triglicerídeos sintéticos		x	x
Alimentos alcoólicos (conteúdo em álcool > 5% (v/v))	Solução de etanol em água destilada a 15%	x	x	
	Solução de etanol em água destilada a 8 ou 50%			x
	Solução de ácido acético em água destilada a 3% (m/v)			x

MERCOSUL: Mercado Comum do Sul. EU: União Europeia. EUA: Estados Unidos da América.

Em nosso estudo, os principais simulantes utilizados são vistos na Tabela 19 e de todos os simulantes, o etanol foi o que mais apareceu.

Tabela 19 - Principais simulantes utilizados nos estudos

Simulantes
Água destilada; Ácido acético 3%; Acetato de etilo; Álcool laurílico; Ciclohexano; Etanol 8, 10, 15, 50, 70, 80, 95, 100%; HB 307; Iso-octano; Isopropanol; N-heptano; MCTG; PPPO; TENAX; Tributirina; Tricapilina.

Determinados alimentos, como os produtos alcoólicos e lácteos, são amparados na legislação com outros simulantes. Para o leite integral, leite condensado, leite desnatado ou parcialmente desnatado o simulante gorduroso empregado tem de ser o etanol 50%. Já em alimentos apresentando conteúdo alcoólico maior que 10% (v/v), são necessárias a utilização de solução de etanol em água destilada com concentração igual à do alimento. A Tabela 20 mostra mais detalhes dos simulantes segundo as diferentes classes de alimentos.

Tabela 20 - Simulantes para diferentes classes de alimentos

Tipo de alimentos	Simulante
Aquosos não ácidos (pH > 4,5)	Água destilada
Aquosos ácidos (pH < 4,5)	Ácido acético 3% (m/v)
Alcoólicos	Etanol 10% (v/v)
Gordurosos	Etanol 95%, Iso-octano, Azeites e óleos comestíveis ou misturas sintéticas de triglicerídeos.

Fonte: (ANVISA, 2010; OLIVEIRA, 2013).

Etanol 50% é utilizado para simular alimentos com mais de 20% de teor alcoólico e laticínios, enquanto que a gordura tende a se acumular no etanol 95%, por isso, representa um simulante para o uso em testes que queiram simular alimentos de carácter lipofílico (IBARRA, *et al.* 2018).

O Regulamento da UE nº 10/2011 define que, para verificar a conformidade da migração dos materiais plásticos em contato com os alimentos, precisam ser utilizados

simulantes de alimentos (EU, 2011). Os simulantes são usados para descomplicar a análise sabendo que os alimentos são matrizes complexas, com a qual a embalagem irá ficar em contato. De acordo com esse regulamento, seis simulantes 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).

O regulamento estabelece que para demonstrar a conformidade com o limite de migração global de todos os tipos de alimentos, é preciso realizar as análises com água destilada ou de qualidade equivalente, juntamente com o simulador alimentar 1, 2 e 5. Além disso, se a embalagem entrar em contato com alimentos aquosos e alcoólicos e produtos lácteos, é necessário realizar as análises com o simulante alimentar 4. Alimentos aquosos e alcoólicos, possuindo teor alcoólico de até 20%, precisam ser analisados com o simulante alimentar 3 e para alimentos em pó ou secos utilizar o simulador alimentar 6. O emprego desses diferentes simulantes alimentares fundamenta-se em modelos matemáticos, que preconizam que a capacidade de migração dos antioxidantes presentes nos materiais das embalagens plásticas utilizadas para os alimentos está relacionada a diversos fatores, dentre eles o pH e as características dos alimentos, principalmente os gordurosos (EU, 2011; MORAIS, 2018).

Os estudos E3, E17, E23, E26, E31, E40, E42 e E43 foram os que não evidenciaram a migração de antioxidantes acima do LME e utilizaram somente um único alimento e/ou simulante no teste de migração. Isso pode ter sido um dos fatores que colaborou para o resultado encontrado. Se mencionarmos que, sob condições reais, diferentes tipos de alimentos são acondicionados em embalagens, esclarece-se o porquê esse resultado não pode ser utilizado para a tomada de decisão quanto ao risco de migração de antioxidantes para todos os tipos de alimentos. Desses estudos, seis não identificaram migração de antioxidante acima do LME e utilizaram alimento e ou simulante para gordura, a fim de verificar essa migração.

Como foi visto anteriormente, a gordura é um grande potencializador da migração, ou seja, alimentos e simulantes ricos em gordura, costumam apresentar uma maior migração de antioxidante da embalagem para o alimento ou simulante. Portanto, os resultados desses que se apresentaram abaixo do LME, mostraram-se discordantes da literatura, uma vez que, em se tratando de gordura e, especialmente simulante gorduroso, os valores migrados se mostram acima do LME preconizado, ou pelo menos, com valores quase atingindo o LME.

Para ratificar que a ausência de migração não estava sendo motivada por características químicas do alimento/simulante ou pela temperatura, o desenho experimental dos estudos deveria ter considerado diferentes tipos de alimentos/simulantes e/ou temperaturas, assim, seria possível alcançar um desfecho mais preciso com relação à influência do tipo de simulante e da temperatura na migração.

Por outro lado, os estudos E7, E9, E18, E19, E27, E29 e E33 evidenciaram a migração de antioxidantes, utilizando somente um único alimento e/ou simulante, apresentando migração acima do LME. Desses sete estudos, seis utilizaram temperaturas que iam de 20 a 40°C, com armazenamento de mais de 4 dias. Somente o E29 utilizou uma temperatura negativa (-25°C) para avaliar a migração em peixe. Diversos estudos evidenciam a importância da temperatura nas pesquisas de migração (SCHWOPE *et al.*, 1987; GOYDAN *et al.*, 1990; LIMM *et al.*, 1995; SOTO-CANTÚ *et al.*, 2008; BELDÍ *et al.*, 2012; IBARRA *et al.*, 2018), o que pode explicar os resultados observados, uma vez que, como já mencionado, a temperatura é um forte contribuinte da migração.

Ainda seguindo na linha dos estudos que utilizaram poucos simulantes, seis prosseguiram em suas pesquisas com somente dois, sendo eles, E5, E10, E13, E15, E25 e E34. O E5, diferente do E3 relatado no parágrafo anterior, obteve alta migração para HB 307 (PEBD = 23,87 mg kg⁻¹ migrado). A transferência de antioxidante para produtos de baixo teor calórico e normal em calorias e gordura, bem como para emulsões de gordura em água, foi comparada utilizando ácido acético aquoso e gordura de teste HB 307 em condições normais de armazenamento e após 10 dias a 40°C.

Ao avaliar a migração em vários alimentos em embalagem de PEBD e PEAD (salsicha de porco, salsicha de fígado, iogurte, queijo fresco, duro e processado, e margarina) a margarina normal e de baixa caloria (7,98 mg/kg⁻¹ e 6,96 mg/kg⁻¹) e queijo duro (9,91 mg/kg⁻¹), apresentaram os resultados acima do LME. Importante ressaltar que todos os resultados acima do LME ocorreram em PEBD, diferente dos encontrados em PEAD onde todos os resultados ficaram abaixo do LME. Tal evidência corrobora com o mencionado pelo autor de que o PEBD não é adequado para embalagem de alimentos gordurosos (BIEBER *et al.*, 1985).

Como pode ser observada, a migração do antioxidante das poliolefinas para o HB 307 é maior do que para os alimentos reais em condições normais de armazenamento. Essas diferenças são observadas até mesmo para linguiça de porco ou linguiça de fígado, que sem dúvida, seriam classificadas como gordurosas.

O E10 avaliou a migração em PEAD/PEBD para óleo de milho em altas temperaturas (77 e 135°C) e encontrou resultados diferentes do E5. Enquanto o E5 obteve resultados de

migração em PEBD, o E10 apresentou em PEAD, quando submetido a 135°C com migração de 23,65 mg kg⁻¹. Ambos os estudos avaliaram a migração do Irganox 1076 e constataram que o I-1076 não é altamente solúvel em óleo de milho em baixas temperaturas. Diferentes temperaturas utilizadas pelos estudos podem explicar a diferença de migração entre as embalagens utilizadas.

Em se tratando de solubilidade, essa desempenha papel significativo na determinação da taxa de migração geral, ou seja, quanto menor a solubilidade, menor a taxa de migração. No entanto, a solubilidade é uma propriedade de equilíbrio cuja cinética pode ser manipulada por mistura e aquecimento. A mistura acelera a solvatação¹ de um migrante em um simulante de alimento, removendo o simulante carregado de migrante na interface polímero-simulante, conseqüentemente, mais moléculas migrantes são dispersas em simulante rapidamente, aumentando com isso a taxa de migração. Além disso, no processamento real, os alimentos são pré-aquecidos e resfriados enquanto estão em contato com sua embalagem, portanto, mais aditivo pode migrar durante o aquecimento e o resfriamento (LIMM; HOLLIFIELD, 1995).

Também, a dissolução dos solventes em relação a um material plástico pode ser definida com base na solubilidade do plástico. Se um plástico for amplamente solúvel em um solvente, irá facilitar a difusão dos potenciais migrantes para fora da matriz (FEIGENBAUM *et al.*, 2002).

Com relação ao etanol, o E41 e o E13 mostraram que em etanol 50% o BHT migrou em menor proporção no simulante, quando comparado ao etanol 95%, especialmente pelo BHT apresentar menor afinidade para este tipo de simulante a 50% em qualquer temperatura de teste. Entretanto, mesmo em etanol 50% a migração foi de 90% (20 e 40°C), ou seja, como a concentração inicial do antioxidante no polímero era de 913,3 mg kg⁻¹, foi relatado uma migração de 821,97 mg kg⁻¹.

Semelhante ao E41, o estudo de Schwöpe e colaboradores 1987 (E6), que testou a migração do BHT em temperaturas semelhantes (49°C e 21°C), também utilizando etanol 50%, verificou que além da migração ter sido rápida (até 1 hora), ultrapassou o LME de 3 mg kg⁻¹. Porém, o mesmo não foi observado com o etanol a 8% e água, e com o ácido acético 3% os resultados de migração foram mais baixos que na água, aumentando apenas com o tempo, a quantidade migrada.

Em soluções aquosas, parte do BHT migra e após tal processo, se decompõem em substâncias desconhecidas. A hipótese aceita é de que o BHT migra por difusão, do polímero

¹ Solvatação: quando um composto iônico ou polar se dissolve em uma substância polar, sem formar uma nova substância.

para a superfície do alimento ou simulante. Com o nível de BHT aumentado, ocorre um equilíbrio e a taxa de migração começa a diminuir, porém não cessa, já que, simultaneamente, o BHT é decomposto. Parece que as taxas de decomposição do BHT são bem menores em soluções ácidas do que nas aquosas (SCHWOPE *et al.*, 1987).

Os demais estudos (E13, E15, E25 e E34) não obtiveram valores maiores que o LME, mesmo utilizando simulantes e/ou alimentos gordurosos nos testes (óleo de girassol, azeite de oliva, etanol 55, 95 e 100%).

Em se tratando de polímeros, especialmente o PEBD, em contato com diferentes tipos de alimentos, a relação entre o valor de migração e a quantidade de gordura absorvida não é tão próxima quanto seria de se esperar. A absorção de gordura é governada pela velocidade de absorção, enquanto a migração depende da difusão do aditivo no alimento e do coeficiente de partição do aditivo entre o polímero e a fase de contato. Portanto, a transferência de componentes hidrofóbicos de baixo peso molecular de um material de embalagem de plástico para um alimento é governada pelas propriedades de liberação de gordura do alimento, ou seja, pela quantidade de gordura disponível na superfície do alimento, enquanto o teor de gordura dos alimentos é apenas de menor influência (BIEBER *et al.*, 1984).

Foi visível em todos os artigos, onde foi analisada a migração de antioxidantes, que quanto mais gorduroso for o alimento ou o simulante, maior a taxa de migração, com aumento gradativo à medida que há elevação do tempo e da temperatura de exposição. Isso ocorre, pois a migração para alimentos gordurosos geralmente ocorre em taxas mais rápidas do que para alimentos aquosos, um fenômeno atribuído à penetração destes alimentos nos materiais de embalagem, modificando o ambiente local de forma a aumentar a mobilidade dos aditivos. Também, para a simulação desses alimentos, as diretrizes da Food and Drug Administration recomendam o uso de n-heptano, no entanto, esse simulante é tão agressivo que rapidamente penetra e incha muitos polímeros com extração completa dos migrantes ou leva a rachaduras, distorção ou dissolução do polímero (TILL *et al.*, 1982).

Por muito tempo buscou-se por simulantes para alimentos gordurosos que fossem mais adequados do que o n-heptano e mais fáceis de analisar do que um óleo vegetal, que apresenta composição complexa e variável. Entra em cena então uma mistura sintética de triglicerídeos, o HB-307. Esse simulador detém uma distribuição controlada de ácidos graxos e triglicerídeos semelhante à do óleo de coco, ou seja, são compostos por triglicerídeos saturados de peso molecular parcialmente baixo baseados em ácido octanóico, ácido decanóico, ácido láurico, ácido mirístico e ácido palmítico (87% do total) (TILL *et al.*, 1982).

As gorduras podem penetrar nos plásticos, induzindo assim o inchaço ou podem lixiviar migrantes (geralmente substâncias lipofílicas) sendo seu teor, fator preponderante na migração de substâncias em alimentos (CRUZ *et al.*, 2008). O nível de migração em iso-octano sempre foi o mais alto em todas as temperaturas e tempos (BELDÍ *et al.*, 2012; KESSLER, 2015).

Não é somente o conteúdo de gordura que exerce influência na migração de antioxidantes da embalagem para o alimento, mas também, fatores como razão de gordura/água e a consistência do alimento possuem participação importante nesse processo (CRUZ *et al.*, 2008). A temperatura para qual o polietileno, simulante ou o alimento foram expostos, também influencia a migração, contribuindo para que o antioxidante migre para a superfície do polímero onde se difunde para a fase sólida de alimentos (SCHOWPE, 1987).

Dentre os simulantes utilizados nos estudos primários, o que favoreceu a maior taxa de migração dos antioxidantes foi o azeite de oliva, devido ao seu alto conteúdo de gordura (100%), o que pode ser observado nos resultados dos estudos E1, E4, E12, E14, E19, E22, E27, E35 e E37.

Ficou claro que existem vários fatores que podem explicar esses resultados elevados do azeite, como por exemplo: a) a espessura dos polímeros, sendo o valor de 2 mm representando a maior migração, mas é improvável que plásticos dessa espessura sejam utilizados comercialmente; b) o azeite de oliva pode dar maiores valores de migração do que a maioria dos alimentos gordurosos; c) alguns testes são realizados por técnicas de imersão total, ou seja, as bordas cortadas são expostas ao simulante, contribuindo significativamente para a migração observada nos estudos do parágrafo anterior, aumentando a área de superfície total, sendo possível também que a superfície de corte seja mais permeável à migração do simulante do que a face original, aumentando assim a migração (O'BRIEN, 1997).

O azeite de oliva é considerado o simulante oficial de alimentos gordurosos e, quando seu uso não for possível por razões práticas, os testes poderão ser realizados utilizando iso-octano ou etanol como meio de teste (FEIGENBAUM *et al.*, 2002). Entretanto, o teste de migração para o azeite não é apenas um tanto impreciso, mas também muito demorado e, portanto, caro. Migrantes específicos são frequentemente difíceis de medir em óleo com a sensibilidade necessária exigida pela legislação. Alguns migrantes também não são estáveis em simulante de óleo. De acordo com a Diretiva CE 97/48/CE (EC 1997) o etanol 95%, iso-octano e Tenax podem ser utilizados como matrizes alternativas, por exemplo, quando o azeite é tecnicamente inviável (STOFFERS, *et al.* 2004).

O E32 avaliou a migração de antioxidante para queijo, alimento rico em gordura e amplamente consumido. Oito camadas de queijo Gouda (cada uma com 2,5 mm de espessura) foram colocadas uma em cima da outra e em seguida, em contato com um filme de PEBD altamente aditivado. Os perfis de concentração de migrantes para os queijos foram estabelecidos em 5°C/30 dias e 25°C/20 dias para queijo macio (3 mm de espessura) e 5°C/20 dias e 25°C/10 dias para queijo Gouda. Até 8,1% de BHT foram detectados na última camada. Os resultados mostram que outros parâmetros, como as propriedades físicas dos alimentos, podem afetar muito o processo de difusão dos diferentes migrantes. O queijo de pasta mole tem uma consistência cremosa em contraste com a consistência sólida do queijo Gouda, isto pode explicar o fato de que o processo de difusão do BHT no queijo macio é 2,2 vezes mais rápido do que no queijo Gouda a 5°C, mas a 25°C é mais lento (CRUZ *et al.*, 2008).

A maioria dos estudos identificou claramente menor migração de antioxidantes, especialmente o Irganox 1076, em simulantes aquosos ácidos e não ácidos. Um exemplo foi o estudo E37 que, ao medir a migração de antioxidantes em PEBD, utilizando os simulantes, ácido acético 3%, água destilada e etanol 10%, nenhuma migração mensurável foi observada devido ao comportamento hidrofóbico de Irganox 1076.

Entretanto, o E7 menciona que apesar da relativa insolubilidade desses migrantes (BHT e Irganox 1076) na água altos níveis de migração foram observados devido ao seu esgotamento químico na fase aquosa. Alguns experimentos mostraram que a solubilidade do BHT no polímero e, na água aumentava com a temperatura, porém, a solubilidade do BHT em PEAD não aumenta tão rapidamente com a temperatura como a solubilidade do BHT em água. Portanto, embora esses antioxidantes sejam quase insolúveis em água, viu-se que uma extração completa pode ocorrer.

Destacamos alguns dados contraditórios como, por exemplo, a não migração em gordura e a migração em água ou simulante aquoso. O estudo E21 analisou a migração do BHT de PELBD (espessura 2 mm) para etanol 95% e azeite de oliva, sendo o antioxidante encontrado em nível traço somente. A espessura desse polietileno poderia explicar tal fato, uma vez que, como relatado por O'Brien (1997), essa espessura representaria o pior caso, ou seja, improvável que em amostras com essa espessura ocorresse migração; por outro lado, o azeite de oliva pode dar maiores valores de migração do que a maioria dos alimentos gordurosos, portanto foi atípico não encontrar ao menos um valor baixo de migração nesse simulante.

Outro dado contraditório foi a migração de antioxidante em água ou simulante aquoso, como por exemplo, nos estudos E9, E10, E11, E28, E30, E34 e E44. Todos apresentaram

valores de migração acima do LME dos antioxidantes estudados (BHT e Irganox 1076). O E9, que avaliou a migração de BHT para água do PEBD a 38°C, encontrou um valor de migração de 6,26 mg kg⁻¹, com 250 mg kg⁻¹ de quantidade adicionada no polímero. O LME do BHT é 3 mg kg⁻¹, portanto o valor migrado foi mais que o dobro.

O E6 também apresentou evidências de migração em água quando comparado ao ácido acético, onde as taxas de decomposição do BHT são muito menores em soluções ácidas, e esta pode ser a razão pela qual o BHT migrou menos para soluções de ácido acético 3% do que em água.

Além desse, outro estudo encontrou valores acima do LME, a saber, o E11. Este estudo avaliou os efeitos dos tipos de resina e antioxidantes na liberação de sabor estranho de garrafas de PEAD e promoveu uma correlação entre os dados sensoriais, e a técnica CG-EM. Aqui, os resultados indicaram que o antioxidante teve efeito na liberação de voláteis, contribuindo para o sabor estranho da água. No geral, as garrafas que não continham adição do BHT na resina liberaram menos substâncias voláteis do que a resina que tinha adição do antioxidante. Claramente o tipo de resina proporcionou um efeito significativo na liberação de voláteis, contribuindo com o sabor estranho das garrafas de PEAD. As diferenças entre as resinas podem ser devido aos diferentes processos de polimerização que podem aumentar a decomposição de hidroperóxidos para formar radicais livres (YAM *et al.*, 1996).

Por fim, os estudos E10, E28, E30 e E44, que avaliaram a migração de antioxidante em água ou simulante aquoso, também apresentaram migração, entretanto, os valores permaneceram abaixo do LME. Bom salientar que as determinações da migração para a água, teoricamente, podem apresentar erros consideráveis já que o método mede a quantidade migrada como um residual após evaporação total da água. Essa evaporação não só leva à perda de constituintes voláteis, mas também de outros (BANER *et al.*, 1992).

Também, a migração ocorre mesmo que o alimento possa ser do tipo 'seco' (por exemplo, arroz, leite em pó seco, mistura de sopa). Os resultados experimentais do E6 mostraram que o BHT migrou a uma taxa considerável e as diferenças foram particularmente notáveis no caso de alimentos do tipo sólido seco e, nos simulantes, as diferenças eram muito menores. O E39 testou a migração do BHT no simulante de alimentos secos – Poli (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno) (PPPO) (1g) – em PEBD, contendo 300 mg kg⁻¹ do antioxidante. Os experimentos de migração foram realizados em 60°C por 10 dias e posterior quantificação. Os dados obtidos mostraram que o BHT era bastante sensível ao simulante testado. O valor migrado foi 15,61 mg kg⁻¹ de PEBD, ou seja, 5,20% do valor de BHT adicionado no polímero. Considerando que o valor é de 3 mg kg⁻¹, ocorreu uma migração cinco vezes maior

que o LME.

Os estudos E38 e E42 avaliaram a migração em poli (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno) (Tenax). Esse tem sido utilizado como simulante para migração específica de alimentos secos, segundo o Regulamento da Comissão (UE) 10/2011. Ambos os estudos apresentaram valores de migração, porém abaixo do LME dos antioxidantes avaliados. O E42 encontrou BHT em todas as amostras de Tenax, sendo o valor médio migrado de $4,7 \times 10^{-5} \text{ mg kg}^{-1}$. A limitação desse estudo foi não ter especificado o tipo de polietileno avaliado. Já o E38 avaliou em PEBD e ao comparar a migração em arroz e em TENAX, a migração no simulante é mais veloz e apresenta resultados maiores que no arroz, sendo a temperatura um fator de grande impacto na migração com Tenax do que com arroz.

O equilíbrio do antioxidante (Irganox 1076) no Tenax a 70°C foi alcançado após 15 dias e a 40°C após 10 dias, diferente situação ocorreu no arroz, onde o antioxidante não atingiu o equilíbrio em qualquer temperatura durante o estudo. Esses comportamentos diferentes podem ser explicados, principalmente, por sua alta porosidade e capacidade de adsorção do Tenax. Lembrando que os resultados de migração obtidos no alimento devem prevalecer sobre resultados obtidos com simulante (REINAS *et al.*, 2012).

O uso de Tenax apresenta várias desvantagens, um exemplo seria o alto custo. Além disso, a eletricidade estática causada por fricção ou luvas de laboratório torna difícil o manuseio e apresenta impurezas, ou seja, uma etapa de limpeza antes do seu uso deve ser realizada. A migração para esse simulante é mais rápida e apresenta valores maiores do que no próprio alimento, portanto, os resultados podem ser superestimados quando ele é utilizado. Por esse motivo, o uso do Tenax, como simulante de alimento, pode levar a resultados falso positivos (RÚBIO *et al.*, 2019).

O E16 foi o único estudo que não mencionou o tipo de simulante utilizado, porém mostrou que mais de 95% de BHT foi perdido do filme em 36 h a 40°C, em 5 dias a 30°C e em 16 dias a 23°C. O BHT pode ser esgotado do filme em um curto período de tempo e, portanto, pode não ser eficaz durante a vida útil exigida do produto embalado.

Considerando a importância dos simulantes de alimentos, como também, das amostras reais, fica evidente a necessidade de adequação dos simulantes de alimentos, buscando a sua padronização, para que os resultados obtidos pelos estudos possam expressar, verdadeiramente, o comportamento dos antioxidantes, e, portanto, avaliar de forma precisa a segurança na sua utilização como aditivo de embalagem, sendo fundamental que a concentração de antioxidante nas amostras seja determinada experimentalmente antes dos testes de migração com a finalidade de correlacionar os valores realmente mensurados com o

existente nas amostras (MORAIS, 2018) como foi o caso do E12.

Uma vez tendo sido discutida a migração em simulantes de alimentos torna-se fundamental uma conversa sobre a migração nos alimentos, pois esses são os que refletem os resultados mais próximos da realidade prática, apesar de suas análises serem mais complexas.

Quando falamos do Irganox 1076, altos níveis de migração são geralmente detectados em alimentos com alto teor de gordura e baixo teor de água. O E37 avaliou a migração do Irganox 1076 do filme plástico em 20 matrizes alimentares diferentes e em momentos (tempos) e temperaturas diversos. Cada polímero foi fortificado com uma quantidade diferente do antioxidante, variando de 1 a 5 mg kg⁻¹. Em chocolate, mostrou maior valor de migração (8,48 mg kg⁻¹) a 40°C. O chocolate representa de um ponto de vista físico, uma suspensão altamente concentrada de componentes sólidos (partículas de açúcar e cacau, por exemplo) disperso em uma fase gordurosa de manteiga de cacau. Este alto valor migrado poderia estar relacionado, também, ao seu estado físico líquido a 40°C. O chocolate em barra e a 25°C, durante 20 dias, teve um alto nível de migração (4,092 mg kg⁻¹), provavelmente devido à alta concentração de óleos e emulsificantes na matriz alimentar, que ajudou no processo de migração.

Já em molho de queijo, apesar do teor de gordura de 19%, uma baixa migração inesperada foi observada. Também foi realizada a 90°C por um tempo máximo de exposição de 120 min, mas mesmo neste caso uma baixa migração foi observada.

O estado físico do alimento é um importante fator no processo de migração, sendo confirmado pela farinha de trigo. Esse alimento contém amido e proteína como componentes principais e lipídios apenas em menores proporções (menos de 1%), mas mesmo assim, alcançou significativo nível de migração, certamente, devido ao pequeno tamanho de partícula que faz com que tenha uma superfície de alto contato.

Quando aplicado o mesmo tempo e condições de temperatura, o nível máximo de migração atingido para cada alimento (chantilly, farinha de trigo, salmão, carne de porco, queijo, leite, peito de frango, maionese, margarina, chocolate e molho de queijo) foi, em todos os casos, inferior ao obtido com os simulantes de gordura (etanol 95% e iso-octano). Uma das explicações para tal fato diz respeito à característica física da própria gordura, na qual uma emulsão de gordura em uma matriz de água (como chantilly ou leite) resultou em uma menor afinidade ao Irganox 1076, ou uma emulsão onde a gordura e a fase contínua (como chocolate) resultou em maior afinidade.

A migração do antioxidante (PEBD) para maionese é muito menor quando comparado com as margarinas, embora contenham quase as mesmas quantidades de gordura, então, o

conteúdo de gordura da maionese é reconhecido como tendo uma atuação menor na migração, particularmente, devido aos menores valores absolutos de migração. Ademais, as diferenças absolutas entre margarina e maionese são menores no caso do PEAD (BIEBER *et al.*, 1985).

Os experimentos de migração ratificaram a importância das propriedades físico-químicas das matrizes alimentares, ou seja, a combinação de alta temperatura e alto teor de gordura ajudou muito a migração dos antioxidantes. Ela aumentou quando a temperatura foi elevada, e o conteúdo de gordura também revelou ser um parâmetro determinante para a migração. Para completar, os níveis de migração dos antioxidantes, em simulantes, foram maiores do que aqueles apresentados nos alimentos em todas as temperaturas avaliadas. Ao avaliar e sintetizar todos os estudos elegíveis, confirmamos que o uso de simulantes em estudos de migração fornece uma boa margem de segurança.

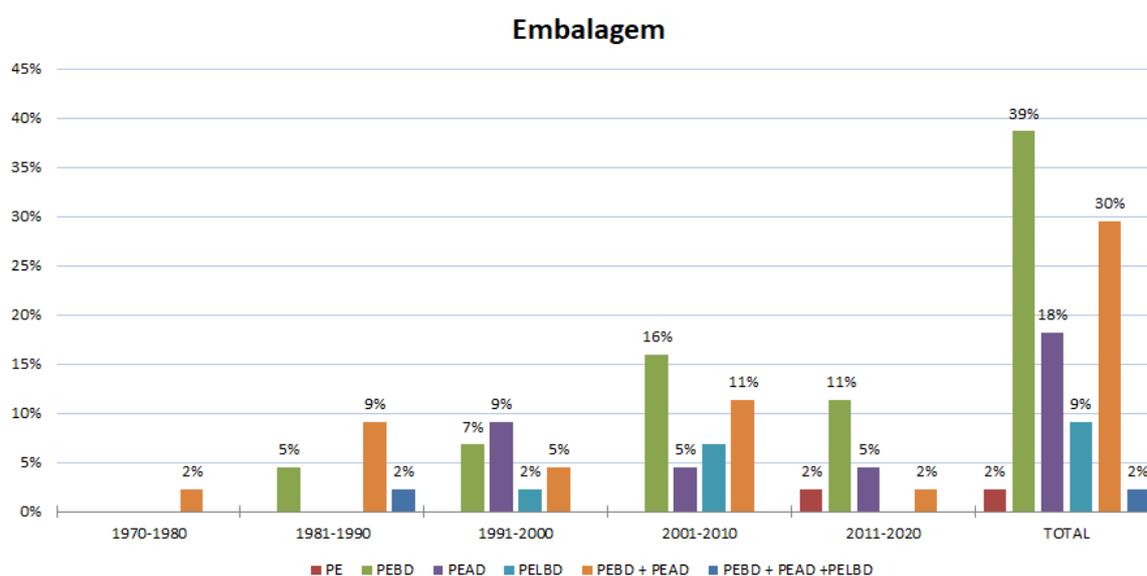
Uma ligeira dependência da transferência de antioxidante sobre o comprimento da cadeia dos triglicerídeos é evidente para as poliolefinas, ou seja, quantidades, ligeiramente, maiores de antioxidantes são transferidas para os triglicerídeos de comprimento de cadeia mais curta (BIEBER *et al.*, 1985).

Portanto, a partir dessas informações, concluímos que a transferência de componentes hidrofóbicos de baixo peso molecular de um material de embalagem de plástico para um alimento é governada pelas propriedades de liberação de gordura do alimento, ou em outras palavras, pela quantidade de gordura disponível na superfície do alimento. Então, para avaliar a possível migração de um material de embalagem para um alimento por meio de um teste de liberação de gordura, uma folha de teste adequada deve ser escolhida, sendo capaz de absorver as diferentes quantidades de gordura disponíveis na superfície dos alimentos. O PEBD apresenta essas “qualidades”, devido sua forte interação com alimentos gordurosos, mas a absorção de gordura pode depender do tipo de PEBD e talvez até mesmo das condições de fabricação e possivelmente também do dispositivo de teste. Além disso, o tipo de gordura, ou seja, o comprimento da cadeia dos triglicerídeos, claramente influencia a absorção de gordura pelas poliolefinas, resultando em uma absorção nitidamente maior das espécies de cadeia curta, enquanto a migração de componentes para fora das poliolefinas não é influenciada na mesma medida (BIEBER *et al.*, 1985).

4.4.3 Avaliação da migração por tipo de polímero.

A migração de antioxidantes foi avaliada em três tipos de polímeros, PEBD, PEAD e o PELBD, em 44 estudos, somente um (2%) não especificou o tipo de PE (E42); 39% foram PEBD, 30% analisaram o PEBD e o PEAD, 18% PEAD, 9% PELBD e 2% analisaram os três tipos PEBD, PEAD e PELBD. O Gráfico 2 mostra o percentual das embalagens de PE utilizadas pelos estudos desde 1970 a 2020.

Gráfico 2 - Percentual das embalagens de polietileno segundo os estudos elegíveis.



Legenda: PE - Polietileno; PEBD: Polietileno de Baixa Densidade; PEAD: Polietileno de Alta Densidade; PELBD: Polietileno Linear de Baixa Densidade.

Fonte: (próprio autor).

O E11 avaliou o efeito do tipo de resina quanto à migração do BHT, determinando a extensão da liberação de odor e sabor estranho do PEAD. O estudo sensorial mostrou que na resina sem adição de BHT acarretou em menos sabor estranho em comparação com a resina com adição de BHT. Também, resina contendo antioxidante natural (vitamina E) produziu menos sabor estranho em comparação com resina contendo BHT. Uma limitação do E11 é que apenas uma condição de processamento foi utilizada para todas as resinas avaliadas; todavia, é provável que cada resina requeira uma condição de processamento única.

No E33 houve diferentes perdas em filmes que continham 8 mg kg⁻¹ e 14 mg kg⁻¹ de BHT. Os resultados correspondentes ao queijo revelaram que as perdas de BHT das resinas

com 8 e 14 mg kg⁻¹, a 5°C em 3 dias, correspondeu a mais de 69 e 75%, respectivamente, enquanto em 20 dias, a perda foi bem maior, correspondendo a mais de 82 e 88%, respectivamente. Portanto, a migração foi maior quanto mais tempo houve de armazenamento e ambos os resultados de migração se mostraram acima do LME do BHT (3 mg kg⁻¹). Salienta-se que a maior parte do BHT migrado pode estar na superfície do queijo, onde o antioxidante é mais exigido devido aos efeitos da luz, entretanto o E33 não quantificou o BHT no queijo porque uma vez que o antioxidante chega ao produto, pode ser perdido por captura de radicais livres.

A maior parte do BHT foi difundida da camada de PEBD para o queijo durante os primeiros 20 dias de armazenamento a 5°C. Pensando no LME do BHT ao extrapolarmos os resultados para uma possível migração, podemos perceber que em nenhum caso a migração ficou abaixo desse limite, ou seja, após 3 dias a quantidade de BHT na resina sendo de 2,45 e 3,42 mg kg⁻¹, houve uma migração de 5,55 e 10,58 mg kg⁻¹, como também, em 20 dias com valores de 6,66 e 11,44 mg kg⁻¹ migrados (SOTO-CANTÚ *et al.*, 2008).

Os filmes de monocamada PEBD não são adequados para embalagem de queijo devido às suas altas taxas de transmissão de oxigênio (OTR) que aceleram as reações de oxidação. Nesse caso, os filmes multicamadas são os mais adequados e amplamente utilizados não só para embalagens de queijo, mas também para outros produtos alimentares de origem animal (SOTO-CANTÚ, *et al.* 2008).

Em se tratando de poliolefinas, PEBD é o material de embalagem de alimentos mais largamente empregado como um revestimento em recipientes para alimentos, especialmente nos produtos de panificação, leite, margarina, água e aves (SCHOWPE, *et al.* 1987; VERA, *et al.* 2019). O filme de PELBD é muito utilizado em situações onde flexibilidade e resistência do filme são necessárias (JEON, *et al.* 2007).

Os estudos que avaliaram somente o PELBD (E15, E21, E30 e E35) não encontraram valores de migração significante e acima do LME. Dos quatro, somente o E21 avaliou o BHT, os demais utilizaram o Irganox 1076.

O E21 determinou os efeitos da irradiação gama nos níveis de migração de Irganox 1076 em embalagem do PELBD. O filme contendo os simulantes de alimentos foi irradiado, simulando uma condição real de irradiação para alimentos pré-embalados. Via de regra, o tratamento por irradiação do filme de poliolefina alcança uma dose média geral de 10 kGy, no entanto, altas doses de irradiação gama de até 200 kGy foram utilizadas pelo E21. Após a irradiação viu-se que os resíduos de Irganox 1076 diminuíram conforme ia aumentando os níveis da irradiação (0 a 200 kGy). Os níveis de migração do Irganox 1076 para água

destilada, ácido acético e etanol diminuíram com o aumento da irradiação gama, respectivamente. Depois de migrar do PELBD para simulantes de alimentos, os compostos migrados se decompõem em uma série de produtos desconhecidos. Portanto, o alimento aquoso em contato com o PELBD ao ser irradiado, sofreu um decréscimo da quantidade de Irganox 1076 de pelo menos 34,9%.

As irradiações mais utilizadas em polímeros são os raios gama, sendo a mais penetrante de todas. Os fótons de raios gama de alta energia atravessam grandes espessuras, e podem causar prejuízos pela ionização das moléculas que estão em sua trajetória. O desfecho disso pode ser doenças da radiação e até mesmo o câncer, já que, as moléculas de proteínas e DNA podem ser danificadas e podem apresentar perda de função. O efeito da radiação sobre o polietileno tem um limite de 104 Gy (dose de radiação; limite para danos nas propriedades físicas). A irradiação pode ainda causar a formação de gases e conseqüentemente o inchaço da embalagem, sendo esse um dos principais problemas que podem ocorrer através do tratamento via radiação ionizante (ANDRADE, 2011).

O Gray (Gy) é uma unidade no Sistema Internacional de Unidades de dose absorvida, representando a quantidade de energia de radiação ionizante absorvida por unidade de massa, quer dizer, um joule de radiação absorvida por um quilograma de matéria (UNITED STATES NUCLEAR REGULATORY COMMISSION - USNRC, 2021).

Achamos fundamental uma avaliação do risco relacionado à exposição via embalagens aos antioxidantes. Estudos que foram conduzidos com irradiação da embalagem, por exemplo, mostram a existência de risco associado a esta técnica e o potencial risco associado ao dano no DNA. A irradiação gama é uma das mais utilizadas em polímeros e a mais penetrante de todas. Os fótons de raios gama de alta energia atravessam grandes espessuras, e podem causar prejuízos pela ionização das moléculas que estão em sua trajetória. Tal desfecho pode provocar a migração de antioxidantes para o alimento refletindo na quantidade a que é exposta ao indivíduo ao consumir o alimento (ANDRADE, 2011).

A maioria dos materiais para embalagem de alimentos que passam pelo tratamento de irradiação são os poliméricos, tendo em vista que os materiais confeccionados com vidros, papéis, papelões ou metais recebem, comumente, tratamentos convencionais (MOURA, 2006). Aumentando a dose da radiação ionizante, aumenta-se a migração, mas os estudos têm evidenciado tanto os prós como os contras deste método e que os prós acabam vencendo os contras (KILLORAN, 1979).

A literatura mostra que, dependendo do tipo de polímero e das condições de radiação (dose absorvida, temperatura), ocorrem algumas alterações na embalagem, tais como:

produção de radicais livres, hidroperóxidos, ácidos carboxílicos, descoloração, quebra das cadeias poliméricas e mudanças nas propriedades mecânicas do polímero. Os polietilenos de baixa densidade quando submetidos a doses de radiação entre 10 e 25 kGy, costumam apresentar formação de inúmeros elementos de oxidação como cetonas, aldeídos, álcool e ácido carboxílico. Via de regra, doses acima de 50 Kgy também levam à formação de gases como o hidrogênio (ROSA, 2008).

Dentre os artigos que avaliaram o potencial de migração de antioxidante em mais de um tipo de embalagem plástica, o estudo E7 foi o único a avaliar os três tipos principais de polietileno (PEBD, PEAD, PELBD) em água e verificou que após três meses apenas 40% do BHT foi extraído da resina, entretanto, 10% do BHT migrou em menos de um dia. Embora o BHT e Irganox 1076 sejam quase insolúveis em água, foi observado que uma extração completa pode ocorrer. Os artigos que avaliaram PEBD e PEAD e não encontraram valores de migração acima do LME, porém encontraram algum valor migrado foram os E3, E8, E24, E25, E26, E28 e E43. Porém, o E3 apesar de ter encontrado valor de migração abaixo de 6 mg (LME para Irganox 1076) obteve um valor bem próximo do limite, sendo de 5,82 mg kg⁻¹ em PEAD a 40°C em 10 dias.

O E3 também relatou maior migração do PEBD quando comparado com o PEAD para simulante de alimento gorduroso. Uma fragilidade desse estudo foi que em nenhuma parte é relatado a respeito da determinação, no material, de Irganox 1076 antes do teste de migração e depois do processo de formação do plástico. O ideal seria testar a quantidade do aditivo antes da prensagem e após a prensagem, anteriormente ao teste de migração.

Os estudos E1 e E27 avaliaram o PEAD (espessura 0,3 mm e 0,5 mm, respectivamente) e Irganox 1076, porém ambos não encontraram valores iguais de migração. No E1 não houve migração do antioxidante, já no E27 o valor migrado ultrapassou o LME em 62,26%. Ambos avaliaram a migração em azeite de oliva em temperaturas iguais (40°C) e, a diferença entre os dois estaria na espessura da resina, porém, foi na resina de menor espessura que não ocorreu a migração.

Os estudos E12 e E14 também avaliaram o PEAD em condições semelhantes - migração do Irganox 1076 em azeite de oliva a 40°C por 10 dias - ambos obtiveram o mesmo valor migrado, 6,2 mg kg⁻¹. Em temperatura de 121° por 2 horas os valores migrados foram 11,8 mg kg⁻¹ em ambos, como também, 58 mg kg⁻¹ e 55,9 mg kg⁻¹ em E12 e E14, respectivamente. A temperatura de 121°C foi utilizada a fim de simular as condições de uso de autoclave ou esterilização, sendo considerada adequada para esse polímero, cobrindo as condições de uso mais rigorosas. Entretanto, o E14 que trabalhou com uma resina de

espessura bem maior que o E1 (2 mm) apresentou um valor migrado acima do LME. A espessura da embalagem utilizada pelo E12 se assemelha a espessura da embalagem estudada pelo E27, obtendo valores migrados acima do LME do antioxidante avaliado.

Ao comparar esses com o E25 que também utilizou o PEAD, azeite de oliva e temperatura semelhante (100° por 2h), vimos que não houve migração do Irganox 1076 acima do LME. Assim como o E12, o E25 tinha uma quantidade muito boa de antioxidante na resina antes do teste de migração ser realizado (896 mg kg⁻¹) e a espessura dessa resina era bem significativa (1,043 mm) o que pode explicar o motivo da baixa migração (0,437 mg kg⁻¹).

Nos estudos E12 e E14 foi observado um aumento significativo no valor de migração, isso se deve provavelmente, devido ao tempo adicional de exposição permitido antes que a autoclave pudesse ser aberta com segurança. A estabilidade do antioxidante pode variar de acordo com a forma como a exposição é conduzida, especialmente com antioxidantes como o Irganox 1076, que são mais suscetíveis à oxidação. Não é tido como válido reparar essa perda, visto que o aditivo se difunde gradualmente no simulante no decorrer da exposição, à medida que nos experimentos de estabilidade o antioxidante é exposto ao simulante durante todo o tempo (COOPER et al., 1998).

Para essas amostras de poliolefinas (PEAD), os valores de migração específica obtidos com etanol a 95%, nas mesmas condições de exposição, deram boa concordância com os valores obtidos com o azeite. Isso está de acordo com as recomendações do FDA (FDA, 1995).

O alimento acondicionado na embalagem de PEBD apresentou maior concentração de antioxidante devido a sua migração da embalagem para a matriz alimentar, quando comparada aos alimentos acondicionados em embalagem de PE, PEAD e PELBD. Isso indica que as propriedades de cada polímero, como exemplo, densidade, viscosidade, solubilidade, degradabilidade, resistência mecânica, comportamento de inchaço e a distribuição de antioxidante na resina, 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 Fick² de difusão (BEGLEY et al, 2005).

O estudo E4 explicou melhor a questão da migração que ocorre no PEBD e PEAD, podendo estar atrelado às propriedades de liberação de gordura. A classificação da absorção de gordura pelos diversos tipos de poliolefinas é a mesma para a migração de antioxidantes - mais alta para o PEBD e distintamente mais baixa para o PEAD. A explicação para isso pode

² Lei de Fick: lei quantitativa em formato de equação diferencial que especifica inúmeros casos de difusão de matéria ou energia em um meio no qual não existe equilíbrio químico ou térmico, inicialmente.

estar na absorção de gordura pela folha de plástico ser tão lenta que isso determinaria a quantidade real de gordura absorvida dentro de um espaço de tempo limitado, embora diferentes quantidades de gordura sejam fornecidas por unidade de tempo pelos diferentes tipos de emulsão. Então, quantidades quase iguais de gordura são absorvidas dos diferentes tipos de emulsão por um determinado material plástico.

A utilização de materiais plásticos é fundamental para a indústria de alimentos em virtude dos seus benefícios para a conservação dos mesmos; porém a migração das substâncias químicas da embalagem para os alimentos pode levar a uma deterioração dos produtos alimentares, provocando assim sérios riscos à saúde das pessoas (IBARRA, *et al.* 2018).

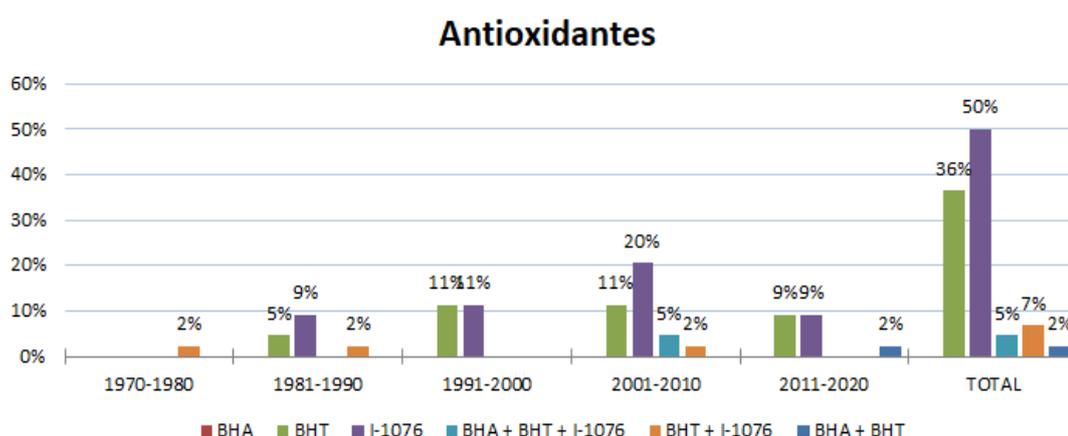
4.4.4 Avaliação da migração por tipo de antioxidante

Com relação aos antioxidantes adicionados nas embalagens, o que mais apareceu nos estudos foi o Irganox 1076, com uma diferença significativa do segundo colocado (14 pontos percentuais). Segundo Beldi e colaboradores (2012) o Irganox 1076 é normalmente utilizado como um modelo migrante, por ser um antioxidante típico em polímeros de embalagem de alimentos além de estável e, disponível como um material de referência certificado. Ele protege os materiais plásticos contra a degradação termo-oxidativa, possui baixa volatilidade e alta resistência à extração e não está presente nos alimentos naturalmente ou como aditivo alimentar.

Também, tanto o Irganox 1076 como o BHT foram os antioxidantes mais estudados, dentro de todo o período analisado (1970 a 2020), segundo os artigos elegíveis para o presente estudo. O BHA não apareceu sendo avaliado sozinho nos estudos, somente atrelado a outros antioxidantes, como foi com o Irganox 1076 e o BHT.

Ainda, ao longo do período houve uma pequena oscilação entre BHT e I-1076. Na década de 80 o Irganox 1076 foi o mais estudado; já na década de 90 houve um empate entre os dois antioxidantes (11% cada). Nos anos 2000, voltou a ser mais avaliado o Irganox 1076 e de 2001 a 2020 presenciamos novamente um empate (9% cada).

Gráfico 3 – Percentual dos antioxidantes encontrados nos estudos de migração distribuídos ao longo do tempo



Legenda: BHA: 2,3-terc-butil-4-hidroxianisol; BHT: 2,6-diterc-butil-p-cresol; I-1076: Irganox 1076 - 3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxifenil) propionato de octadecilo.

Fonte: (próprio autor).

O BHT é um dos antioxidantes mais comumente usados para proteger plásticos contra o processo de oxidação devido ao calor e exposição à luz; no entanto, também é usado em outras aplicações como aditivo alimentar, em cosméticos, produtos farmacêuticos e derivados do petróleo (IBARRA, *et al.* 2018). O BHT é um antioxidante lipossolúvel e sintético, muito utilizado na indústria de alimentos. O limite legal para a adição a maioria dos alimentos é de 200 mg kg⁻¹ de gordura; já em embalagem, costuma ser na ordem de 500 mg kg⁻¹. Durante o processamento do filme, parte do antioxidante é perdida por causa de sua capacidade de funcionar como um eliminador de radicais livres e, também, pode ser perdida para o meio ambiente por causa de sua alta volatilidade em temperaturas de processamento. Portanto, para garantir a extensão da vida de prateleira de alimentos suscetíveis à deterioração por oxidação, filmes de embalagem ativa devem ser formulados com uma maior concentração de antioxidantes do que os filmes de poliolefina comuns (SOTO-CANTÚ *et al.*, 2008).

O estudo E33 apresentou uma fragilidade por quantificar a migração somente no filme de PEBD e não no alimento. Por todos os dados já apresentados sobre o BHT é muito provável que tenha havido migração desse antioxidante para o alimento no estudo, entretanto, tal dado não foi averiguado. O estudo mostra claramente a migração de quantidade significativa do antioxidante, ao relatar o quantitativo restante de BHT no polímero, após o armazenamento a 5°C por até 100 dias (queda de 55,66% da concentração inicial de BHT na resina, após teste migração).

No Gráfico 3 não foi mostrado os demais antioxidantes propostos no presente estudo justamente porque os mesmos não apareceram em nenhum estudo elegível. Durante a busca dos artigos podemos perceber que grande parte dos antioxidantes abordados foram de fato os do gráfico 3. Em momentos que apareceram algum outro antioxidante abordado, como foi o caso do Resorcinol, por exemplo, não foi relatada nenhuma migração deste e, assim, não se encaixou para entrar como elegível no nosso estudo.

Portanto, ao passo que o antioxidante migra da embalagem aos poucos para o alimento, mantendo o mesmo conservado por mais tempo, confirma a importância da embalagem ativa para a indústria, já que a mesma incorpora os antioxidantes e mantém uma concentração constante do aditivo na comida ao longo do armazenamento, fazendo com que não seja necessária a inclusão de altos níveis de aditivos diretamente ao alimento. Essa função aparentemente benéfica dos antioxidantes em filmes para embalagens tem instigado inúmeras pesquisas para a fabricação de filmes com adição de antioxidantes e utilização em várias situações de embalagem de alimentos (SOTO-CANTÚ *et al.*, 2008).

O E7 se concentrou na migração de BHT e Irganox 1076 do PELBD para a água. Mesmo sabendo que esses antioxidantes são quase insolúveis em água, descobriu-se que uma migração completa pode ocorrer. A migração de Irganox 1076 foi considerada mais lenta do que a de BHT em condições semelhantes, pode-se atribuir a isso o fato do Irganox 1076 apresentar uma molécula bem maior do que a molécula do BHT, como também, uma difusividade muito menor e uma oxidação mais lenta em relação ao BHT. Além disso, a solubilidade do BHT no polímero e na água aumentava com a temperatura, ou seja, tudo levando para uma migração mais rápida e elevada do BHT em relação ao Irganox 1076 para a água. O E23, por exemplo, também mostrou que não houve migração de Irganox 1076 para água em PEBD, nem mesmo um valor mínimo, ou seja, o antioxidante não foi detectado. Este estudo relatou resultados semelhantes para BHA.

Na mesma linha, porém em PEAD, o E9 em seu estudo sensorial mostrou que a água armazenada em resina contendo vitamina E teve uma intensidade de odor inferior e uma maior aceitabilidade em relação ao gosto quando comparado com a água armazenada na resina contendo BHT, ou seja, a resina com antioxidante natural liberou menor quantidade de aldeídos e cetonas em comparação com a resina contendo antioxidante sintético. Então, quanto menor o peso molecular, mais volátil é o antioxidante e com isso mais odor para o líquido para o qual migrou.

Além disso, parece que o BHT migrou para soluções aquosas, se decompondo em seguida, em alguns produtos (desconhecidos), portanto, é instável na água. Conforme o nível de BHT na água aumenta, ocorre um equilíbrio de partição e a taxa de migração começa a diminuir, porém, não cessa, pois, simultaneamente, o BHT começa a se decompor. Ademais, as taxas de decomposição do BHT foram muito menores em soluções ácidas e esta pode ser a razão pela qual o BHT migrou menos para soluções de ácido acético 3% do que em água (GANDEK *et al.*, 1989; HO *et al.*, 1994).

O E18 também realizou uma comparação do BHT com um antioxidante natural (vitamina E - α -tocoferol), como o E9, porém com um alimento seco. O BHT do filme de PEBD foi esgotado muito mais rapidamente do que o conteúdo de α -tocoferol. Essa perda pode ter sido pela difusão do antioxidante para a superfície do filme e, como o BHT é uma molécula volátil, pode ter evaporado da superfície. Após a evaporação, é provável que o BHT tenha sido absorvido na farinha de aveia ou perdido para o meio ambiente. Infelizmente o artigo não cita a quantidade restante de BHT na aveia.

A aveia é um alimento rico em nutrientes e boa parte vem das gorduras e por isso há preocupação em relação ao ranço que pode ocorrer neste alimento. A oxidação é normalmente

considerada o principal fator no desenvolvimento de ranços de gorduras e óleos. Os processos oxidativos podem levar à condição de ranço, resultando em alimentos inaceitáveis para os consumidores. A taxa de oxidação de lipídios pode ser acelerada por muitos fatores, como alta temperatura e luz, por outro lado, é inibido pela baixa temperatura, exclusão de oxigênio e presença de antioxidantes. Esses são adicionados no processamento de alimentos com o intuito de atrasar ou prevenir a oxidação e, claro, são incorporados na fabricação de resinas, para estabilizar o polímero durante o processamento (WESSLING *et al.*, 2000).

O BHT, como sabemos, é conhecido por inibir os processos de oxidação em produtos alimentícios e polímeros, no entanto, devido a sua natureza migratória, é crescente o interesse no uso de α -tocoferol como um antioxidante alternativo para a estabilização de polímeros. Esta vitamina tem se mostrado mais eficaz em níveis mais baixos do que os necessários para antioxidantes como o BHT na redução do sabor residual, especialmente relacionados às resinas utilizadas para armazenar água (E18, E7, E9). A legislação preconiza e limita a migração não podendo exceder os 60 mg kg⁻¹, segundo a Diretiva 90/128/EC.

Em estudos que compararam o antioxidante natural ao sintético, viu-se que o BHT foi rapidamente perdido da resina, especialmente de PEBD em poucos dias de armazenamento em todas as temperaturas testadas, ou seja, seu tamanho pequeno, natureza volátil e migratória contribuem muito para essa situação (GANDEK *et al.*, 1989; HO *et al.*, 1994; WESSLING *et al.*, 2000).

Tanto o E32 quanto o E33 enfatizaram que as maiores taxas de migração ocorrem nas poliolefinas, especialmente nos filmes de PEBD e o BHT por ser um dos menores antioxidantes fenólicos, acaba tendo “passagem” facilitada da resina para o alimento ou simulante alimentar, especialmente os ricos em gordura.

Os estudos E13 e E41 avaliaram a migração para etanol 95% e viram que a quantidade relativa de BHT migrada do PEBD para o alimento simulante foi quase integral. O BHT migrou em menor proporção para o etanol 50%, tendo em vista que o antioxidante apresenta menor afinidade para esse simulante.

Em avaliação realizada em simulante de alimento gorduroso mostrou que em filme contendo BHT, houve uma diminuição rápida logo após entrar em contato com os dois simulantes. Após uma semana de armazenamento a 4°C, o nível de BHT no filme caiu abaixo do limite de detecção e a 20°C, a diminuição foi ainda mais rápida, sendo um dia de armazenamento o suficiente para reduzir o nível de BHT a zero para os filmes em contato com óleo de girassol e etanol, indicando, portanto, uma rápida migração do BHT do polímero (WESSLING, *et al.*, 1998).

Com relação ao Irganox 1076, a maior parte das amostras analisadas continham vários antioxidantes ao mesmo tempo, especialmente os de alto peso molecular, e o Irganox 1076 foi encontrado em quase 50% das amostras. Além disso, a maior parte dos estudos mencionou a importância da espessura do filme plástico e a concentração do antioxidante para a migração. Também, os resultados para este antioxidante são muito semelhantes aos resultados de BHT relatado pelos estudos já mencionados.

Também, um dos assuntos mais mencionados, para ambos os antioxidantes, está relacionado à gordura a que o antioxidante está exposto, sendo tal fato, associado à boa parte da migração que ocorre de embalagem para o material a qual o aditivo encontra-se em contato.

A migração do Irganox 1076 também se mostrou muito maior no azeite do que nos simulantes aquosos, em todos os processos, ou seja, foi muito mais solúvel no solvente hidrofóbico do que nos aquosos polares (MAURICIO-IGLESIAS *et al.*, 2010).

O E8 mostrou migrações semelhantes para dois simulantes aquosos (água e etanol 8%) a 135°C em PEAD e PEBD e, superior, mas comparável, para dois simulantes não aquosos (etanol 95% e óleo de milho). Para o simulante não aquoso, a migração foi mais rápida no PEBD e mais lenta no PEAD. O E43 também mostrou valores de migração mais altos para o simulante etanol 95%, sendo isso o esperado, pois esse antioxidante é mais solúvel em etanol do que em simuladores ácidos ou aquosos.

O E28 relatou a presença marcante do Irganox 1076 em diferentes embalagens comerciais e seus níveis de migração para os simulantes de alimentos permitidos por legislação, como a água destilada, acético ácido 3%, etanol 10% e azeite de oliva, sendo encontrado na maioria das amostras em geral (RDC nº 51, 2010).

O E25 encontrou valores migrados para o óleo de girassol, sendo que mais de 35% do Irganox 1076 foi transferido para o simulante. O óleo de girassol é uma escolha muito boa para um material de referência certificado, sendo muito relevante para testes de conformidade.

O E37, anteriormente mencionado, e que forneceu um conjunto exaustivo de dados de migração do Irganox 1076 em PEBD de várias matrizes alimentares e simulantes de alimentos. A água destilada, ácido acético 3% e etanol 10% foram excluídos após alguns testes preliminares que não mostraram nenhuma migração mensurável de Irganox 1076, devido ao comportamento hidrofóbico do antioxidante. Devido a isso, o azeite, iso-octano e etanol 95% foram utilizados como simulantes, conforme descrito pela Diretiva 82/711/CEE (Comissão Europeia, 1982) porque sua afinidade com o Irganox 1076 é muito maior, como já apontado pelos estudos mencionados na presente discussão.

Como os alimentos são matrizes complexas, protocolos diferentes (solvente, proporção de solvente para alimento, tempo de extração, modo de extração, temperatura de extração) foram adaptados para cada matriz alimentar. Matrizes com alto teor de gordura tinham uma concentração mais elevada, devido à dificuldade de extrair Irganox 1076 de alimentos gordurosos. Altos níveis de migração de Irganox 1076 foram geralmente detectados em alimentos com alto teor de gordura e baixo teor de água. O estado físico do alimento é um importante fator no processo de migração. Os resultados para etanol 95% e azeite de oliva mostraram nível de migração comparável em todas as temperaturas. O nível de migração de Irganox 1076 em iso-octano sempre foi o mais alto em todas as temperaturas e tempos. No caso dos alimentos, ao aplicar o mesmo tempo e condições de temperatura, o nível máximo de migração alcançado foi em todos os casos inferior aquele obtido com os simulantes correspondentes.

Considerando o comportamento lipofílico que Irganox 1076 mostrou durante os estudos, uma possível correlação entre o teor de gordura e o nível de migração foi investigada pelo E37. Um aspecto importante foi a característica física da própria gordura, seja uma emulsão de gordura em uma matriz de água (como chantilly ou leite), resultando em uma afinidade mais baixa com Irganox 1076, ou uma emulsão onde a gordura é a fase contínua (como chocolate) resultou em maior afinidade. Pasta de chocolate e queijo fundido exibiram alta migração muito acima da linha de tendência para outros alimentos no que diz respeito ao seu teor de gordura. A diferença entre margarina e maionese parecia aumentar ao passo que a temperatura aumentava.

O E37 confirmou a importância das propriedades físico-químicas das matrizes alimentares. A combinação de alta temperatura e alto teor de gordura aumentou a migração do Irganox 1076. A migração aumentou quando a temperatura foi elevada, portanto o conteúdo de gordura é um parâmetro determinante para a migração.

O E5 também trabalhou com diversas matrizes alimentares, porém fez uma comparação com alimentos de baixo teor calórico e de gordura, em condições normais de armazenamento e, na maioria dos casos, mostrou ser equivalente à migração para alimentos normais. A migração do antioxidante das poliolefinas para gordura de teste HB 307 é maior do que para os alimentos reais, exceto margarina e queijo duro em condições normais de armazenamento.

Também, as mudanças de temperatura têm influência dramática na migração de antioxidantes. Em 100°C, a migração de Irganox 1076, em etanol, a 8% foi maior em PEBD do que PEAD. Já a migração em etanol a 95% (100°C) chegou a 100% do conteúdo de

Irganox 1076 em PEBD e em torno de 70% do conteúdo de Irganox 1076 do PEAD. Em todas as temperaturas para o simulante aquoso, a maior migração foi do PEBD seguido do PEAD. Para o simulante não aquoso, a migração do PEAD é mínima. Na maioria dos casos, a maior parte do antioxidante foi perdida do PEBD após algumas horas (GOYDAN *et al.*, 1990).

4.4.5 Avaliação das técnicas utilizadas na análise de antioxidantes

O estudo da migração dos antioxidantes presentes nas embalagens de alimentos tem instigado o interesse de inúmeros setores a fim de evitar a ingestão diária desses aditivos através dos alimentos e, por consequência, a contaminação química. A migração é usualmente mensurada através de técnicas experimentais geralmente caras e trabalhosas, como por exemplo, a cromatografia gasosa, entre outras (ROSA, 2008).

Para analisar e determinar os antioxidantes, as técnicas analíticas aplicadas devem ser capazes de pelo menos detectar o antioxidante com alta seletividade e sensibilidade e, quantificar a concentração no simulante de alimentos ou nos alimentos reais com precisão. Atualmente, nenhuma técnica analítica única cumpre todas essas premissas, sendo essencial combinar várias estratégias de identificação de forma a possibilitar tanto a sua detecção química precisa e sua quantificação, como também, a determinação das suas características físicas (BANER *et al.*, 1992). Os métodos de teste para os materiais em contato com alimentos são, portanto, indispensáveis para determinar a concentração de aditivos nos alimentos (ou simulantes de alimentos) que migraram dos materiais em contato com os alimentos. Além disso, uma medição confiável vai depender mais do que simplesmente de possuir métodos analíticos validados para aferir concentrações químicas em alimentos (BRATINOVA *et al.*, 2009).

Os testes de migração podem ser divididos em duas fases: (1) a exposição de migração em si, isto é, o contato do material plástico com o simulante de alimentos e, (2) a quantificação dos migrantes através de análise química para migração específica e por análise gravimétrica para migração total. A primeira fase define a metodologia de migração, sendo que a principal fonte de erro consiste na escolha inicial e execução da exposição da migração (CE, 72/2002; STOFFERS *et al.*, 2004).

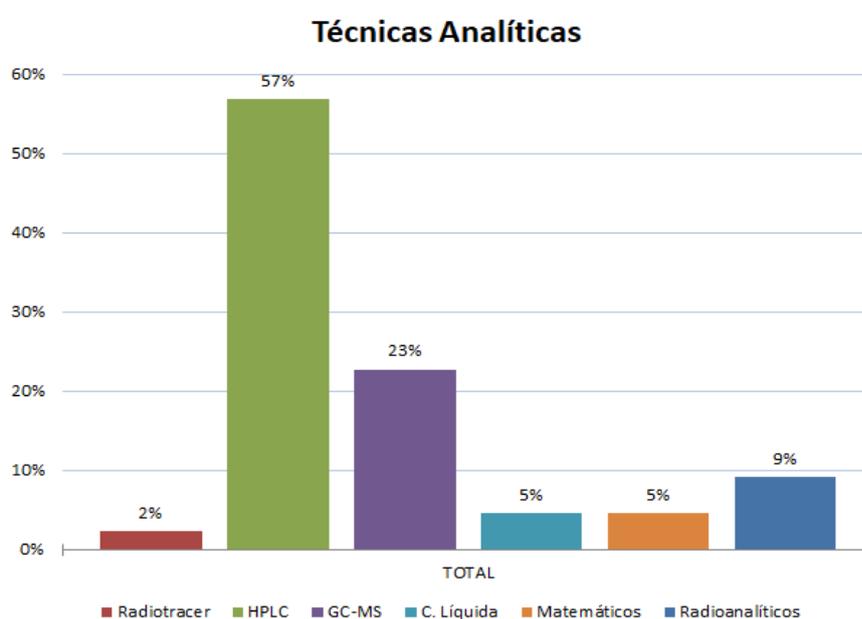
O máximo de informações possível deve ser obtido da embalagem, sendo isso, mais simples de ser realizado do que os testes de migração, propriamente ditos, assim duas informações são importantes - a identidade dos potenciais migrantes e as suas concentrações no plástico. Sabendo a identidade das substâncias que podem ser liberadas da resina, é possível tomar decisões a respeito da necessidade ou do tipo de teste a ser realizado (FEIGENBAUM, *et al.* 2002).

Os estudos avaliaram a migração de substâncias adicionadas intencionalmente aos materiais de polietileno por diferentes técnicas analíticas, o CG-EM, por exemplo, tem sido

utilizado para analisar compostos voláteis, incluindo antioxidantes fenólicos (BHA e BHT) (VERA *et al.*, 2019), sendo essa técnica a segunda mais encontrada nos estudos elegíveis.

As técnicas utilizadas pelos estudos para avaliar a migração dos antioxidantes do polietileno para o alimento ou simulante alimentar, podem ser visualizadas no Gráfico 4.

Gráfico 4 - Técnicas utilizadas pelos estudos a fim de analisar a migração de antioxidante em embalagens de polietileno



HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência; CG-EM: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas; C. Líquida: Cromatografia líquida.

Fonte: (próprio autor).

As duas técnicas que foram mais utilizadas pelos estudos que avaliaram a migração dos antioxidantes foram a HPLC/CLAE (57%) e a CG-EM (23%). Segundo Campos e Grinberg (2001), essas técnicas cromatográficas são as mais eficientes na separação dos antioxidantes, sendo então, amplamente utilizadas apesar da instrumentação sofisticada necessária.

Para a determinação e quantificação de aditivos, os estudos se apoiam em métodos analíticos amplamente empregados, como por exemplo, os métodos semi-quantitativos e quantitativos, como os métodos cromatográficos, tais como cromatografia em fase gasosa (CG) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Esses métodos são utilizados há mais

de um século em estudos físico-químicos para separação e quantificação dos antioxidantes sintéticos (TAKEMOTO *et al.*, 2009).

Os modelos matemáticos também foram muito utilizados a fim de estimar a migração. No total de estudos avaliados, 5% deles utilizaram modelos matemáticos na análise de antioxidantes Beldí e colaboradores (2012) mencionam que a migração é um processo que pode sim ser descrito matematicamente, desde que validado por dados científicos de apoio. Os modelos matemáticos permitem prever a concentração do migrante nos alimentos após o contato com o polímero, dessa forma, experimentos de migração caros e demorados podem ser evitados. O Regulamento (UE) N°10/2011 permitiu a possibilidade de usar esses modelos com base em evidências para verificar a conformidade das embalagens plásticas (IBARRA, *et al.* 2018).

Levando em consideração que os antioxidantes apresentam propensão a sofrerem deslocamento da embalagem para matriz alimentar, mostra-se essencial aplicar estratégias a fim de estimar o risco da exposição dos seres humanos. Uma saída para mensurar tal risco, à exposição aos antioxidantes, é através dos modelos matemáticos de exposição mencionados. Utilizando os resultados dos estudos de migração como uma entrada para um modelo de exposição, o risco atrelado ao antioxidante pode ser antecipado baseado no cenário em torno do seu uso (CUSHEN *et al.*, 2013).

O modelo matemático vem substituindo muitos ensaios de migração e um dos motivos é a otimização dos processos. Nesse modelo estão envolvidas diversas grandezas físicas e químicas, características dos meios materiais onde ocorrem as difusões ou substâncias migrantes. Para o seu andamento, o experimento real é simulado por cálculos computacionais, tornando-o mais rápido e barato (KESSLER, 2015). A utilização mais comum da simulação matemática para o sistema embalagem/alimento é a estimativa da concentração de migrantes para novos e desconhecidos sistemas, embasados na análise de sistemas conhecidos e análogos. O custo relativamente baixo desse processo e a possibilidade de auxiliar no design de embalagens mais eficientes e seguras se mostra uma excelente vantagem. Claro que os resultados dos modelos matemáticos se tornam seguros e confiáveis apenas após sua validação experimental. Assim sendo, a modelagem matemática funciona como uma ferramenta adicional aos ensaios experimentais (ROSA, 2008).

A utilização desses modelos matemáticos proporciona grandes vantagens tanto para a indústria de alimentos, como também, para os laboratórios responsáveis por testes de segurança alimentar, pois reduzem drasticamente a quantidade de testes de migração indispensáveis e, com isso, o tempo compreendido na análise, tal como os custos de solventes,

equipamentos e o número de técnicos qualificados necessários para executar a análise (CRUZ *et al.* 2008).

A cromatografia líquida apareceu, mas de forma tímida. Segundo Dopico-García e colaboradores (2003), este método se mostra uma técnica precisa e reproduzível para identificação e análise de quantificação de antioxidantes. Já os métodos radioanalíticos estavam presentes em 9% dos estudos. A detecção por ultravioleta (UV) também apareceu muito nos estudos, mas sempre associada ao HPLC e segundo Feigenbaum e colaboradores (2002), o UV provou ser um método muito conveniente para monitorar extrações, já que muitos migrantes possuem cromóforos que absorvem fortemente a luz ultravioleta, como é o caso dos antioxidantes.

Ainda que seja preconizada pela *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) e *European Food Safety Authority* (EFSA) a utilização de várias técnicas de caracterização combinadas para uma análise assertiva dos antioxidantes, dos 44 artigos que fizeram parte deste estudo, dez (22,72%) utilizaram somente uma técnica. O artigo E1 utilizou a técnica de radiotraçador, os artigos E3, E4, E5 utilizaram a radioanalítica, os estudos E14, E29, E34 e E36 o HPLC e os E9 e E15 a cromatografia gasosa (CG). Porém, nenhum método analítico sozinho é adequado para avaliar todos os migrantes em potencial. Uma única técnica analítica nunca pode fornecer todas as informações necessárias, geralmente utilizam-se dois métodos ou mais, pois a qualidade metodológica pode ficar comprometida e, conseqüentemente, a aplicabilidade dos resultados (FEIGENBAUM *et al.*, 2002).

O restante dos artigos (77,27%) utilizou de 2 a 4 técnicas para avaliar a migração dos antioxidantes, sendo que a maior parte dos estudos trabalhou com a combinação de HPLC, modelos matemáticos e detector UV. Além desses, também foram utilizados TLC (cromatografia em camada fina), SEC (Cromatografia por exclusão de tamanho), energia de micro-ondas, FLD (detecção de fluorescência), FTIR (espectroscopia no infravermelho) e a técnica radio-traçador, sendo essa última, uma ferramenta capaz de medir a gordura em polímeros, porém necessita de equipamento especial (BANER, 1992).

Um dos estudos utilizou a energia de micro-ondas para extrair os antioxidantes das poliolefinas. Segundo o guia para a seleção de condições e métodos de teste para a migração (2002) para os materiais e artigos destinados ao uso em forno de micro-ondas, o teste de migração pode ser realizado desde que sejam selecionadas as condições de tempo e temperatura apropriadas. O E28 seguiu, portanto, essa recomendação.

Outra questão importante está relacionada a realização do teste nas condições de contato, ou seja, os estudos precisam realizar o teste de migração nas piores condições previsíveis de uso do material, sendo assim, todos os estudos utilizaram os testes de forma a levar a resina ao seu limite, ou seja, em condições reais de uso as resinas não são usadas em condições tão extremas.

Algumas dificuldades analíticas podem ocorrer durante a medição dos antioxidantes, especialmente em relação à migração em óleo/gordura. Praticamente todos os métodos de medição fazem uso do mesmo princípio, ou seja, uma amostra de material com peso e área de superfície conhecidos, disposta em contato com o simulante de óleo ou gordura em condições padronizadas. Após essa exposição, a gordura é retirada da superfície do material e a amostra é novamente pesada. A quantidade de óleo/gordura absorvida pelo polímero é estipulada por um método químico e esta quantidade é subtraída da massa da segunda pesagem. Há nesses procedimentos duas fontes de erro implícitas, sendo um ocorrendo quando as pesagens do polímero não são realizadas em condições padrão, o que evidentemente é importante para polímeros polares que podem absorver ou perder água facilmente e dois, quando a quantidade de óleo/gordura absorvida não é exatamente medida o que pode acarretar em erros tão expressivos quanto a massa dos migrantes (BANER, 1992).

Portanto, é muito importante a utilização de um método analítico adequado para a determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos permitidos pela legislação brasileira. O ideal é que seja um método simples, reprodutível e rápido, permitindo assim que órgãos oficiais fiscalizem e garantam que os alimentos estejam dentro de padrões de qualidade aceitáveis para consumo (TAKEMOTO *et al.*, 2009).

A detecção de antioxidantes em meios complexos, como alimentos e simulantes de alimentos, pode ser muito complicada, sendo assim, para uma detecção inequívoca de materiais em matrizes complexas, a técnica analítica deve permitir uma clara distinção ou separação desses aditivos de outros componentes da matriz e este é um ponto fundamental para a confiabilidade dos estudos de migração (O'BRIEN; COOPER, 2002; BELDÍ *et al.*, 2012). O estudo que mais destacou isso em sua metodologia foi o E37, aplicando diferentes protocolos (solvente, proporção de solvente para alimento, tempo de extração, modo de extração, temperatura de extração) a fim de adaptar cada um para cada matriz alimentar.

4.4.6 Avaliação da metodologia utilizada na análise dos antioxidantes

Dos 44 estudos analisados, 21 (47,72%) utilizaram metodologias descritas em regulamentos oficiais, dos quais três (E39, E41 e E43) empregaram o Regulamento da União Europeia EU/10/2011 – que determina restrições à quantidade de substâncias que podem estar no produto final ou que podem ser transmitidas para os alimentos (migração) e estabelece normas para a execução de ensaios e a expressão dos resultados dos ensaios de migração.

O E39 ainda utilizou a ISO 2005 (13528), a qual fornece descrições detalhadas de métodos estatísticos sólidos, para que os dados obtidos sejam analisados a partir de esquemas de ensaios de proficiência. A ISO 13528 pode ser aplicada para demonstrar que os resultados de medição obtidos não exibem evidências de um nível inaceitável de distorção. Porém, foi constatado no E39 um erro na designação do LME do BHT como sendo 2 mg kg^{-1} em alimentos secos, quando na realidade seria 3 mg kg^{-1} .

Os estudos E25 e E35 utilizaram a Diretiva 2002/72/EC (EC, 2002) - relativo a materiais plásticos e artigos destinados a entrar em contato com alimentos; os estudos E14, E28 e E37 empregaram a Diretiva 82/711/EEC (EC, 1982) - estabelece regras básicas essenciais para testar a migração dos elementos advindos dos materiais e objetos de plástico reservados a entrar em contato com os alimentos; já o estudo E8 utilizou as designações do Centro de Segurança Alimentar e Nutrição Aplicada - que regulamenta os alimentos, suplementos dietéticos, cosméticos, medicamentos, produtos biológicos, dispositivos médicos e produtos radiológicos. Para quantificar um antioxidante (BHT), em óleo de girassol, o estudo E13 utilizou o método oficial IUPAC 2.432.

A Norma Técnica ASTM-D1928B - norma para preparação de folhas de teste de polietileno - foi contemplada no estudo E6. O estudo E33 utilizou a norma AOAC para avaliação de gordura em alimento sólido e o E23 a UNE-ENV13130/1999. O estudo E42 utilizou a Diretriz EUR 24105 EM que trata dos critérios de desempenho e procedimentos de validação de métodos analíticos usados em materiais de contato com alimentos; e as medições de migração foram realizadas seguindo as condições da Diretiva 97/48/CE, no E25, para alimentos gordurosos (simulantes). Por fim, 15 estudos (34,09%) referenciam a metodologia de outros estudos (E1, E2, E3, E4, E5, E10, E11, E15, E16, E19, E20, E22, E30, E31 e E32).

Os regulamentos oficiais, como por exemplo, o Regulamento da União Europeia EU/10/2011, descrevem que o método analítico utilizado para o ensaio de migração deve ser validado segundo as exigências do artigo 11 do Regulamento (EC) n° 882/2004 (EUROPEAN COMMISSION, 2004), sendo elas: aplicabilidade (matriz e gama de concentrações); limite de

detecção; limite de quantificação; linearidade; precisão; repetibilidade; reprodutibilidade; recuperação; seletividade e sensibilidade (MORAIS, 2018).

Todavia, nenhum artigo da presente RS fez alusão à resolução de todos esses parâmetros, porém todos realizaram validação de algum critério. Morais (2018) salienta ainda que a validação proporciona a confiança estatística no resultado alcançado a partir da técnica utilizada, atribuindo com isso, evidências científicas mais robustas. Portanto, é fundamental a validação dos protocolos de migração.

5 PESQUISA E IDENTIFICAÇÃO DOS ESTUDOS TOXICOLÓGICOS

O objetivo principal dos estudos toxicológicos é o prognóstico dos prováveis efeitos nocivos, que podem surgir na população humana ao ser exposta a certa substância, seja através da via oral, dérmica, inalatória, *etc.* (CAZARIN *et al.*, 2004). Posto isso, os estudos são fundamentais nos processos investigativos, a contar do desenvolvimento de produtos até mesmo o seu registro, sendo os modelos animais os mais utilizados para este propósito (STOKES, 2002; MEYER, 2003).

Os principais testes toxicológicos pré-clínicos usualmente exigidos com finalidade regulatória envolvem: toxicidade aguda, toxicidade subcrônica, toxicidade crônica, carcinogênese, toxicologia reprodutiva e teratogênese, toxicocinética, efeitos locais sobre a pele e olhos, sensibilização cutânea, *etc.* (DENNY; STEWART, 2017). A Tabela 21 mostra brevemente os principais tipos de estudos toxicológicos e suas características.

Tabela 21. Principais tipos de estudos toxicológicos e suas características, segundo o Guia nº 23 para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes da ANVISA, 2019a.

ADME	Análise das características toxicocinéticas da substância testada, fornecendo informações preliminares a respeito de mecanismos de toxicidade e contribuem para o desenho e a avaliação de estudos toxicológicos.
Genotoxicidade	Ensaio <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> designados a avaliar o potencial carcinogênico genotóxico da substância testada. Viabilizam dados que contribuem na identificação da necessidade de estudos de carcinogenicidade.
Toxicidade Aguda	Avaliam os efeitos adversos incitados por uma exposição de curto prazo à substância testada, permitindo informações preliminares a respeito do grau de toxicidade da substância e seus efeitos tóxicos específicos. Também determinam a dose máxima tolerada ou dose letal e colaboram para o desenho de estudos de toxicidade subcrônica.
Toxicidade Subcrônica	Identificam órgãos-alvo de toxicidade e o modo como são afetados, sendo utilizados para determinar o NOAEL para determinados desfechos toxicológicos. Apoiam no desenho de estudos de toxicidade crônica.
Toxicidade Crônica	Descrevem a toxicidade de uma substância após uma repetida e longa exposição, sendo utilizados para o estabelecimento do NOAEL. Precisam ser conduzidos, por pelo menos um ano, em roedores.
Carcinogenicidade	Analisam o efeito carcinogênico da substância testada. Os protocolos abrangem, no mínimo, ensaios de dois anos, em ratos, e de 18 meses, em camundongos. Esses estudos podem ser combinados com os de toxicidade crônica.
Toxicidade sobre a Reprodução	Avaliam os efeitos de substância no sistema reprodutivo de machos e fêmeas, na maturação pós-natal e na capacidade reprodutiva da prole. Abrange também estudos com multigerções para que seja fornecido informações a respeito dos seguintes desfechos: gametogênese, ciclo estral, comportamento de acasalamento, concepção, manutenção e duração da gestação, parto, tamanho da ninhada, morbidade neonatal, mortalidade, lactação, desmame, desenvolvimento da prole e órgãos-alvo na prole.
Toxicidade sobre o Desenvolvimento	Examinam os efeitos da exposição a uma substância do período de implantação através do período de organogênese. Realizados em duas espécies (uma roedora e outra não roedora) e avaliam os seguintes parâmetros: morte e reabsorção do embrião ou do feto, efeitos teratogênicos (malformações), retardo no crescimento ou atrasos específicos sobre o desenvolvimento e diminuição de capacidades funcionais pós-natal.
Estudos Específicos	Avaliam efeitos toxicológicos em determinadas situações e incluem estudos de neurotoxicidade, imunotoxicidade e alergenicidade. A necessidade destes deve ser definida, caso a caso.

NOAEL - Nenhum nível de efeito adverso observado.

Fonte: (ANVISA, 2019a)

A avaliação toxicológica precisa contemplar dados de ensaios *in vitro* e *in vivo* de genotoxicidade e de estudos de toxicidade subcrônica. Estudos toxicológicos adicionais podem ser essenciais em função dos resultados dos estudos iniciais e de outras informações específicas. Caso haja evidência de possíveis efeitos em longo prazo, torna-se necessário

apresentar estudos complementares englobando os critérios toxicológicos habituais a respeito da toxicidade crônica, carcinogenicidade, toxicidade acerca da reprodução e desenvolvimento e, porventura, neurotoxicidade, imunotoxicidade e alergenicidade. No caso de substâncias isoladas ou concentradas cujo metabolismo não seja conhecido são indispensáveis os dados farmacocinéticos obtidos a partir de estudos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) (ANVISA, 2012).

Os estudos toxicológicos são particularmente relevantes com finalidade de comprovação de segurança, visto que colaboram para a identificação dos potenciais efeitos adversos, na caracterização das condições de exposição para produzir tais efeitos, na avaliação da relação dose-resposta para os efeitos adversos, abrangendo a definição das doses que não produzem tais efeitos e a interpretação dos dados experimentais para fins de avaliação de risco, como por exemplo, as informações sobre o modo de ação e sua relevância para humanos e dados sobre metabolismo e toxicocinética, com a extrapolação dos resultados de animais para os humanos (ANVISA, 2012).

Os resultados dos estudos em humanos contribuem na avaliação dos dados obtidos em estudos com animais e na comprovação dos valores de segurança estabelecidos. O estudo em humanos deve levar em consideração alguns itens importantes, como a definição de doses, a duração da administração, o número e o sexo dos indivíduos e a representatividade da população exposta (idade, genética, condição fisiológica, alimentação, estilo de vida, *etc.*). Além disso, os relatórios dos ensaios clínicos precisam retratar, abertamente, os objetivos do estudo, os protocolos e a apresentação dos resultados (ANVISA, 2012).

Em complemento a isso, são indispensáveis, ainda, os dados toxicológicos da substância. A exigência de estudos toxicológicos está relacionada à quantidade de substância que pode vir a migrar para o produto alimentício e quanto maior a migração, mais severos e em maior número precisam acontecer os ensaios toxicológicos. Com a ciência dessas informações e a determinação das doses diárias aceitáveis (ADI) ou doses diárias toleráveis (TDI) são estabelecidos os limites de composição ou migração específica, além das restrições de uso (PADULA; ITO, 2006).

A busca por estudos toxicológicos que contemplassem os antioxidantes sintéticos propostos pelo presente trabalho foi realizada nas seguintes bases de dados eletrônicas: PubMed, Taylor & Francis online, Embase, SciELO, Cochrane Library e Google Scholar, resultando num total de 194 referências.

Na Tabela 22, são exibidos as bases de dados consultadas e o total de estudos identificados que examinaram a possível toxicidade dos antioxidantes.

Tabela 22 - Resultados da estratégia de busca dos estudos toxicológicos nas bases de dados selecionadas e o número de artigos identificados

Base de Dados	Estudos Encontrados	Estudos Excluídos ⁽¹⁾	Estudos Etapa 2 ⁽²⁾	Estudos Elegíveis ⁽³⁾
Pub Med	2	01	01	01
Taylor & Francis online	37	35	02	00
Embase	49	35	14	14
SciELO	0	0	0	0
Google	42	41	01	00
Cochrane Library	64	62	02	02
Total	194	174	20	17

(1) Etapa 1: Estudos descartados após leitura de título e resumo.

(2) Etapa 2: estudos selecionados para leitura na íntegra.

(3) Etapa 3: estudos finais.

A base de dados que prevaleceu na amostra, com o maior número de artigos encontrados foi a Cochrane Library (64), mas apesar de essa ter oferecido o maior número de estudos, não possuía os artigos elegíveis para o presente trabalho, como foi o caso da Embase que forneceu a maior parte dos estudos elegíveis (14), destoando das demais bases.

Após a exclusão dos estudos que não abordassem o nosso tema (174) seguiu-se para a etapa posterior, com a leitura na íntegra dos estudos contemplados (20), sendo imposto a esses, o Teste de Relevância II (Anexo B), prevalecendo ao final, os estudos que foram efetivamente utilizados no trabalho (17). Na Tabela 23 encontra-se o quantitativo de estudos excluídos juntamente com os respectivos motivos.

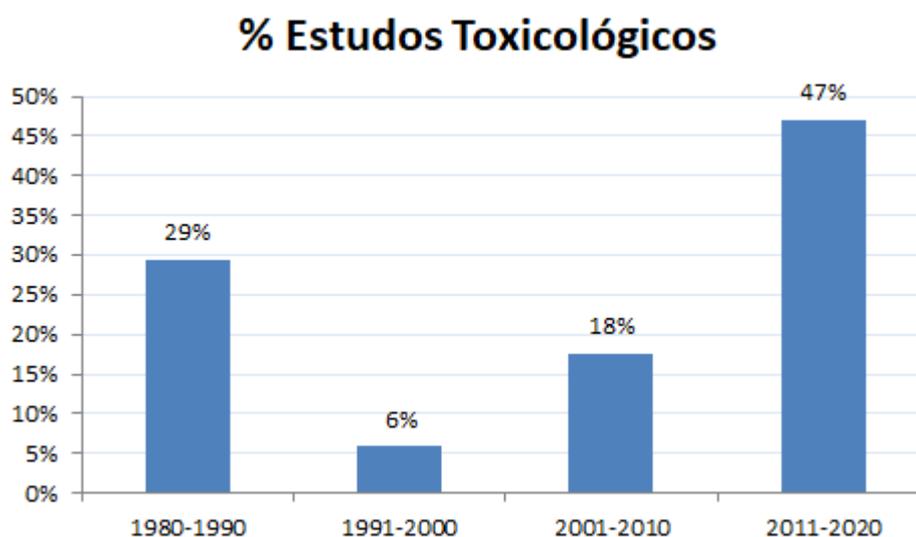
Tabela 23 - Motivos das exclusões dos estudos toxicológicos

Motivo da exclusão do estudo	Estudos
Não abordou antioxidante do estudo	49
Não abordou o tema pesquisado	126
Revisão que não contemplava o tema pesquisado	2
Total	177

Mais de 70% dos estudos excluídos não abordavam o tema pesquisado e consequentemente, não responderam ao segundo questionamento do estudo - “Quais as possíveis consequências provocadas, à saúde humana, pelos antioxidantes sintéticos que estão presentes nas embalagens de PE”.

O Gráfico 5 mostra a distribuição dos estudos toxicológicos, percentualmente, por década de publicação. Dos 17 estudos elegíveis analisados, 47% foram publicados no período de 2011 a 2020 e 6% na década de 90 e 29% na década de 80.

Gráfico 5 - Percentual dos estudos toxicológicos elegíveis por década



Fonte: (próprio autor).

Os estudos elegíveis da busca toxicológica (N=17) foram organizados e categorizados e os dados extraídos estão descritos no quadro abaixo (Tabela 24), segundo o anexo C1.

Tabela 24 - Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T1) - CASTELLI <i>et al.</i> , 1984
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA 5 mg; 30 mg - Doses orais no azeite de oliva
Condições do teste/Objetivo	Desenvolvimento de método analítico específico e sensível para medir o BHA no plasma e na urina humanos
Técnica	CG-EM
Meio de teste utilizado	Plasma humano; quatro voluntários saudáveis/sexo masculino/uma cápsula com 30 mg de BHA/azeite - 10 dias depois/cápsula com 5 mg de BHA
Comitê de ética	Não
Resultados	Dose de 30 mg de BHA foi rapidamente absorvida de modo que os níveis plasmáticos estavam altos entre 60 e 180 min após a administração. Os níveis então diminuíram e por volta de 720 min não eram mais detectáveis. As amostras de indivíduos que receberam 5 mg do composto mostraram um perfil de concentração de plasma semelhante. 20% da dose administrada foi excretada na urina como glucuronídeo de BHA nas primeiras 24 horas após o tratamento, apenas cerca de 0,03% sendo eliminado como BHA livre.
Evidência toxicológica	Não
Conclusão	Nenhuma diferença significativa foi encontrada nas porcentagens da substância excretada na urina após duas dosagens diferentes.

Tabela 24 - (Continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T2) - CONACHER <i>et al.</i> , 1986
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 0 mg, 125 mg, 250 mg, 500 mg e 1000 mg kg ⁻¹ . BHT – 0 mg, 25 mg, 50 mg e 100 mg kg ⁻¹ 250 mg kg ⁻¹ de BHA por 3, 12 e 15 meses. 125 mg, 250 mg kg ⁻¹ de BHA por 85 dias.
Condições do teste/Objetivo	Dieta rica BHA/BHT = 4 meses.
Técnica	CLAE/CG-EM
Meio de teste utilizado	Rato, macacos, Tecido adiposo humano.
Comitê de ética	Sim
Resultados	BHA na gordura Rato < 0,5 mg kg ⁻¹ BHA macacos < 0,5 mg kg ⁻¹ Ratos/BHA/BHT BHA < 30 BHT = 2,9 mg kg ⁻¹ e 7,8 mg kg ⁻¹ Tecido humano: 0,01 mg kg ⁻¹ ; 0,12 mg kg ⁻¹
Evidência toxicológica	Sim - camundongos/BHT; Valores >s LME
Conclusão	BHA + BHT/Ratos = BHA encontrado tecido adiposo em níveis 20x > do que quando o BHA foi utilizado sozinho Em dose equivalente, o BHT acumula cerca de 10 vezes o nível de BHA no tecido. Extrapolando os resultados dos dados do rato para humanos podemos prever níveis de tecido adiposo da ordem de 0,001 e 0,01 mg para BHA e BHT, respectivamente. Os níveis reais no tecido humano são aproximadamente 10x >, ou seja, em uma base de dose/peso corporal BHA/BHT se acumulam a uma concentração superior nos tecidos adiposos de humanos do que de ratos.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T3) - THOMPSON; TRUSH, 1988
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA - 0,2 mL/30g Camundongo BHT - 0,1 mL/30g Camundongo – 500 mg kg ⁻¹ (BHT)
Condições do teste/Objetivo	Óleo de milho como veículo.
Técnica	Medição peso pulmão após administração BHA/BHT. Injeção subcutânea (BHA) Injeção intraperitoneal (BHT)
Meio de teste utilizado	Camundongos machos CD-1 - 4-5 semanas de idade
Comitê de ética	Sim
Resultados	Toxicidade pulmonar: Pulmão normal = 150 mg
Evidência toxicológica	Edema pulmonar induzido pelo BHT Pulmão = 350 mg BHT causa morte hemorrágica em ratos e aumenta crescimento do tumor em tecidos de camundongos e ratos.
Conclusão	O BHA não parece proporcionar toxicidade pulmonar. As interações tóxicas entre BHA/BHT devem ser examinadas.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T4) - GOODMAN <i>et al.</i> , 1990
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA - 125 mg kg ⁻¹ BHT - 250 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Avaliação/dois pacientes/urticária crônica - a avaliação de rotina não revelou etiologia óbvia.
Técnica	Testes cutâneos e bioquímicos
Meio de teste utilizado	Humanos - Dois pacientes com urticária.
Comitê de ética	Sim
Resultados	Para ambos os pacientes, todas as reações positivas ocorreram entre 1 a 6 horas após as doses dos antioxidantes.
Evidência toxicológica	Sim - Ambos os pacientes tiveram exacerbações de sua urticária após ingestão de BHA/BHT
Conclusão	O paciente n° 1 teve uma resposta urticária rápida ao BHA. A aveia que o paciente n° 1 ingeria rotineiramente no café da manhã continha BHA e BHT. Ambos os pacientes começaram a receber dietas especificamente evitando BHA e BHT. Essas dietas resultaram em diminuição sustentada na frequência e gravidade da urticária para ambos os pacientes.
Periódico	(T5) - FERREIRA, 1990
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 0mg, 45mg, 90mg, 135 mg e 180 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Determinação da taxa de consumo de O ₂
Técnica	Conforme descrito por Floridi e Lehninger, 1983.
Meio de teste utilizado	Ratos Wistar machos - (180 a 230g)
Comitê de ética	Sim
Resultados	A adição de BHA diminuiu a taxa de consumo de O ₂ da mitocôndria
Evidência toxicológica	O local de ação do BHA, nas doses utilizadas, mostrou a sua atuação na cadeia respiratória.
Conclusão	O fluxo de elétrons através do complexo NADH-ubiquinona foi inibido pelo BHA.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T6) – BREKKE <i>et al.</i> , 1994
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA - 18 mg kg ⁻¹ BHT - 22 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Citotoxicidade induzida por TNF- α
Técnica	HPLC - Ensaio de liberação de cromo, conforme: Brekke <i>et al.</i> , 1992.
Meio de teste utilizado	Cultura de células
Comitê de ética	Não relatado
Resultados	O BHA, mas não o BHT, inibe a citotoxicidade induzida por TNF- α .
Evidência toxicológica	Sim, BHT
Conclusão	A utilização de BHA simultaneamente com TNF- α inibiu completamente a citotoxicidade. A morte celular diminuiu de 37% no controle para 21% quando o BHA foi adicionado.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T7) – JEONG <i>et al.</i> , 2005
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 0; 10; 100 e 500 mg/kg/dia - 2 semanas.
Condições do teste/Objetivo	Identificar e caracterizar os potenciais efeitos desreguladores endócrinos do BHA, particularmente na reprodução e no desenvolvimento de ratos expostos através das gerações F0 e F1.
Técnica	BHA + Óleo de milho via gavagem oral Observação de espermatozoides. Fêmeas: Acompanhadas período pré-reprodução, reprodução, gestação e lactação - após ninhada foi examinada quanto a sinais de toxicidade.
Meio de teste utilizado	Ratos Sprague – Dawley fêmeas e machos SPF - 7 semanas idade
Comitê de ética	Sim
Resultados	Fêmeas/machos: Maior peso fígado/glândula adrenal Menor peso filhotes e retardo crescimento até 13 semanas. Encurtamento distância ano genital. Velocidade esperma reduzida.
Evidência toxicológica	BHA induz efeitos deletérios no desenvolvimento comportamental do feto. Altas doses - (500 mg kg ⁻¹) - Aumentaram o colesterol sérico de ratas + diminuição de T4. Menor taxa de acasalamento e motilidade esperma mais lenta.
Conclusão	O BHA tem efeitos de desregulação endócrina alterando os níveis de hormônios séricos e o desenvolvimento e funções do sistema reprodutivo, incluindo o peso dos órgãos sexuais e a maturação sexual.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T8) – LABRADOR <i>et al.</i> , 2006
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 90 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Ensaio padrão de citotoxicidade foram conduzidos paralelamente à análise microscópica - identificar os diversos mecanismos celulares e alterações que ocorrem durante a exposição ao BHA.
Técnica	MTT modificado - Microscopia de fluorescência - (EU 2001/59/EC)
Meio de teste utilizado	Cultura de célula Vero
Comitê de ética	Não relatou
Resultados	A exposição de células Vero a concentrações crescentes de BHA resultou em uma redução significativa na viabilidade celular. Células Vero, expostas a concentrações ≥ 54 mg kg ⁻¹ de BHA mostraram características de apoptose.
Evidência toxicológica	Nenhum sinal distinto de toxicidade foi observado em concentrações de BHA < a 45 mg kg ⁻¹ . As células cultivadas com > concentrações de BHA apresentaram marcadas alterações morfológicas associadas à citotoxicidade - redução da densidade celular, encolhimento celular e intumescimento.
Conclusão	Altas doses de BHA induzem a apoptose celular.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T9) - MOON; PARK, 2011
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 9 mg, 18 mg, 36 mg e 54 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Efeito BHA nas células HELA HELA = tipo célula imortal utilizada em pesquisas científicas.
Técnica	Contagem de células exclusão de azul de tripano ou medição absorvância de corante brometo de difeniltetrazólio (MTT) de células vivas
Meio de teste utilizado	Células HELA de adenocarcinoma cervical humana
Comitê de ética	Não relatou
Resultados	O tratamento com BHA diminuiu o crescimento de maneira dependente da dose/tempo; Inibiu o crescimento das células HELA e induziu a apoptose; Preveniu apoptose induzida pelo estresse oxidativo em neurônios; diminuiu os níveis de ROS
Evidência toxicológica	Não
Conclusão	Inibiu crescimento de células HELA via apoptose.
Periódico	(T10) - ANSAR; IQBAL, 2014
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 1 e 2 mg kg ⁻¹ Animal/dia; Via oral/7 dias BHA em 0,2 mL de óleo de milho
Condições do teste/Objetivo	Avaliação da atividade hepatoprotetora do BHA. Através das transaminases séricas: ALT, AST e LDH.
Técnica	Reitman; Frankel, 1957. Dose 9 mg kg ⁻¹ (única) nitrilatriacetato férrico (Fe-NTA) após tratamento de 1 semana c/ BHA
Meio de teste utilizado	Ratos albinos machos - (cepa Wistar) - 4-6 semanas/idade Peso = 125 a 150 g
Comitê de ética	Sim
Resultados	Diminuição significativa nos níveis transaminases séricas em animais pré-tratados com BHA. Tem demonstrado ser agente quimiopreventivo bem-sucedido
Evidência toxicológica	Não
Conclusão	O BHA pode oferecer proteção contra danos mediados por Fe-NTA em ratos.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T11) - ANSAR; IQBAL, 2016
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 1 e 2 mg kg ⁻¹ - Animal/dia BHA em 0,2 mL de óleo de milho.
Condições do teste/Objetivo	Estudar efeito protetor do BHA sobre a nefrotoxicidade induzida por Fe-NTA.
Técnica	Mohandas <i>et al.</i> , 1984. Dose 9 mg kg ⁻¹ (única) Fe-NTA após tratamento de 1 semana c/ BHA
Meio de teste utilizado	Ratos albinos machos - (cepa Wistar) - 4-6 semanas – 125 g-150 g
Comitê de ética	Sim
Resultados	Ambas as doses de BHA mostraram recuperação significativa nos níveis das moléculas enzimáticas e não enzimáticas nos animais pré-tratados com BHA. O BHA recuperou 87-96% das atividades enzimáticas do grupo tratado com Fe-NTA.
Evidência toxicológica	Não - Foi demonstrada a ação protetora do BHA nos rins causada por um conhecido carcinógeno renal Fe-NTA.
Conclusão	O BHA pode ser um agente quimiopreventivo eficaz e oferecer proteção contra danos renais mediados por Fe-NTA em ratos.
Periódico	(T12) - PATEIS <i>et al.</i> , 2018
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 9 mg, 18 mg, 36 mg, 90 mg e 135 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Efeitos do BHA no metabolismo hepático com ênfase em parâmetros ligados ao metabolismo energético e produção de espécies reativas de oxigênio mitocondrial.
Técnica	Erel, 2004 Soares <i>et al.</i> , 2009.
Meio de teste utilizado	Ratos machos (Wistar) - 220-240g
Comitê de ética	Sim
Resultados	A captação de oxigênio tendeu a diminuir em altas concentrações de BHA; A produção de lactato e de glicose aumentaram nas concentrações de BHA de 90 e 135 mg kg ⁻¹ ; A inibição da captação de oxigênio foi significativa nas concentrações de 90/135 mg kg ⁻¹ de BHA.
Evidência toxicológica	Sim
Conclusão	A concentração de BHA na veia porta é maior do que na circulação sistêmica; Efeitos atribuídos ao BHA vão desde modificações do metabolismo até ações tóxicas e apoptóticas.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T13) - PINO; BILLACK, 2008
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 0mg, 13 mg, 14 mg e 18 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	A capacidade do BHA de reduzir a toxicidade do 2-cloro-N-(2-cloroetil) -N-etilmetano-1-amina (HN2) e do sulfeto de 2-cloroetiletil (CEES) foi investigada usando células da pele A-431.
Técnica	Mosmann, 1983
Meio de teste utilizado	Células de carcinoma epidermóide humano A-31
Comitê de ética	Não relatou
Resultados	Parece que o BHA protege as células da pele tanto do dano lipídico quanto do dano ao DNA induzido pelo HN2.
Evidência toxicológica	Sim - Concentrações de BHA acima de 18 mg kg ⁻¹ são moderadamente tóxicas para as células da pele
Conclusão	As células da pele podem ser protegidas da toxicidade do HN2 pelo BHA; essa proteção não é observada em concentrações de HN2 acima de 4 mg kg ⁻¹ ; O tipo de proteção proporcionado pelo BHA é transitório e não completo a uma concentração de BHA de 18 mg kg ⁻¹ . BHA não protegeu as células da toxicidade do CEES em nenhuma das concentrações testadas.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T14) - DASSARMA <i>et al.</i> , 2018
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA - 0,5 mg kg ⁻¹ BHT - 0,8 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Estabelecer medidas hepatoprotetoras de BHA/BHT quando misturados com alimentos para intoxicação por tetracloreto de carbono (CCl ₄) (230 mg/kg b wt/rato/dia) em ratos.
Técnica	Avaliar marcadores bioquímicos de hepatotoxicidade AST, ALT, ALP, LDH, bilirrubina, concentração proteína total. McDonald <i>et al.</i> , 1986
Meio de teste utilizado	Ratos albinos machos - (Wister) - Peso = 100 ± 15g
Comitê de ética	Sim
Resultados	O pré-tratamento com BHA/BHT recuperou significativamente o nível de enzimas séricas – AST, ALT, ALP, LDH.
Evidência toxicológica	Não - A suplementação com BHA/BHT em animais experimentais mostrou um efeito de redução nos níveis de MDA. A suplementação com os antioxidantes minimizou a toxicidade dos tecidos
Conclusão	O estudo indicou que a suplementação de BHA/BHT melhorou as alterações degenerativas devido à toxicidade hepática induzida por CCL ₄ . A ingestão alimentar desses antioxidantes com formulações alimentares pode ser benéfica para pacientes com disfunção hepática. O estudo também aponta os antioxidantes naturais (vitaminas C e E) como ótimos agentes hepatoprotetor.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T15) - PARK <i>et al.</i> , 2019
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 18 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Avaliação <i>in vivo</i> do efeito neurotóxico do BHA em embriões de peixe-zebra. Investigação dos efeitos anti-crescimento do BHA por meio da interrupção do ciclo celular e da regulação negativa da expressão de proteínas regulatórias.
Técnica	Ensaio ELISA (imunoenzimático de proliferação celular) Microscopia de imunofluorescência
Meio de teste utilizado	Peixe zebra tipo selvagem (<i>Danio rerio</i>) e peixe zebra transgênico olig2:dsRed. e astrócitos humanos normais.
Comitê de ética	Sim
Resultados	BHA inibe a proliferação e induz a apoptose das células NHA-SV40LT por meio do desequilíbrio do cálcio citosólico por meio do estresse do retículo endoplasmático (RE).
Evidência toxicológica	Sim - O BHA exerceu cardiotoxicidade em concentrações de 4-18 mg kg ⁻¹ ; Anormalidades no desenvolvimento de órgãos após tratamento com 9 mg kg ⁻¹ BHA; 100% de anormalidades foram observadas após tratamento c/ 18 mg kg ⁻¹ .
Conclusão	O estudo fornece evidências claras dos potenciais efeitos citotóxicos do BHA em astrócitos humanos, que levam à interrupção do desenvolvimento do cérebro e dos nervos. Mesmo que a concentração de 18 mg kg ⁻¹ de BHA seja ligeiramente superior à concentração de exposição diária, esses resultados implicam que a superexposição ao BHA pode induzir efeitos neurotóxicos.

Tabela 24 - (continuação) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T16) - HAM <i>et al.</i> , 2020
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA – 18 mg
Condições do teste/Objetivo	Investigação da disfunção reprodutiva masculina induzida por BHA em células de Leydig (TM3) e Sertoli (TM4) de camundongo.
Técnica	Lim <i>et al.</i> , 2018. Microscopia de imunofluorescência.
Meio de teste utilizado	TM3 (células de Leydig de camundongo imaturas) e TM4 (células de Sertoli de camundongo imaturas)
Comitê de ética	Não menciona
Resultados	BHA suprime a viabilidade celular e induz a parada do ciclo celular em células testiculares de camundongo; BHA interrompe a homeostase do cálcio e induz o estresse de RE em células de testículo de camundongos machos.
Evidência toxicológica	Sim - BHA induz a apoptose mitocondrial em células TM3 e TM4 ao interromper a homeostase do cálcio no citoplasma e na mitocôndria. O tratamento com BHA desregula a homeostase do cálcio nas células TM3 e TM4 por meio de diferentes vias.
Conclusão	BHA poderia exibir efeitos + tóxicos em humanos porque a combinação de BHA e propilparabeno atua como um pró-oxidante. O co-tratamento com BHT/BHA levou a um > acúmulo no tecido adiposo em comparação ao tratamento individual com BHA, sugerindo interações entre os antioxidantes fenólicos; são necessários mais estudos sobre os efeitos dos SPAs na infertilidade masculina.

Tabela 24 - (conclusão) Síntese dos estudos elegíveis da busca por estudos toxicológicos

Periódico	(T17) - BARAN <i>et al.</i> , 2020
Embalagem?	Não
Antioxidante	BHA - 0,5 mg, 1 mg, 5 mg, 7,5 mg e 10 mg kg ⁻¹ Terc-butil-hidroquinona (TBHQ) - 0,5 mg, 2,5 mg, 3,75 mg e 5 mg kg ⁻¹
Condições do teste/Objetivo	Toxicidade causada pelo BHA a nível molecular em embriões. Taxa de sobrevivência; Taxa de eclosão; Malformações; potencial para produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e acúmulo de sinalização de apoptose em todo o corpo.
Técnica	Normas de Ética Institucional aprovadas da Universidade Ataturk. Embriões de peixe zebra monitorados por 24, 48, 72 e 96 h.
Meio de teste utilizado	AB cepa de peixe-zebra (<i>Danio Rerio</i>)
Comitê de ética	Sim
Resultados	Aumento significativo na morte celular global (dose-dependente). Tecidos cerebrais (peixe-zebra) expostos a BHA nas doses 1, 5, 7,5 e 10 mg levaram a níveis mínimos, leves, moderados e graves de degeneração e necrose; A gravidade das alterações foi maior com 10 mg.
Evidência toxicológica	Sim - A taxa de sobrevivência e de incubação de embriões e larvas diminuiu ligeiramente; O BHA interfere mais na eclosão que seu metabólito; Aumento significativo nas malformações foram encontrados nos grupos expostos a BHA 7,5 e 10 mg; BHA causa malformações mais precocemente que TBHQ.
Conclusão	BHA entra no processo biológico diretamente através do consumo de produtos alimentícios e diversos medicamentos, deixando efeitos negativos na saúde humana em altas doses; O BHA e/ou TBHQ provavelmente irão desencadear a indução da formação de ROS e, induzir a apoptose; O uso de BHA deve ser bem controlado em todos os campos, especialmente nas indústrias de alimentos.

BHA: 2,3-terc-butil-4-hidroxianisol. BHT: 2,6-diterc-butil-p-cresol. CG-EM: Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. CLAE/HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência. NADH: atividade redutase de duroquinona. TNF- α : Fator de necrose tumoral alfa. T4: Tiroxina. MTT: Brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazólio. ROS: Espécies reativas de oxigênio. ALT: alanina transaminase. AST: aspartato transaminase. LDH: lactato desidrogenase. MDA: malonaldeído. NHA-SV40LT: astrócito humano normal. HeLa: Células cancerosas cervicais HeLa.

Nenhum dos estudos toxicológicos abordou qualquer tipo de embalagem, aliás, não se encontrou durante a busca estudos que contemplassem toxicidade ao mesmo tempo em que tratassem de embalagem plástica e migração de antioxidantes. Entretanto, os achados versavam diretamente sobre antioxidantes e sua possível toxicidade, utilizando espécies não humanas, humanos e cultura de células humanas. Por isso, a busca um e dois foram relacionadas entre si e seus resultados discutidos, para que pudéssemos alcançar uma conclusão a respeito dos antioxidantes mencionados ao longo da pesquisa.

Todos os estudos elegíveis (17) avaliaram BHA e seis analisaram o BHT. Além disso, alguns estudos defendiam o uso do antioxidante avaliado como sendo benéfico para algumas situações, entretanto, isso diferiu da maioria.

Dez estudos relataram evidências toxicológicas, são eles: T2, T3, T4, T5, T7, T8, T12, T15, T16 e T17, e sete concluíram que a utilização do antioxidante avaliado seria benéfica (T1, T6, T9, T10, T11, T13 e T14). No T9, por exemplo, os autores investigaram os efeitos do BHA na inibição do crescimento e morte de células de câncer cervical HeLa, e concluíram que o tratamento com esse antioxidante diminuiu o crescimento celular via apoptose de maneira dependente da dose e do tempo.

A célula HeLa é uma “célula imortal” utilizada em pesquisas científicas. Essa linhagem descende a partir de células obtidas de um câncer cervical de Henrietta Lacks (1951), uma mulher norte-americana, doadora involuntária de células cancerosas, mantidas em cultura e criando assim, a primeira linhagem celular imortal da história. Foi descoberto que a linhagem celular era extremamente durável e prolífica, mostrada pela contaminação de inúmeras outras linhas celulares utilizadas na investigação (PASQUALINI, 2004; VÁSQUEZ, 2014).

Os estudos T10, T11 e T14 foram elaborados com o intuito de avaliar o potencial hepatoprotetor e sobre a nefrotoxicidade induzida por Fe-NTA em ratos. Concluíram que além do BHA poder oferecer proteção contra os danos mediados por Fe-NTA, poderia ser um agente quimiopreventivo eficaz e oferecer proteção contra danos renais mediados por Fe-NTA, como também, a suplementação de BHA e BHT melhoraria as alterações degenerativas, devido à toxicidade hepática, sendo sua ingestão benéfica para pacientes com disfunção hepática, havendo uma ressalva por parte do T11 a respeito da dosagem, uma vez que essa deveria ser levada em consideração.

O T13 avaliou se o BHA poderia proteger as células da pele contra a toxicidade vesicantes. Segundo Roberto (2014) os agentes vesicantes são substâncias químicas que ao entrar em contato com a pele, mucosas ou outras regiões do corpo, podem produzir irritação,

ulceração e fortes queimaduras, podendo provocar destruição dos tecidos. Com isso, há bastante tempo, foi descoberto que muitos agentes protegem as células de lesões ou morte celular e, os antioxidantes além de proteger as células contra os danos dos radicais livres, poderiam proteger contra os agentes vesicantes (PINO; BILLACK, 2018).

O estudo de Pino e Black (2018) utilizou dois substitutos do gás mostarda - HN2 e CEES - para imitar os efeitos tóxicos desse gás em células cutâneas cultivadas. Observou-se que os efeitos protetores do antioxidante BHA manifestados em células cutâneas A-431, tratadas com HN2 ou CEES, pode proporcionar a base para o desenvolvimento de terapêuticas eficazes para paralisar a lesão celular induzida por vesicante. Tal fato pode ocorrer porque o grupo fenol do BHA doa seu átomo de hidrogênio e bloqueia a formação de radicais hidroperóxidos lipídicos, semelhante ao que ocorre quando esse antioxidante é acrescentado às gorduras (alimentos).

Entretanto, a grande maioria dos estudos com os antioxidantes mencionados, não chegaram a essa mesma conclusão, não aconselhando, portanto, o uso do BHA para fins alimentares (PINO; BLACK, 2018; PARK *et al.*, 2019; BARAN *et al.*, 2020).

Os antioxidantes BHA e BHT são amplamente utilizados em alimentos para consumo humano e pesquisas realizadas em ratos e humanos sugerem retenção de BHT no tecido adiposo de ambas as espécies, porém, em relação ao BHA observações mostraram que este não se acumula em nenhuma extensão apreciável do tecido adiposo, quando fornecido a ratos ou macacos por longos períodos de tempo em níveis elevados. Entretanto, quando combinado ao BHT, o BHA foi encontrado no tecido adiposo em níveis 20 vezes maiores do que quando o BHA foi ofertado sozinho. Em uma base de dose equivalente, o BHT se acumula cerca de 10 vezes o nível de BHA no tecido (CONACHER *et al.*, 1986).

Outro efeito tóxico mais bem caracterizado do BHT é o dano aos pneumócitos do tipo 1 no pulmão do camundongo, sendo sua completa destruição das células do tipo I em 2 e 3 dias após a administração do antioxidante. Baixa dose do BHT leva a um dano pulmonar reversível, porém em doses mais elevadas é depositado um excesso de colágeno, caracterizando uma fibrose pulmonar moderada. O BHA também pode aumentar a toxicidade do BHT no pulmão de camundongo (THOMPSON; TRUSH, 1988), portanto essa interação tem uma significativa relevância toxicológica, uma vez que, podem ser encontrados nas mesmas embalagens de alimentos.

O estudo T3 afirma que o BHT sozinho não proporcionou efeito no peso do pulmão até uma dose de 175 mg kg⁻¹, porém doses mais altas (500 mg kg⁻¹) ocasionaram em aumento no peso do pulmão, refletindo em um aumento significativo na razão pulmão/peso corporal.

Por outro lado, injeções subcutâneas (até 500 mg kg⁻¹) de BHA sozinho não acarretaram efeito sobre o peso do pulmão. O estudo administrou BHA por injeção subcutânea e isso produziu quantidade maior de toxicidade em comparação ao administrado por injeção intraperitoneal. Ocorre que uma porção maior de uma dose de BHA intraperitoneal iria diretamente para o fígado, onde o BHA passaria por reações de desintoxicação, resultando em uma quantidade menor de BHA original alcançando o pulmão intacto, sugerindo também, que a interação entre o BHA e o BHT, ocorre no pulmão. Então, a molécula BHA original precisa estar presente no pulmão quase que ao mesmo tempo em que o BHT, assim, um efeito intensificador pode ser observado.

Portanto, uma interação potencialmente tóxica entre esses dois antioxidantes alimentares comumente utilizados ocorre, sendo interessante do ponto de vista toxicológico, uma vez que são ingeridos em quantidades significativas por humanos.

Apesar do BHA e BHT serem divulgados como sendo seguros e possuírem baixo risco de causar câncer, podem interferir com o metabolismo celular. Ambos os antioxidantes apresentaram citotoxicidade dependente da concentração (18 mg a 135 mg kg⁻¹). Em mitocôndrias isoladas, além de terem inibido o controle respiratório, o BHA estimulou a produção de amônia e inibiu a de ureia nas concentrações de 90 mg e 135 mg kg⁻¹, ou seja, podendo provocar com isso, uma intoxicação devido à incapacidade de metabolizar a amônia e, conseqüentemente, dano celular (SAPATEIRO; PATEIS, 2017).

Outro estudo que abordou sobre a citotoxicidade relacionada, especialmente ao BHA, foi o T6 no qual examinou os mecanismos pelos quais o BHA inibe a citotoxicidade induzida por fator de necrose tumoral alfa (rTNF- α) em células de fibrossarcoma WEHI 164 e L929. O estudo trabalhou com 18 mg kg⁻¹ de BHA e 22 mg kg⁻¹ de BHT.

TNF- α é uma potente citocina derivada de macrófago mononuclear, capaz de provocar a morte de células (apoptose) tumorais e que possuem uma vasta gama de ações pró-inflamatórias. Seu mau funcionamento pode causar inflamações dolorosas e doenças autoimunes, choque séptico e permitir o aparecimento de tumores (CAMPEBELL *et al.*, 2007).

O estudo apontou que o BHA bloqueia completamente a toxicidade de TNF- α em células de fibrossarcoma WEHI 164 clone 13 e L929, enquanto o BHT teve pouco efeito. A linha celular WEHI 164 clone 13 (denominadas células WEHI clone 13) é altamente sensível à citotoxicidade induzida por rTNF- α . A adição de BHA simultaneamente com TNF- α inibiu completamente a citotoxicidade tanto no WEHI 13 quanto nas células L929. Já a adição de BHA 2 ou 4 h após o rTNF- α conferiu, aproximadamente, a mesma proteção de quando BHA

foi adicionado simultaneamente com rTNF- α . Porém, quando o BHA foi adicionado 8 h após TNF- α nas células L929, a morte celular diminuiu de 37% no controle (sem BHA) para 21% quando o BHA foi adicionado. Então, o BHA inibe a citotoxicidade induzida pelo TNF- α tão tarde quanto 6-8 h após a ligação do TNF- α aos seus receptores, sugerindo que o BHA provavelmente inibe algum evento tardio na citotoxicidade induzida pelo rTNF- α .

O T12 enveredou pelo mesmo caminho do T5, porém analisou mais faixas de concentração de BHA (9 mg, 18 mg, 36 mg, 90 mg e 135 mg kg⁻¹). Nesse, o BHA diminuiu o conteúdo de ATP celular em condições em que a cadeia respiratória mitocondrial era a única fonte desta substância. Em termos toxicológicos, pode-se esperar falta de glicose circulante, acidose metabólica graças ao excesso de produção de lactato, prejuízo da desintoxicação da amônia e dano celular pela manutenção deficiente de sua homeostase e claro, a possível produção excessiva de ROS. Porém, o BHA pode ser considerado um agente metabólico leve que se torna tóxico apenas em doses altas.

Outro estudo que relatou dano celular irreversível, com concentrações de BHA semelhantes as investigadas pelo T12 foi o T8 (54 mg a 90 mg kg⁻¹), ou seja, altas doses de BHA induziram apoptose (morte) celular. A maior parte dos estudos *in vitro* que descrevem os efeitos do BHA são realizados em linhas de células cancerosas, porém não está claro se as células normais são igualmente suscetíveis ao BHA. O T8 focou a atenção na atividade tóxica do BHA em células não tumorais de mamíferos, utilizando uma linha estabelecida de células de rim de macaco (Vero) recomendada para triagem de toxicidade química *in vitro*. O ensaio revelou que a exposição de células Vero a concentrações crescentes de BHA resultou em redução expressiva e dependente da dose na viabilidade celular da menor concentração utilizada (5mg kg⁻¹) e a exposição a concentrações ≥ 54 mg kg⁻¹ de BHA, mostrou características de apoptose. Além disso, o BHA inibiu a cadeia respiratória mitocondrial em vários locais, levando a uma rápida depleção do suprimento de ATP. Porém, quando a exposição ao BHA foi menor (abaixo de 67 mg kg⁻¹) a maioria das células tratadas retomou sua morfologia normal após 24 h, indicando que as alterações morfológicas são não letais e também reversíveis.

Além disso, mesmo o BHA sendo considerado seguro é também classificado como uma substância suspeita de provocar desregulação endócrina. O T7 investigou os efeitos do antioxidante na função reprodutiva de ratos machos e fêmeas maduras, durante o período de pré-gestação, gestação e lactação e de sua prole. O peso absoluto e relativo do fígado e o peso absoluto da glândula adrenal aumentaram consideravelmente em ratas expostas ao BHA (500 mg kg⁻¹) durante o período de pré-reprodução, reprodução, gestação e lactação. Em ratos

machos, o peso do fígado (BHA 100 e 500 mg kg⁻¹), da glândula tireóide e adrenal (BHA 500 mg kg⁻¹) aumentaram, porém, o baço e a próstata foram reduzidos (BHA 500 mg kg⁻¹).

Já nos filhotes, o peso corporal diminuiu em machos e fêmeas (BHA 500 mg kg⁻¹) e o retardo de crescimento dos filhotes machos não se recuperou até as 13 semanas de idade. Em fêmeas (filhotes), os pesos do fígado e da glândula adrenal também foram aumentados (BHA 500 mg kg⁻¹) e nos machos (filhotes) o peso dos testículos e do epidídimo diminuiu.

Via de regra, o efeito benéfico dos antioxidantes está na prevenção do envelhecimento ou carcinogenicidade graças à eliminação de espécies reativas de oxigênio, porém, a repressão da função reprodutiva e da fecundidade pode não ser inevitável. Com relação à toxicidade na função reprodutiva, o BHA pode induzir efeitos deletérios no desenvolvimento comportamental do feto, mas sem impacto na viabilidade desses. Além disso, o estudo mostrou que altas doses de BHA (500 mg kg⁻¹) aumentam o colesterol sérico de ratas, e por outro lado, doses de 100 a 500 mg kg⁻¹ de BHA diminuíram a testosterona de ratos machos adultos e filhotes. Os pesos dos órgãos sexuais como vagina, testículos e próstata diminuíram enquanto os pesos do fígado, glândula adrenal e glândula tireóide aumentaram (BHA 100 ou 500 mg kg⁻¹). A alta dose de BHA induziu menor taxa de acasalamento, lenta motilidade espermática e espermatozoides menores (JEONG *et al.*, 2005).

Ainda que seja complicado estabelecer se o BHA é uma substância interativa do sistema de estrogênio ou não com base na citologia vaginal, o atraso da abertura vaginal (BHA 500 mg kg⁻¹) e a diminuição desse órgão (BHA 100 e 500 mg kg⁻¹) indicam um efeito antiestrogênico do BHA. Portanto, o estudo T7 propôs que o BHA apresentou efeitos de desregulação endócrina alterando os níveis de hormônios séricos e o desenvolvimento do sistema reprodutivo, envolvendo o peso dos órgãos sexuais e a maturação sexual, ainda que a dose tóxica seja bastante alta e a potência seja fraca.

O T17 também seguiu a mesma linha de pesquisa e salientou que a exposição ao BHA em humanos, incluindo bebês, aumentou e os efeitos prejudiciais de vários antioxidantes fenólicos sintéticos (AFSs), em particular a desregulação endócrina têm aumentado energeticamente. Além disso, em longo prazo, a exposição ao BHA pode causar reduções no peso do órgão reprodutivo, nas taxas de acasalamento e níveis de testosterona em roedores, que muitas vezes são herdados pela próxima geração, mesmo em concentração baixa do antioxidante.

O estudo afirmou ainda que a depleção de cálcio citosólico ocorreu após o tratamento com BHA em células de Leydig, o que poderia resultar na diminuição da produção de testosterona. A homeostase do cálcio no testículo é essencial para a manutenção de suas

funções, como por exemplo, capacidade de fertilização e a espermatogênese em células testiculares. Por fim, tratamento com BHT e BHA juntos, direcionou a um maior acúmulo no tecido adiposo quando comparado ao tratamento individual com BHA, insinuando interações entre os antioxidantes fenólicos (HAM *et al.*, 2020).

Por décadas, o BHA foi apontado como sendo um antioxidante relativamente seguro, contudo, é volátil e instável em altas temperaturas. O BHA também exerce efeitos neurotóxicos e os estudos T15 e T17 trataram desse assunto. Ambos os estudos utilizaram o peixe-zebra para avaliar o potencial neurotóxico do antioxidante, porém o T15 também executou a pesquisa em astrócitos humanos normais.

O peixe-zebra é um modelo de vertebrado bem estudado, utilizado para estudar o desenvolvimento do sistema nervoso. Segundo estudos de sequência do genoma humano e do peixe-zebra, cerca de 70% dos genes do peixe-zebra apresentam ortólogos humanos e 47% desses ortólogos são considerados altamente relacionados aos genes humanos, ou seja, o peixe-zebra é um modelo animal adequado para estudar doenças humanas e fisiologia (PARK *et al.*, 2019).

Os astrócitos são células da neurógliia (ou da glia) mais abundantes do sistema nervoso central (SNC), compreendendo mais de 50% das células gliais no cérebro humano, tendo um papel fundamental na manutenção do metabolismo e homeostase do ambiente neuronal. No cérebro humano, os astrócitos desempenham um papel fundamental na homeostase neuronal, na sinalização do cálcio, no metabolismo e no reparo ou na formação de cicatrizes em locais lesados. Levando em consideração tamanha importância dos astrócitos nos neurônios e na função cerebral inteira, qualquer dano ou morte dessas células no estágio embrionário pode resultar no desenvolvimento incompleto do cérebro (PARK *et al.*, 2019).

A fim de abordar as informações toxicológicas limitadas a respeito do BHA, o estudo T15 identificou os efeitos neurotóxicos do BHA utilizando o peixe-zebra como um modelo de validação *in vivo* e coletivamente, os dados demonstram que o BHA exerce neurotoxicidade nos astrócitos e afeta o desenvolvimento do cérebro inteiro. O estudo identificou que a proliferação de células diminuiu gradualmente após o tratamento com diferentes concentrações de BHA (9 mg, 13 mg e 18 mg kg⁻¹).

Para determinar a toxicidade aguda de BHA, embriões de peixe-zebra de tipo selvagem foram tratados com diferentes concentrações de BHA. A viabilidade do embrião foi encontrada em apenas 55% após tratamento com 18 mg kg⁻¹ de BHA, indicativo dos efeitos tóxicos do BHA na embriogênese. Os batimentos cardíacos por minuto (bpm) foram calculados para avaliar a cardiotoxicidade e descobriu-se que o BHA exerceu significativa

cardiotoxicidade em concentrações de 4-18 mg kg⁻¹ e 18 mg kg⁻¹ de BHA induziu edema cardíaco maciço, induzindo a uma diminuição da frequência cardíaca.

Outros resultados apontaram anormalidades no desenvolvimento após o tratamento com 9 mg kg⁻¹ de BHA, entretanto, 100% de anormalidade foi evidenciada após tratamento com 18 mg kg⁻¹ de BHA. Ainda, os embriões expostos a 18 mg kg⁻¹ de BHA mostraram uma redução de 40% no comprimento do corpo inteiro em comparação aos embriões normais, e 100% dos embriões apresentaram escoliose. Portanto, o BHA destruiu os astrócitos, inibindo o crescimento das células gliais no SNC e retardou o desenvolvimento geral de embriões de peixe-zebra.

Mesmo que a concentração de 18 mg kg⁻¹ de BHA seja ligeiramente superior à concentração de exposição diária, esses resultados apontam que a superexposição ao BHA pode provocar efeitos neurotóxicos.

Em razão dos dados toxicológicos do BHA, a substância foi reconhecida como sendo "possivelmente carcinogênico para humanos" segundo a Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC). Entretanto, não está incluso na Classificação de Câncer da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América (EPA). No entanto, é aceito como "Razoavelmente Antecipado para ser um Carcinógeno" na Lista de Carcinógenos do Programa Nacional de Toxicologia dos Estados Unidos da América (NTP). A FDA alegou que, apesar de não ter evidências suficientes de que o BHA seja um perigo para a saúde pública, utilizado nos níveis atuais, é necessário que seja conduzida mais pesquisas para investigar seus efeitos em diferentes enzimas e sistemas metabólicos. Sabe-se que a causa raiz de muitas doenças crônicas são os radicais livres e o estresse oxidativo induzido por xenobióticos, como os aditivos alimentares (BARAN *et al.*, 2020).

O sistema de defesa antioxidante e o estresse oxidativo permanecem em um equilíbrio contínuo nos organismos vivos graças ao mecanismo homeostático normal. Uma das principais causas de estresse oxidativo é a elevação de ROS, que também é produzido por xenobióticos ingeridos pelo corpo. No momento em que o nível de ROS extrapola o nível que o sistema de defesa antioxidante celular tolera, ocorre o estresse oxidativo com capacidade antioxidante celular limitada. A desintoxicação das ROS é conquistada pela ativação de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, tanto intracelular quanto extracelularmente. Fatores externos, como tabagismo, ingestão de álcool, radiação UV, exposição a poluentes ambientais e aditivos alimentares em dose excessiva, podem perturbar o equilíbrio entre as ROS produzidas e desintoxicadas (BARAN *et al.*, 2020).

O BHA pode ser modificado em diferentes substâncias e ainda mais tóxico por alguns mecanismos. Todavia, entra no sistema biológico através do consumo de produtos alimentícios e medicamentos, provocando efeitos negativos na saúde humana em altas doses. De outro ponto de vista, a consideração das normas relacionadas ao seu uso por diversas instituições e organizações causa confusão. Ocasionalmente, impera um conflito sobre a utilização do BHA na literatura.

Ao que tudo indica todos esses resultados apontados levam em consideração que o BHA e também o seu metabólito (TBHQ), provavelmente irão desencadear a formação de ROS e, com isso, induzir a apoptose. Por fim, o T17 sugeriu que o uso do BHA necessita ser bem comedido em todos os campos, principalmente nas indústrias de alimentos.

Através das últimas descobertas fica muito aparente a questão do risco potencial de BHA para o homem. Extrapolar os dados de toxicidade dos animais para o homem exige muitas informações, ainda não satisfatórias, a respeito da disposição da substância no homem em condições de exposição real. Especialmente no caso do BHA a situação é complexa pelo fato da substância estar presente em grande variedade de alimentos e esses podem induzir significativamente sua biodisponibilidade.

Um dos estudos realizou a pesquisa somente com humanos, desenvolvendo um método analítico específico e sensível para medir o BHA no plasma e urina. O T1 avaliou quatro voluntários saudáveis do sexo masculino e cada um recebeu uma cápsula com 30 mg de BHA dissolvido em azeite de oliva. Após 10 dias, cada um dos mesmos voluntários recebeu uma cápsula contendo 5 mg de BHA e, amostras de plasma e urina foram posteriormente coletadas e processadas. O estudo alcançou como resultado que a dose de 30 mg do antioxidante foi rapidamente absorvida, de modo que, os níveis plasmáticos estavam altos entre 60 e 180 min após a administração. Esses níveis foram diminuindo e por volta de 720 min não eram mais detectáveis. Após administração da dose com 5 mg foi identificado perfil semelhante de concentração no plasma. Então, viu-se que o BHA apresentou uma meia-vida média de cerca de 3 horas e estava intimamente relacionada à dose.

Sobre os testes com animais de laboratório, pode-se mencionar que apresentam uma importância inestimável nas pesquisas científicas, colaborando imensamente para o desenvolvimento da ciência e tecnologia. A utilização deles em pesquisas surgiu, especialmente, por questões econômicas. Ainda que haja progresso de métodos alternativos como os estudos *in vitro*, as culturas de células, *etc.* os modelos animais ainda apresentam como principal vantagem o provimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não é alcançado com outros métodos (CHORILLI *et al.*, 2007).

Vários animais de espécies diversas têm sido utilizados ao longo dos últimos dois séculos de desenvolvimento científico, porém dentre todos eles o camundongo é considerado o mais utilizado e é o mais profundamente conhecido cientificamente. A introdução do camundongo como animal de laboratório se deve principalmente ao fato de ser pequeno, muito fértil, possuir período de gestação curto, ser de fácil domesticação e manutenção. Diante disso, tornou-se o mamífero mais utilizado na experimentação animal (SANTOS, 2002).

Ao avaliar nossos estudos, percebemos que pouco mais de 11% utilizaram o camundongo como meio de teste. A grande maioria fez uso de ratos (41,17%). Isso corrobora com o mencionado por Chorilli e colaboradores (2007), que relataram que em pesquisa toxicológica uma das espécies mais frequentemente utilizadas é o rato. Esse mamífero obviamente difere grandemente de humanos, visto que, lhes falta vesícula biliar, manifesta ligação plasmática com drogas menos eficiente, respira impreterivelmente pela narina, possui hábitos noturnos e uma localização diferente da flora intestinal, além de características de pele bem diferentes, entre outras. Portanto, os ratos são considerados como sendo modelos preditivos inapropriados. Aproximadamente 85% dos artigos da Medline e 70% dos artigos da Lilacs referem-se a ratos e camundongos.

Juntamente com os camundongos (11,76%), nossos resultados mostram um empate entre o peixe zebra e humanos nas pesquisas, sendo também de 11,76%. O restante dos estudos utilizou cultura de células humanas (23,52%).

A proximidade filogenética (como a alcançada por modelos primatas) não é garantia de validação da extrapolação, ainda que, se possa tentar supor que a extrapolação de uma espécie é melhor quanto mais esta espécie corresponda aos humanos. A escolha do modelo precisa ser criteriosa, sendo isso o fator primordial da elaboração da pesquisa, pois escolher um modelo inapropriado implicará em restrições na análise e interpretação dos resultados, como também, no processo de indução dos resultados para os seres humanos (FAGUNDES; TAHA, 2004).

Essa extrapolação dos resultados das espécies não-humanas para humanos sustenta inúmeros conflitos que abrangem décadas de pesquisa futuras, ou seja, o que se mostra danoso ou ineficiente para as espécies não-humanas pode ser inofensivo ou eficaz em humanos. Um exemplo breve disso, seria o caso da aspirina, sendo essa teratogênica em gatos, cães, porcos da Índia, ratos, camundongos e macacos, mas não para mulheres grávidas. Então, a busca pelo domínio dos fatores etiológicos, mecanismos e tratamento das doenças,

através de espécies animais como modelos trouxe a árdua e complicada tarefa de extrapolação dos resultados desses modelos para os seres humanos.

Órgãos governamentais, não-governamentais e demais sociedades reguladoras da pesquisa biológica aconselham a utilização de duas espécies em triagens toxicológicas, sendo uma delas um não-roedor, entretanto, tal recomendação não quer dizer que um número expressivo de animais deva ser utilizado. Pequenos roedores apresentam um metabolismo muitas vezes mais rápido quando comparado ao de humanos e seus órgãos viscerais que influenciam o metabolismo crescem mais devagar do que o tamanho corporal como um todo (FAGUNDES; TAHA, 2004).

Somente dois estudos (T2 e T15) utilizaram espécies diferentes a fim de comparação. O T2 trabalhou com ratos, macacos e tecido adiposo humano e o T15 usou o peixe zebra e astrócitos humanos normais. Conacher e colaboradores (1986) afirmaram que o acúmulo de BHA e BHT no tecido adiposo em uma base de dose/peso corporal é maior em humanos do que em ratos. O BHA administrado a ratos e macacos em níveis elevados durante vários meses acumulou-se em níveis baixos ($0,25 \text{ mg kg}^{-1}$) no tecido adiposo. Porém, quando administrados a ratos nos mesmos níveis, mas em combinação com BHT, níveis aumentados de BHA foram encontrados no tecido adiposo, indicando uma interação com BHT. Em uma dose equivalente, o BHT acumulou até dez vezes o nível de BHA. No entanto, nenhum dos dois apresentou acúmulo progressivo com o tempo. O tecido adiposo humano continha $0,01$ e $0,12 \text{ mg kg}^{-1}$ de BHA e BHT, respectivamente.

Park e colaboradores (2019) compararam o peixe-zebra de tipo selvagem (*Danio rerio*) e o modelo de peixe-zebra transgênico (*olig2:dsRed*), os mesmos foram mantidos a $28,5^{\circ}\text{C}$ (segundo diretrizes da Korea University) em escuridão de 10 h e ciclo de luz de 14 h. Para ensaios de toxicidade, embriões de peixe-zebra 12 h pós-fertilização foram tratados com BHA nas concentrações indicadas por 48 h.

Embriões tratados com 18 mg kg^{-1} de BHA apresentaram microcefalia e apenas 42% do volume do cérebro em comparação com os embriões do grupo de controle (sem BHA). Além disso, o BHA aumentou a taxa de apoptose em olhos e corações de larvas de peixe-zebra e induziu apoptose celular significativa no peixe-zebra.

O estudo em humanos deve levar em consideração alguns itens importantes, como a definição de doses, a duração da administração, o número e o sexo dos indivíduos e a representatividade da população exposta (idade, genética, condição fisiológica, alimentação, estilo de vida, *etc.*). Além disso, os relatórios dos ensaios clínicos precisam retratar, abertamente, os objetivos do estudo, os protocolos e a apresentação dos resultados (ANVISA,

23/2012). Todos os estudos toxicológicos realizados em humanos (T1, T2 e T4) levaram em consideração todos esses itens.

6 DETERMINAÇÃO DA EXPOSIÇÃO DOS CONSUMIDORES AOS COMPONENTES DE EMBALAGENS

A inclusão de novas substâncias nos materiais de embalagem é um indicador de que ensaios toxicológicos podem ser cruciais para se entender e/ou atestar os efeitos adversos à saúde, oriundos de uma exposição à substância adicionada. Os ensaios toxicológicos exigem tempo e, em sua maioria, são bastante onerosos. O nível de ingestão diária estimada - quantidade de substâncias que podem migrar do material de embalagem aos alimentos - será necessário para a realização dos estudos toxicológicos (FREIRE *et al.*, 1998).

A união dos dados de migração (resultados obtidos através das técnicas analíticas que estimam o nível de migração do aditivo para o alimento) com as informações acerca do grau de utilização dos materiais de embalagem que inclui o aditivo oferecem as reais informações de exposição. Mediante este critério, define-se a necessidade real de realização de estudos toxicológicos, assim como a elaboração das regulamentações referentes à composição dos materiais que entrarão em contato com alimentos (FREIRE *et al.*, 1998).

Para que seja determinado o grau de utilização dos inúmeros tipos de embalagens, utiliza-se o fator de consumo (FC), que retrata a porção da dieta que é exposta a um material específico de embalagem. “O fator de consumo é dado pela razão entre o peso de todo o alimento que está em contato com uma categoria específica de embalagem e o peso total de todos os produtos alimentícios na dieta diária que estão em contato com algum tipo de embalagem” (FREIRE, *et al.*, 1998). Este FC irá variar de acordo com o tipo de embalagem, ou seja, plástico, vidro, metal e várias outras categorias de resinas. Para a estima do FC são utilizadas informações, como por exemplo, tipos de alimentos consumidos, “tipo de alimento que entra em contato com a superfície da embalagem, número de unidades de embalagem para cada categoria de alimento, distribuição de tamanho das embalagens e razão entre o peso do produto embalado e o peso da embalagem”, podendo o FC sofrer mudanças, se porventura nova informação for adicionada (FDA, 1995).

Tanto a natureza da embalagem quanto dos alimentos precisa ser considerada a fim de determinar o grau de migração de componentes de embalagens para os alimentos, posto que pode haver uma sensível variação nos níveis de migração entre os produtos aquosos ácidos e, não ácidos, alcoólicos e gordurosos. À vista disso, os fatores de distribuição (FD) são calculados para cada tipo de alimento, indicando a fração de um tipo de material que entra em contato com cada uma das quatro classes de alimento. Menção a isso, como exemplo, os fatores de distribuição para embalagens de poliolefinas de 0,67 (alimento aquoso); 0,01

(alimento aquoso ácido); 0,01 (alimento alcoólico) e 0,31 (alimento gorduroso), indicando que 98% das embalagens de poliolefinas são empregadas para produtos alimentícios aquosos e gordurosos. Da mesma maneira que os FC, os valores de FD calculados variam conforme o tipo de embalagem adotada (FREIRE *et al.*, 1998).

Segundo Freire e colaboradores (1998) o cálculo da concentração total do aditivo inserido nos alimentos consumidos diariamente que entram em contato com o material de embalagem ($\langle M \rangle$) é determinado pela somatória da multiplicação individual dos valores de FD pelos respectivos valores de migração (M_{sa}) estipulados nos simulantes de alimentos (f_{sa}) apropriados: $\langle M \rangle = \sum [f_d \cdot (M_{sa})]$. A concentração do aditivo na dieta diária é representada por: $\langle M \rangle \times FC$. Considerando que um indivíduo consuma 3 kg de alimento por dia (líquidos e sólidos), estima-se a concentração do aditivo ingerida através da dieta, conhecida por ingestão diária estimada (IDE) mediante expressão: $IDE = 3 \text{ kg alimento/pessoa/dia} \times \langle M \rangle \times FC$.

As informações obtidas de IDE são logo após, associados às informações de IDA, sendo essa, a quantidade de uma substância química, expressa em mg de substância por kg de peso corpóreo que, relacionado aos estudos toxicológicos, pode ser ingerida diariamente pelo homem durante toda sua vida, sem que acarrete efeitos adversos à saúde. O valor da IDE sendo menor que o valor da IDA, a utilização do antioxidante é concedida, entretanto, por outro lado, tendo o valor de IDA menor que o IDE, pode o solicitante obter, junto ao FDA, regulamentação através de restrições para a utilização do antioxidante, reduzindo o valor de IDE, ou fornecendo dados toxicológicos complementares, que propiciem o aumento do valor da IDA (FREIRE *et al.*, 1998).

6.1 Relação entre migração de antioxidantes sintéticos e a toxicologia em seres humanos

A Tabela 25 exhibe a maior concentração de antioxidantes migrados vistos nos alimentos/simulantes em cada estudo apreciado por esta RS. Dos 44 estudos avaliados pela busca um, 50% não encontraram valores migrados acima do LME dos antioxidantes, ou seja, essas pesquisas relataram migração, porém abaixo do limite permitido pela legislação. Segundo Hannon e colaboradores (2015), as substâncias tidas como nocivas aos seres humanos podem não existir em doses altas o bastante para significar um risco real.

Com relação à migração dos antioxidantes avaliados, 25% dos resultados apontaram migração acima do limite para o BHT e 20,45% para o Irganox 1076. O BHA aparece nos resultados abaixo do LME. A maior parte dos estudos que encontraram migração acima do limite estava associada a alimentos/simulantes ricos em gordura. O Irganox 1076 apresenta

grande afinidade, especialmente, para azeite, iso-octano e etanol 95% (EEC, 1982; BELDÍ *et al.*, 2012).

Porém, apesar desses aditivos terem mais afinidade para gordura, foram encontrados valores migrados para água e simulantes aquosos, especialmente para o BHT. Três estudos evidenciaram alta migração para a água (E7, E9, E11) e todos eles evidenciaram que a migração aumentou com a temperatura, o que pode confirmar que a migração não é somente uma questão provocada pelo material em contato, mas grande parte pela temperatura elevada, já que esta condição é relatada tanto na migração relacionada a gordura como também para água e alimentos/simulantes aquosos.

Tabela 25 – Maior concentração de antioxidantes encontrada nos estudos de migração

Código	Referência	Antioxidante/LME (mg kg ⁻¹)	Resultado da migração Tipo de PE/Alimento/simulante Condições de contato
E1	FIGGE <i>et al.</i> , 1978	BHT/LME = 3 I-1076/LME = 6	BHT = Azeite (40°C/16 d): 20,35 mg kg ⁻¹ BHT = HB 307 (40°C/16 d): 17,11 mg kg ⁻¹ I-1076 = N. D.
E2	TILL <i>et al.</i> , 1982	BHT/LME = 3	Valores abaixo do LME
E3	FIGGE; FREYTAG, 1984	I-1076/LME = 6	Valores abaixo do LME
E4	BIEBER <i>et al.</i> , 1984	I-1076/LME = 6	PEBD: Azeite (40°C/10 d) = 7,46 mg kg ⁻¹ PEBD: Azeite (100°C/1 h) = 6,19 mg kg ⁻¹ PEBD: HB 307 (40°C/10 d) = 7,92 mg kg ⁻¹ PEBD: HB 307 (100°C/1 h) = 6,99 mg kg ⁻¹ PEAD: Azeite (20°C/360 d) = 7,16 mg kg ⁻¹ PEAD: Azeite (40°C/10 d) = 7,46 mg kg ⁻¹ PEAD: HB 307 (20°C/360 d) = 7,90 mg kg ⁻¹ PEAD: HB 307 (40°C/10 d) = 7,92 mg kg ⁻¹ Alimentos = Valores abaixo do LME
E5	BIEBER <i>et al.</i> , 1985	I-1076/LME = 6	<u>Simulantes (Ácido acético 3% e HB 307)</u> (40°C/10 d): PEBD: 0,019 a 23,84 mg kg ⁻¹ PEAD: 0,0612 a 4,38 mg kg ⁻¹ <u>Em alimentos (40°C/10 d):</u> PEBD: 0,019 a 23,84 mg kg ⁻¹ PEAD: 0,018 a 4,38 mg kg ⁻¹
E6	SCHWOPE <i>et al.</i> , 1987	BHT/LME = 3	PEBD (21°C/100 d) = 3,42 mg kg ⁻¹ (sopa galinha)
E7	GANDEK <i>et al.</i> , 1989	BHT/LME = 3	PELBD: Água (60°/24h) = 200 mg kg ⁻¹ (10%) PELBD: Água (60°/3 meses) = 800 mg kg ⁻¹ (40%) PEAD/BHT = 200 mg kg ⁻¹ (10%)
E8	GOYDAN <i>et al.</i> , 1990	I-1076/LME = 6	Valores abaixo do LME
E9	HO <i>et al.</i> , 1994	BHT/LME = 3	PEBD: Água (38°/1 e 4 d) = 6,26 mg kg ⁻¹
E10	LIMM; HOLLIFIELD, 1995	I-1076/LME = 6	<u>Água destilada:</u> Valores abaixo do LME <u>Óleo de milho:</u> PEAD: (77°C) - 0,99 mg kg ⁻¹ PEAD: (135°C) - 23,65 mg kg ⁻¹
E11	YAM <i>et al.</i> , 1996	BHT/LME = 3	PEAD: Água (65°/20h) = 9,16 mg kg ⁻¹
E12	O'BRIEN <i>et al.</i> , 1997	I-1076/LME = 6	Azeite oliva PEBD (40°C/10 d): 56,4; 69,6 mg kg ⁻¹ PEAD (40°C/10 d): 6,2 mg kg ⁻¹ PEAD (121°C/2h): 11,8; 58; 160,2 mg kg ⁻¹
E13	WESSLING <i>et al.</i> , 1998	BHT/LME = 3	Valores abaixo do LME
E14	COOPER <i>et al.</i> , 1998	I-1076/LME = 6	Azeite (40°C/10 d) = 6,2 mg kg ⁻¹ Azeite (121°C/2 h) = 68,8 mg kg ⁻¹ Azeite (121°C/2 h) = 11,8; 55,9 mg kg ⁻¹ Iso-octano (60°C/2,5 h) = 12,3 mg kg ⁻¹ Etanol 95% (121°C/2 h) = 73,8 mg kg ⁻¹

Tabela 25 – (continuação) Maior concentração de antioxidantes encontrada nos estudos de migração

Código	Referência	Antioxidante	Resultado da migração
E15	LINSSEN <i>et al.</i> , 1998	I-1076/LME = 6	Valores abaixo do LME
E16	BAILEY <i>et al.</i> , 1999	BHT/LME = 3	Valores abaixo do LME
E17	O'BRIEN <i>et al.</i> , 1999	I-1076/LME = 6	Valores abaixo do LME
E18	WESSLING <i>et al.</i> , 2000	BHT/LME = 3	Aveia (30°C/2 e 4d) = 3 mg kg ⁻¹
E19	O'BRIEN; COOPER, 2002	I-1076/LME = 6	Valores abaixo do LME
E20	BRANDSCH <i>et al.</i> , 2002	I-1076/LME = 6	Etanol 100% = 9,42 a 43,14 mg kg ⁻¹ Etanol 95% = 3,84 a 15,9 mg kg ⁻¹ Etanol 80% = 3,48 a 13,14 mg kg ⁻¹ Etanol 70% = 15,96 a 20,34 mg kg ⁻¹ Etanol 50% = 0,066 a 0,44 mg kg ⁻¹
E21	FEIGENBAUM <i>et al.</i> , 2002	BHT/LME = 3	Não Detectado
E22	HELMROTH <i>et al.</i> , 2002	I-1076/LME = 6	Etanol: quase 100% (2 dias) = 3297 mg kg ⁻¹ Azeite: quase 90% (4 dias) = 2967 mg kg ⁻¹
E23	DOPICO-GARCIA <i>et al.</i> , 2003	BHA/LME=30 BHT/LME = 3 I-1076/LME=6	Não Detectado
E24	HAN <i>et al.</i> , 2003	BHT/LME = 3	Valores abaixo do LME
E25	STOFFERS <i>et al.</i> , 2004 (1)	I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E26	STOFFERS <i>et al.</i> , 2004 (2)	I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E27	BEGLEY <i>et al.</i> , 2005	I-1076/LME=6	Azeite de oliva PEBD (40°C/10d) = 2,6 mg kg ⁻¹ PEBD (40°C/1, 2, 4, 10d) = 0,85/1,26/1,74/2,75 mg kg ⁻¹ PEAD = 3,84 a 15,90 mg kg ⁻¹
E28	DOPICO-GARCIA <i>et al.</i> , 2007	BHA/LME=30 BHT/LME = 3 I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME Traços do I-1076 = N. D.
E29	TORRES <i>et al.</i> , 2007	BHT/LME=3	PEBD = Filé de peixe - 22,64 mg g ⁻¹ O nível de antioxidante diminuiu 22,64 mg p/ 17,32 mg em 30 dias de armazenamento
E30	JEON <i>et al.</i> , 2007	I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E31	VITRAC <i>et al.</i> , 2007	BHT/LME=3 I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E32	CRUZ <i>et al.</i> , 2008	BHT/LME=3	PEBD: Queijo (5°C/30d) = 3,86 mg kg ⁻¹ PEBD: Queijo (25 C/20d) = 4,87 mg kg ⁻¹

Tabela 25 – (conclusão) Maior concentração de antioxidantes encontrada nos estudos de migração

Código	Referência	Antioxidante	Resultado da migração
E33	SOTO-CANTÚ <i>et al.</i> , 2008	BHT/LME=3	Em 100 d contato (PEBD) Queijo: BHT – PEBD = 3580 mg kg ⁻¹ a 4700 mg kg ⁻¹ BHT perdido = 54,6 e 55,6%, respectivamente.
E34	MACHADO <i>et al.</i> , 2009	I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E35	MAURICIO-IGLESIAS <i>et al.</i> , 2010	I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E36	COLTRO; MACHADO, 2011	I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E37	BELDÍ <i>et al.</i> , 2012	I-1076/LME=6	PEBD (Alimentos): 0,11 a 8,48 mg kg ⁻¹ PEBD (Simulantes): 0,71 a 42,83 mg kg ⁻¹
E38	REINAS <i>et al.</i> , 2012	I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E39	JAKUBOWSKA <i>et al.</i> , 2014	BHT/LME=3	PEBD: PPPO (60°C/10d) = 15,61 mg kg ⁻¹
E40	HAITAO <i>et al.</i> , 2015	BHT/LME=3	Valores abaixo do LME
E41	IBARRA <i>et al.</i> , 2018	BHT/LME=3	Etanol 95%: quase 100% (10/20/40°C) Etanol 50%: 90% (20/40°C); < 90% (10°C) Iso-octano: quase 100% (10/20/40°C)
E42	RUBIO <i>et al.</i> , 2019	BHT/LME=3	Valores abaixo do LME
E43	VERA <i>et al.</i> , 2019	I-1076/LME=6	Valores abaixo do LME
E44	LIANG <i>et al.</i> , 2020	BHA/LME=30 BHT/LME=3	Valores abaixo do LME

BHT: 2,6-diterc-butil-p-cresol. HB: mistura de triglicerídeo padrão. PEBD: Polietileno de baixa densidade. PEAD: Polietileno de alta densidade. PELBD: Polietileno linear de baixa densidade. LME: Limite de migração específico.

Para avaliar a exposição humana aos aditivos, presentes nos produtos de consumo, dois cenários comuns são frequentemente utilizados - o pior cenário e o cenário mais provável. O pior cenário é um valor de exposição baseado na ingestão mais provável de uma substância adquirida segundo estudos de migração e dados de pesquisa. O cenário mais provável abarca a maior exposição aos antioxidantes associados aos produtos de consumo, a partir de dados exagerados de migração e consumo (CUSHEN *et al.*, 2013).

Estudos adequados de toxicidade, de migração e dados de consumo precisam estar disponíveis para produzir um modelo de exposição humana (CUSHEN *et al.*, 2013; VON GOETZ *et al.*, 2013). Dos 17 estudos da busca toxicológica, somente três apresentaram modelos de exposição humana, quantificando o risco para seres humanos de exposição aos

antioxidantes, porém, nenhum apresentou esse risco de exposição dos antioxidantes migrados de embalagens de alimentos, já que, não levaram em consideração embalagens plásticas nesses estudos, somente o antioxidante em si.

Dada a proporção desigual dos estudos de migração (44) para os estudos toxicológicos (17), onde nenhum desses avaliou migração de antioxidantes em embalagens plásticas, e os antioxidantes sintéticos são amplamente utilizados pela indústria de embalagens alimentícias, como também, as consequências que podem ser provocadas pelos antioxidantes, como as demonstradas pelos estudos toxicológicos, levam a constatar que é necessário colocar ênfase na apresentação de dados de exposição mais abrangentes, ou seja, estudos que avaliem a migração dos aditivos das embalagens plásticas, como também, as suas consequências toxicológicas, a depender do valor migrado para o alimento. Essa simbiose entre os assuntos pode acrescentar muito na literatura desse assunto, assim como, na geração de informações para criação de políticas governamentais de segurança em saúde pública, ferramentas importantes nas decisões em âmbito governamental e implantação de medidas de fiscalização e regulação sanitária.

Uma observação interessante ao comparar os estudos elegíveis da busca um com os da busca toxicológica está no antioxidante utilizado nessas pesquisas. Enquanto na busca um os antioxidantes avaliados foram Irganox 1076 e BHT, em sua imensa maioria, os estudos toxicológicos estudaram o BHA em suas pesquisas, ou seja, todos os estudos avaliaram BHA (100%) e uma pequena porcentagem avaliou também o BHT (35,29%), sendo que nenhum avaliou o Irganox 1076.

Uma das razões para isso pode estar relacionada a carcinogenicidade do BHA, sendo que até o momento, a conclusão a respeito da carcinogenicidade do BHA e do BHT, segundo a IARC é de que o BHA pode ser considerado como possivelmente carcinogênico em animais. O BHA associado com outros componentes, possivelmente carcinogênicos, pode levar a modificações no DNA, iniciando a mutagênese (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM, 2009).

Os estudos T2 e T3 relataram que o BHA sozinho não proporcionaria efeitos deletérios, porém em combinação com o BHT, acarretaria em maiores níveis de BHA, especialmente no tecido adiposo, como também, o BHA sozinho não provocaria toxicidade pulmonar, portanto essa interação entre os antioxidantes precisa ser mais estudada.

Segundo a IARC, o BHA é considerado possivelmente carcinogênico (grupo 2B) enquanto o BHT não classificado como carcinogênico para humanos (grupo 3). O BHT, ainda que apresente o mesmo comportamento do BHA quando associado a outros componentes

carcinogênicos, não pode ser considerado carcinogênico, tendo em vista que as evidências são limitadas e os resultados dos experimentos com animais ainda não oferecem bases suficientes para conclusões (IARC, 2018).

Como já citado anteriormente, além da carcinogenicidade a qual esses antioxidantes estão associados, também são considerados desreguladores endócrinos já que mimetizam estrogênios naturais do corpo. Ambos os antioxidantes foram encontrados em esgotos e são persistentes no ambiente. Além de estarem inseridos nos alimentos, podem ser achados em águas tratadas e disponíveis para consumo, como também, nos organismos aquáticos que serão posteriormente consumidos (JOBILING et al., 1995; SERRANO et al., 2001).

Diferentemente do estipulado pelo IARC, o T7 menciona que em geral, os efeitos benéficos do antioxidante foram considerados como atuante na prevenção da carcinogenicidade pela eliminação de espécies reativas de oxigênio, enquanto a repressão da função reprodutiva e da fecundidade pode não ser inevitável. O estudo T14 ainda completa que a suplementação, tanto do BHA quanto do BHT, minimizou a toxicidade dos tecidos, o T9 inibiu o crescimento de células de adenocarcinoma humano, o T10 proporcionou certa proteção contra danos, ou melhor, foi um bom agente quimiopreventivo e o T11 relatou conferir proteção renal.

Já o T4 relatou exacerbação urticária com BHA (e BHT), T5 diminuição da taxa de O₂ da mitocôndria, T8 indução de apoptose celular, T12 com efeitos desde modificação no metabolismo até ações tóxicas e apoptóticas e T15 menciona cardiotoxicidade em concentrações que variam entre 4 a 18 mg. Portanto, há muitos conflitos com relação aos efeitos dos antioxidantes, especialmente BHA.

Como nos estudos de migração com embalagem de polietileno foi verificado que não há avaliação do BHA, tendo em vista que os antioxidantes mais utilizados nessas embalagens são BHT e Irganox 1076, vimos a necessidade de estudos que avaliem a toxicidade tanto de BHT quanto de Irganox 1076. O BHA estando muito presente em alimentos industrializados justifica a condução dos estudos toxicológicos, uma vez que o consumo desses alimentos pela população é gigantesco, porém, muitos outros alimentos de elevado consumo, são armazenados em embalagens com altas concentrações de antioxidantes com alto potencial de migração, mas que não são explorados pelos estudos toxicológicos.

Segundo a RDC nº123/2001 e RDC nº281/2019 da ANVISA, o BHA e BHT são permitidos nas embalagens para alimentos e aceitos nos alimentos na função de antioxidante. Em relação aos alimentos, à medida que melhor se enquadra é a de diminuir ou mesmo, evitar

o consumo de produtos industrializados, tendo em vista que estes são os que possuem mais conservantes e antioxidantes.

Os estudos T2 e T14 corroboram com os valores encontrados pelos estudos de migração E2, E16, E21 e E42 que também avaliaram baixas doses do BHT e encontraram valores migrados abaixo do LME.

O estudo T3 trabalhou com dose (500 mg de BHT) semelhante aos estudos E11 e E13 (500 mg e 450 mg de BHT), como também, o T4 com dose (250 mg de BHT) semelhante aos estudos E6, E9, E18 e E39 (200 mg, 250 mg, 290 mg e 300 mg).

O E11 relatou um valor de migração de $9,16 \text{ mg kg}^{-1}$ para o alimento utilizado, ou seja, um valor acima do preconizado pela legislação com relação ao BHT (3 mg kg^{-1}), porém, o estudo toxicológico T3, que avaliou a relação de aumento dos danos pulmonares com BHT, concluiu que a dose necessária para provocar algum tipo de efeito deletério nesse órgão, seria acima de 175 mg kg^{-1} . Mesmo T3 relatando que os efeitos deletérios seriam somente acima de 175 mg kg^{-1} , não se pode assumir que um único estudo abordando somente um animal, seja associado com o LME, além disso, os valores de LME levam em conta estudos de exposição relacionados com a ADI ou TDI e é assumido depois de um estudo toxicológico, seguindo protocolos de toxicologia, portanto, analisando estes parâmetros podemos dizer que o valor migrado da resina foi acima do limite permitido pela legislação, sendo o suficiente para provocar danos à saúde do consumidor. Já o E13 não encontrou valores acima do LME, portanto seu valor migrado ($1,38 \text{ mg kg}^{-1}$) não provocaria nenhum efeito deletério.

Os estudos E6, E9 e E18 acharam valores acima do LME para sopa de galinha ($3,42 \text{ mg kg}^{-1}$), água ($6,26 \text{ mg kg}^{-1}$) e cereal de aveia (3 mg kg^{-1}). Todos trabalharam com doses semelhantes e aproximada do T4 (250 mg kg^{-1}) que foram 200, 250, 290 e 300 mg kg^{-1} , respectivamente (em aveia e outros alimentos variados). O T4 relatou que a dose de 10 a 40 mg kg^{-1} de BHT na dieta foi o suficiente para provocar exacerbação de sua dermatite e que evitar este antioxidante na dieta resultaria na remissão da alergia. Extrapolando para os estudos E6, E9 e E18, que relataram migração menor que 10 mg kg^{-1} , seus valores, em tese, não provocariam nenhum sintoma alérgico. Porém, o E39 já alcançou um valor que ocasionaria algum efeito adverso, pois está quatro vezes acima ($15,61 \text{ mg kg}^{-1}$) do LME de BHT.

Inicialmente, o BHA e o BHT foram elaborados como antioxidantes para produtos de petróleo e borracha, contudo foram apreciados como antioxidantes eficazes para gorduras animais em meados da década de 50. Atualmente, esses antioxidantes são incorporados a inúmeros alimentos, a fim de evitar a oxidação de ácidos graxos insaturados. No momento, a

ingestão diária de BHA e BHT pode ser significativamente alta, graças a uma maior dependência atual da dieta em alimentos processados e embalados. Ainda que a literatura de toxicologia animal sobre esses antioxidantes seja ampla, existem estudos insuficientes de reações adversas ao BHA e BHT em humanos (GOODMAN *et al.*, 1990), como também, nenhum, segundo esta RS, abordando os antioxidantes propostos, embalagem de polietileno e toxicologia.

Os estudos E32, E40 e E41 utilizaram concentrações de BHT muito acima de qualquer dose trabalhada pelos estudos toxicológicos, sendo os valores correspondentes a 3315 mg kg⁻¹ (E32), 1250, 2000, 6000 e 8000 mg kg⁻¹ (E40) e 913,3 mg kg⁻¹ (E41). Podemos perceber com isso que os estudos de migração em embalagem utilizaram doses muito maiores que os estudos toxicológicos, doses essas que nem poderiam ser testadas em humanos, como também, não são alcançadas com o consumo através dos alimentos industrializados, tirando como base de que em 1970 a ingestão média diária de BHT nos EUA por pessoa foi estimada em 2 mg/kg. Com a maior dependência atual da dieta em alimentos processados e embalados, a ingestão atual diária de BHA e BHT pode ser significativamente maior e, apesar da riqueza da literatura de toxicologia animal sobre esses antioxidantes, existem raros relatos de reações adversas ao BHA e BHT em humanos (GOODMAN *et al.*, 1990).

Segundo Verhagen e colaboradores (1989) a dose oral única de BHA necessária para causar a morte de 50% da população em um estudo foi de 2.200-5000 mg/kg de peso corpóreo (p. c.) em ratos e 2000 mg/kg de p. c. em camundongos, portanto são doses extremamente altas não se aproximando da dose usualmente adquirida rotineiramente. Em comparação com os ratos, doses relativamente menores de BHA são necessárias para originar no homem o mesmo nível da substância no plasma, sendo que uma dose oral de 0,5 mg/kg de p. c. em humanos é comparável a 200 mg/kg de p. c. em ratos (BANNART, 2000).

Tanto o BHA quanto o BHT podem induzir danos no DNA do estômago, cólon, bexiga e cérebro de ratos, sendo que as doses demonstradas para a indução de danos no DNA do cólon foram de 500 mg kg⁻¹ para o BHA e 100 mg kg⁻¹ para o BHT. Mesmo que esse estudo tenha sido realizado com doses elevadas dos antioxidantes, o consumo vertiginoso desses aditivos pode extrapolar a IDA sugerida pelo JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* - Comitê Misto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares) acarretando em sérios riscos à saúde (POLÔNIO; PERES, 2009). No caso do BHA, que se mostra uma substância irritante à pele, não parece causar irritação após a ingestão nos níveis de uso permitidos, nem outros efeitos tóxicos agudos em animais experimentais ou em indivíduos que manuseiam a substância (VERHAGEN *et al.*, 1989).

O T5 também utilizou valores acima da IDA para BHA (0mg, 45 mg, 90 mg, 135 mg e 180 mg kg⁻¹), apresentando evidência toxicológica, em todas as doses utilizadas, na cadeia respiratória de ratos wistar machos, ou seja, a adição de BHA na dieta diminuiu a taxa de consumo de O₂ da mitocôndria. O controle respiratório em ratos machos foi perdido completamente com uma dose de 63 mg kg⁻¹ BHA.

Já os estudos T4, T7, T8, T12, T13, T15, T16 e T17 trabalharam com doses acima da IDA e apresentaram evidências toxicológicas; o mesmo se deu para o BHT nos estudos T2, T3 e T6. Os T1, T9, T10, T11 e T14 apesar de terem analisado valores acima da IDA não apresentaram evidência toxicológica. Portanto, a maioria dos estudos obteve alguma evidência toxicológica.

Fechando todo este assunto percebemos que é necessário levar em conta os valores de migração encontrados nos trabalhos, pois se os mesmos ultrapassaram os LME, já é um claro sinal de danos à saúde do consumidor, em razão do estabelecimento destes valores de LME levarem em conta os estudos toxicológicos.

7 CONCLUSÃO

Por meio deste estudo de revisão sistemática avaliaram-se estudos primários que investigaram a capacidade de migração dos antioxidantes da embalagem de polietileno para os alimentos, onde foi possível constatar que:

Desde 1970 existem publicações de artigos abordando a temática de migração de antioxidantes, e essas aumentaram até os anos de 2010 quando houve uma leve queda a partir de 2011 até os dias de hoje.

Dos 44 artigos primários que fizeram parte desta RS, somente dois (E21 e E23) não evidenciaram a migração, ou seja, o E21 na verdade, detectou somente traços do BHT, enquanto no E23, nenhum antioxidante foi detectado nas amostras. Isso mostra que a maior parte dos estudos afirmou que houve migração dos aditivos avaliados para os alimentos e ou simulantes alimentares. Entendemos com isso, que a exposição ocorre, diariamente, via alimentação, a doses mínimas e, por vezes, máxima, a substâncias sintéticas, a qual não se sabe ao certo, quais serão as consequências geradas para a saúde em longo prazo.

Com relação a avaliação da migração, uma das observações mais importantes foi referente a motilidade do BHT. Uma vez que o BHT é considerado um antioxidante extremamente móvel em filme de PEBD, especialmente quando comparado a um antioxidante natural, como o α -tocoferol e esse, representando uma substância inofensiva, com uma taxa comparativamente baixa de migração para os alimentos é um substituto adequado para o BHT, como um antioxidante em plásticos, acreditamos ser mais benéfico a utilização do mesmo nos filmes para alimentos, especialmente no PEBD, com a suspensão do uso do BHT.

No E39, houve um erro na designação do LME do BHT, como sendo 2 mg kg^{-1} em alimentos secos, porém, na realidade, seria 3 mg kg^{-1} .

A despeito dos tipos de embalagens avaliadas nos artigos elegíveis, foi possível concluir qual tipo de polímero promove maior taxa de migração de antioxidantes, sendo o PEBD seguido por PEAD e, que todos os fatores associados a embalagem, podem influenciar na migração, como por exemplo, a densidade da embalagem, sua espessura, tempo de contato entre esta e o alimento, entre outros.

Com relação ao método analítico, foi visto que nenhuma técnica analítica sozinha é adequada para avaliar todos os migrantes em potencial, ou seja, uma única técnica nunca pode fornecer todas as informações necessárias, portanto embora seja preconizado o uso de várias técnicas de caracterização combinadas para análise precisa dos antioxidantes, dos 44 artigos

que fizeram parte deste estudo, somente 34 combinaram mais de uma técnica (2 a 4) para a caracterização de antioxidantes. Também, os testes de migração precisam ser realizados nas piores condições previsíveis de uso do material, sendo assim, todos os estudos utilizaram os testes de forma a levar a resina ao seu limite.

Segundo a avaliação da metodologia utilizada na análise dos antioxidantes, vimos ser fundamental a validação dos protocolos de migração e todos os estudos avaliados realizaram validação de algum critério.

No que concerne a avaliação da migração por tipo de simulante, os níveis de migração dos antioxidantes, em simulantes, foram maiores do que aqueles apresentados nos alimentos em todas as temperaturas avaliadas, portanto, vimos que o uso de simulantes em estudos de migração fornece uma boa margem de segurança.

Uma das evidências mais importantes sobre o comportamento dos antioxidantes foi a maior tendência de migração do antioxidante em alimento/simulante gorduroso. Em todos os artigos, onde foi analisada a migração de antioxidantes para gordura, foi visto que quanto maior a quantidade de gordura do alimento ou do simulante, maior a taxa de migração, com aumento gradativo à medida que há elevação do tempo e da temperatura de exposição. A migração para alimentos gordurosos geralmente ocorre em taxas mais rápidas do que para alimentos aquosos, um fenômeno atribuído à penetração da gordura nos materiais de embalagem, facilitando a migração dos aditivos nos alimentos gordurosos. Além disso, os artigos também relataram que o PEBD não é adequado para embalagem de alimentos gordurosos e, a transferência de antioxidante para a gordura ou emulsões de gordura é maior nessa resina, seguida pelo PEAD.

Outro fator importante para a migração também vista na maior parte dos estudos está relacionada ao tamanho molecular dos aditivos, ou seja, quanto menor a molécula maior será a mobilidade e, portanto, maior tendência a migrar rapidamente de materiais de embalagem para alimentos, especialmente, para os alimentos gordurosos.

A elevação do tempo e da temperatura de exposição também contribuiu bastante para a migração nos estudos avaliados. Ademais, no caso dos solventes de baixo peso molecular existe uma tendência clara, a de que, quanto mais um solvente é absorvido no polímero, maior é a taxa de migração do aditivo para aquele solvente, portanto, a taxa de migração de antioxidante da resina depende do tipo de solvente de contato.

Tendo em vista que somente pouco mais de 17% dos estudos toxicológicos foram realizados com seres humanos, fica evidente a necessidade de uma avaliação mais adequada dos efeitos em longo prazo da exposição de antioxidante na fisiologia humana, especialmente

se levar em consideração o acelerado aumento da comercialização de produtos que compreendem os antioxidantes. Logo, ao analisarmos esta incompatibilidade, atentamos para o não cumprimento do princípio da precaução, o qual deve ser praticado para as situações de incerteza científica, quando há riscos de uma atividade ou riscos associados ao uso de um produto. Isso demonstra a necessidade de se impulsionar as pesquisas de toxicidade, especialmente com humanos, onde pouco tem sido publicado a respeito dos mecanismos de toxicidade dos antioxidantes.

Tanto o BHA quanto o BHT podem induzir danos no DNA - tendo isso sido mostrado em estudos com ratos - especialmente do estômago, cólon, bexiga e cérebro - o consumo vertiginoso desses aditivos pode extrapolar a IDA sugerida pelo JECFA acarretando em sérios riscos à saúde.

Por décadas, o BHA foi apontado como sendo um antioxidante relativamente seguro, contudo, é volátil e instável em altas temperaturas. Pode ser modificado em diferentes substâncias sendo ainda mais tóxico por alguns mecanismos, entrando no sistema biológico através do consumo de produtos alimentícios provocando efeitos negativos na saúde humana em altas doses. Porém, a consideração das normas relacionadas ao seu uso, por diversas instituições e organizações, causa confusão, imperando, ocasionalmente, um conflito sobre a utilização do BHA na literatura.

Conseqüentemente, o uso do BHA necessita ser bem comedido em todos os campos, principalmente nas indústrias de alimentos, especialmente pelo motivo dos estudos utilizando modelos de exposição humana, serem limitados. Em nosso estudo, somente três apresentaram modelos de exposição humana, quantificando o risco para seres humanos advindos da exposição aos antioxidantes. Ainda que a literatura de toxicologia animal sobre esses antioxidantes seja ampla, existem estudos insuficientes de reações adversas ao BHA e BHT em humanos.

Há muitos conflitos em relação aos efeitos dos antioxidantes, especialmente BHA, sendo assim, a maior parte dos estudos não aconselham, portanto, o uso do BHA para fins alimentares.

Ademais, os estudos avaliados somente abordaram os antioxidantes BHA, BHT e Irganox 1076, ou seja, não foram encontradas pesquisas, dentro do escopo sugerido, com os demais antioxidantes mencionados na metodologia. Portanto, em todo o período estudado, os autores não avaliaram outros antioxidantes utilizados pela indústria de embalagem.

A crescente aplicação de antioxidantes, especialmente na indústria de embalagens de alimentos, comprova que a exposição humana a estas substâncias é extremamente relevante e

a falta de mais pesquisas sobre o tema representa um grande desafio para a comunidade científica.

Alguns estudos concluíram ainda que o BHA sozinho não proporcionaria efeitos deletérios, porém quando combinado ao BHT, acarretaria em maiores níveis de BHA (20 vezes maiores do que quando o BHA foi ofertado sozinho) especialmente no tecido adiposo, portanto uma interação potencialmente tóxica entre esses dois antioxidantes alimentares ocorre e precisa ser mais estudada, sendo interessante do ponto de vista toxicológico, uma vez que, são amplamente utilizados em alimentos para consumo humano, como também, nas embalagens de polietileno, juntos.

Além disso, é importante que sejam efetuadas pesquisas com uma abrangência maior de antioxidantes, uma vez que os estudos têm conduzido suas avaliações nos mesmos tipos de antioxidantes.

Por fim, embora existam muitos efeitos benéficos dos antioxidantes como a proteção ao envelhecimento e a antitumorogenicidade, altas doses de alguns antioxidantes podem induzir ao comprometimento da reprodução com teratogênese, retardo do crescimento e alterações no metabolismo hepático.

Acreditamos que os resultados deste estudo tenham sido conclusivos quanto ao aspecto relacionado à migração de antioxidante uma vez que, as pesquisas utilizaram amplas faixas de tempo e temperatura, diversos simulantes e matrizes alimentares, como também, diversas técnicas com o propósito de averiguar a quantidade migrada. Quase 50% dos estudos da busca um apontaram migração acima do LME e 65% dos estudos toxicológicos relatam evidências toxicológicas, portanto são números expressivos que demonstram um risco potencial para algum tipo de dano. Além disso, analisando todos os estudos foi percebido valores migrados acima do LME que variaram de $3,42 \text{ mg kg}^{-1}$ a $231,7 \text{ mg kg}^{-1}$, ou seja, muito aquém do permitido pela legislação referente a alimentos em contato com resinas plásticas e, portanto, valores estes que podem proporcionar efeitos danosos na saúde humana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIPLAST. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DO PLÁSTICO. (2019). Perfil 2019. Recuperado em 26 de março de 2021. Disponível em: <http://www.abiplast.org.br/publicacoes/perfil2019/>.

ABRANTES, S. A.; PHILO, M. R.; DAMANT, A. P.; CASTLE, L. Application of Capillary Electrophoresis in Migration Studies of Food Contact Materials - Part 1: Substituted Phenolic Additives. *J. High Resol. Chromatogr.*, v.20, p. 270-274, 1997.

ABRANTES, S. M. P. Uso da eletroforese capilar para a determinação da migração química em alimentos em contato com embalagens. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, p. 186, Rio de Janeiro, 1998.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia nº 23 - versão 1. Guia para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes, 2019a.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RDC nº 91, de 11 de maio de 2001. Dispõe sobre o Regulamento Técnico que se aplica a embalagens e equipamentos que entram em contato direto com alimentos durante sua produção, elaboração, fracionamento, armazenamento, distribuição, comercialização e consumo. Brasília, 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RDC nº 123, de 19 de junho de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Embalagens e Equipamentos Elastoméricos em Contato com Alimentos. D.O.U. - Diário Oficial da União, Poder Executivo, 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RDC nº 281, de 29 de abril de 2019. Autoriza o uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia em diversas categorias de alimentos. Brasília, 2019b.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RDC nº 326. Dispõem sobre a lista positiva de aditivos destinados à elaboração de materiais plásticos e revestimentos poliméricos em contato com alimentos e dá outras providências. Brasília, 2019c.

ANDRADE, W. Uso da radiação ionizante em polímeros de embalagens: conhecimento social: uma análise qualitativa. Dissertação (Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações) - IPEN, Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

ANSAR, S.; IQBAL. M. Ameliorative effect of butylated hydroxyanisole against ferric nitrilotriacetate-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology and Industrial Health*, p. 1-7, 2014.

ANSAR, S.; IQBAL. M. Antioxidant and nephroprotective potential of butylated hydroxyanisole against ferric nitrilotriacetate-induced oxidative stress and early tumor events. *Toxicology and Industrial Health*, v.35, n.4, p. 448-453, 2016.

- ANVISA, 2020. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/alimentos/embalagens#:~:text=De%20acordo%20com%20o%20artigo,envolvidas%20no%20processo%20de%20produ%C3%A7%C3%A3o>.
- BAILEY, A. E.; BAILEY'S. Industrial Oil and Fat Products, 5th ed., John Wiley: New York, 1996, vol. 3.
- BAILEY, L. A.; LIN, J. F.; GIACIN, J. R. The Mass Transfer of 3, 5-Di-Tertiary-Butyl-4-Hydroxy Toluene and α -Tocopherol from Coextrusion Film Structures. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, v.38, n.2, p. 201-219, 1999.
- BALAN, G. C.; UENO, C. T.; KATSUDA, M. S.; YAMASHITA, F.; SAHANAKA, L. S. Elaboração e aplicação de filme à base de amido na conservação de queijo muçarela. In: OLIVEIRA, A. F.; STORTO, L. J. Tópicos em ciência e tecnologia de alimentos: resultados de pesquisas acadêmicas, volume I. São Paulo: Edgard Blücher Ltda, 2016, p. 255-281.
- BANNWART, G. C. M. Avaliação da ingestão potencial dos antioxidantes butil hidroxianisol, butil hidroxitolueno e ter-butil Hidroquinona. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP, 2000.
- BARAN, A.; YILDIRIM, S.; GHOSIGHAREHAGHAJI, A.; BOLAT, I.; SULUKAN, E.; CEYHUN, S. B. An approach to evaluating the potential teratogenic and neurotoxic mechanism of BHA based on apoptosis induced by oxidative stress in zebrafish embryo (Danio rerio). *Human and Experimental Toxicology*, p. 1-14, 2020.
- 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.
- BARBOSA, A. O.; COSTA, E. A. Os sentidos de segurança sanitária no discurso da agência nacional de vigilância sanitária. *Ciência & Saúde Coletiva*, v.15, Supl. 3, p. 3361-3370, 2010.
- BARBOSA, L. A.; DREGER, A. A.; SCHNEIDER, E. L.; MORISSO, F. D. P.; SANTANA, R. M. C. Polietileno de baixa densidade – PEBD: mercado, produção, principais propriedades e aplicações. *Rev. Espacios*, v.38, n.17, p.10, 2017. ISSN: 07981015.
- 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. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2010.
- BARROS, S. B. M.; DAVINO, S. C. Avaliação da toxicidade. In: OGA, S. Fundamentos de toxicologia. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. cap. 1.5. p. 57-68.
- BECK, U. Risk society. Towards a new modernity. Londres: Sage Publications, 1992.
- BEGLEY, T.; CASTLE, L.; FEIGENBAUM, A.; FRANZ, R.; HINRICHS, K.; LICKLY, T.; MERCEA, P.; MILANA, M.; O'BRIEN, A.; REBRE, S.; RIJK, R.; PIRINGER, O. Evaluation

of migration models that might be used in support of regulation for food-contact plastics, *Food Additives & Contaminants*, v.22, n.1, p. 73-90, 2005.

BELDÍ, G.; PASTORELLI, S.; FRANCHINI, F.; SIMONEAU, C. Time- and temperature-dependent migration studies of Irganox 1076 from plastics into foods and food simulants. *Food Additives & Contaminants: Part A*, v.29, n.5, p. 836-845, 2012.

BIEBER, W. D.; FIGGE, K.; KOCH, J. Interaction between plastics packaging materials and foodstuffs with different fat content and fat release properties. *Food Additives & Contaminants*, v.2, n.2, p. 113-124, 1985.

BIEBER, W. D.; FREYTAG, W.; FIGGE, K.; VOM BRUCK, C. G. Transfer of additives from plastics material into foodstuffs and into food simulants. A comparison. *Fd Chem. Toxic.* V.22, n.9. p. 737-742, 1984.

BOSCO, E.; FERREIRA, L. Sociedade mundial de risco: teoria, críticas e desafios. *Sociologias*, v.18, n.42, p. 232-264, 2016.

BRANDSCH, J.; MERCEA, P.; RÜTER, M.; TOSA, V.; PIRINGER, O. Migration modelling as a tool for quality assurance of food packaging. *Food Additives and Contaminants*, v.19, S1, p. 29-41, 2002.

BRASIL. Decreto-lei nº 212 de fevereiro de 1967. Dispõe sobre Medidas de Segurança Sanitária do País. *Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF*, 1967.

BREKKE, O. L.; ESPEVIK, T.; BJERVE, K. S. Butylated hydroxyanisole inhibits tumor necrosis factor-induced cytotoxicity and arachidonic acid release. *Lipids*, v.29, n.2, p. 91-102, 1994.

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

CAMPEBELL, R. C.; PEIRÓ, J. R.; ROSA, P. C. S.; VALADÃO, C. A. A.; BECHARA, G. H. Endotoxemia por lipopolissacarídeo de *Escherichia coli*, em equinos: efeitos de antiinflamatórios nas concentrações sérica e peritoneal do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.4, p.837-843, 2007.

CAMPOS, R. C.; GRINBERG, P. Acoplamento cromatografia gasosa - Espectrometria de absorção atômica em estudos de especiação: uma revisão. *Química Nova*, v. 24, n. 2, p. 220-227, 2001.

CARDOSO, J. R. Revisão sistemática e prática baseada em evidências na tomada de decisão em saúde. *Rev. Fisioterapia e Pesquisa*, v.17, nº. 1, jan./Mar., São Paulo, 2010.

CASTELLI, M. G.; BENFENATI, E.; PASTORELLI, R.; SALMONA, M.; FANELLI, R. Kinetics of 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (BHA) in man. *Fd Chem. Toxc.* V.22, n.11, p. 901-904, 1984.

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, Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 40, n. 3, jul./set., 2004.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 28, n.1, p.11-23, 2007.

COLTRO, L.; MACHADO, M. P. Migração específica de antioxidante de embalagens plásticas para alimentos. *Rev. Polímeros*, v.21, n.5, p. 390-397, 2011.

CONACHER, H. B. S.; IVERSON, F.; LAU, P. Y.; PAGE, P. D. Levels of BHA and BHT and animal adipose tissue: interspecies extrapolation. *Fd. Chem. Toxic.* v.24, n.10/11, p. 1159-1162, 1986.

CONSTITUIÇÃO DA REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL. Brasília. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 05 out. 1988.

COOPER, I.; GOODSON, A.; O'BRIEN, A. Specific migration testing with alternative fatty food simulants *Food Additives and Contaminants*, v.15, n.1, p. 72-78, 1998.

COUNCIL DIRECTIVE 82/711/ECC. Laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastics materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. *Off J Eur Comm L297*, p.26-30, 31 Oct 1982.

COUNCIL DIRECTIVE 85/572/EEC. 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. *Off J Eur Comm L327*, 31 Dec 1985, p.14-21.

COMMISSION DIRECTIVE 90/128/EEC. Relating to plastics materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. *Off J Eur Comm L349*, 13 Dec 1990, p. 26-47.

CORDEIRO, A. M.; OLIVEIRA, G. M.; RENTÉRIA, J. M.; GUIMARÃES, C. A. Revisão sistemática: uma revisão narrativa. *Comunicação Científica*, v. 34, nº 6, Nov./Dez., 2007.

COCHRANE. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* 4.2.5, 2006.

CRUZ, J. M.; SANCHES SILVA, A.; SENDÓN GARCIA, R.; FRANZ, R.; PASEIRO LOSADA, P. Studies of mass transport of model chemicals from packaging into and within cheeses. *Journal of Food Engineering*, v.87, p. 107-115, 2008.

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

DASSARMAA, B.; NANDIB, D.; GANGOPADHYAYC, S.; SAMANTA, S. Hepatoprotective effect of food preservatives (butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene) on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rat. *Toxicology Reports*, v.5, p. 31–37, 2018.

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 União: Poder Executivo*, Brasília, DF, 19 abr. 1999b.

DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO, M. C.; RENATA FERREIRA TAKAHASHI, MARIA RITA BERTOLOZZI. Revisão sistemática: noções gerais. *Rev. Esc Enferm USP*, v.45, n.5, p.1260-1266, 2011.

DENNY, K. H.; STEWART, C. W. Chapter 5 - Acute, Subacute, Subchronic, and Chronic General Toxicity Testing for Preclinical Drug Development. In: *A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development*. Second Edition. Boston: Ed Ali Said Faqi, Academic Press. 2017, p. 109-127.

DIAS, D. A. B. Migração de contaminantes de materiais de embalagem. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Portugal, 2016.

DOPICO-GARCÍA, M. S.; LÓPEZ-VILARIÑO, J. M.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. V. Determination of antioxidant migration levels from low-density polyethylene films into food simulants. *Journal of Chromatography A*, 1018, p. 53-62, 2003.

DOPICO-GARCÍA, M. S.; LÓPEZ-VILARIÑO, J. M.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, M. V. Antioxidant Content of and Migration from Commercial Polyethylene, Polypropylene, and Polyvinyl Chloride Packages. *J. Agric. Food Chem.*, v.55, p. 3225-3231, 2007.

DOS SANTOS, R. C.; AMARANTE, J. G. M. C. C.; KATO, H. T. Design management: Uma revisão sistemática da produção científica internacional. *Rev. Espacios*, v. 37, nº 13, p.16, 2016.

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. *J Epidemiol Community Health*. 1998; 52 (6): 377-84.

ENV/JM/MONO (2005)14, 96pp. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development, 2005.

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 condicionam alimentos gordurosos. *Revista Higiene Alimentar*, v. 20 n.139, 2006.

ESTEVEES, L. C. A importância da embalagem na decisão de compra. Dissertação (Mestrado em Marketing) – Escola Superior de Aveiro, Aveiro, 2012.

[EC] EUROPEAN COMMISSION. COMMISSION REGULATION (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food. *Off J Eur Union* L12: 1-89 (2011).

[EC] 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>. Acesso em 18 dez 2020.

[EC] EUROPEAN 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. In: Official Journal of the European Union. 2011b. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:026:0011:0014:EN:PDF>>. Acesso em 18 dez 2020.

[EC] 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 J Eur Union. L 165/1, 2004.

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.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v. 19, n. 1, p. 59-65, 2004.

FALBO, R. N.; KELLER, R. J. Sociedade de risco: avanços e limites da teoria de Ulrick Beck. *Quaestio Iuris*, v.8, n.3, p. 1992-2015, 2015.

FDA, 1995, Recommendations for chemistry data for indirect food additive petitions. Washington DC, June 1995.

FEIGENBAUM, A.; SCHOLLER, D.; BOUQUANT, J.; BRIGOT, G.; FERRIER, D.; FRANZ, R.; LILLEMARCK, L.; RIQUET, A. M.; PETERSEN, J. H.; VAN LIEROP, B.; YAGOUBI, N. Safety and quality of food contact materials. Part 1: Evaluation of analytical strategies to introduce migration testing into good manufacturing practice. *Food Additives and Contaminants*, v.19, n.2, p. 184-201, 2002.

FERNANDES, H. M.; VEIGA, L. H. S. Procedimentos integrados de risco e gerenciamento ambiental: processos e modelos. SciELO Books, Editora FIOCRUZ, p. 75-91, 1999.

FERREIRA, J. Effect of butylated hydroxyanisole on electron transport in rat liver mitochondria. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 40, NO. 4, pp. 677-684, 1990.

FIGGE, K.; FREYTAG, W. Additive migration from various plastics with different processing or properties into test fat HB 307. *Food Additives & Contaminants*, v1, n.4, p. 337-347, 1984. DOI: 10.1080/02652038409385864.

FIGGE, K.; KOCH, J.; FREYTAG, W. The suitability of simulants for foodstuffs, cosmetics and pharmaceutical products in migration studies. *Fd. Cosmet. Toxicol.* v.16, p. 135-142, 1978.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO), WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *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>. Acesso em: 07 de fevereiro de 2021.

FREIRE, M. T. A.; REYES, F. G. R.; KUZNESOF, P. M.; VETTORAZZI, G. Aspectos de legislação do mercado internacional de embalagens plásticas para alimentos. *Rev. Polímeros: Ciência e Tecnologia*, p. 42-52, 1998.

FREITAS, I. R. Caracterização físico-química e avaliação dos compostos bioativos de óleos brutos e refinados de soja, canola, milho e girassol. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência dos Alimentos) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus São José do Rio Preto. São José do Rio Preto, 2015.

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/bisphenol-anses-demonstrates-potential-health-risks-and-confirms-need-reduce-exposure>>. Acesso em 18 dez 2020.

FOOD SAFETY BRAZIL. Nova legislação de material plástico para contato com alimentos – sua empresa já se adequou? Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/nova-legislacao-material-plastico-alimentos/>>. Acesso em 25 de dez de 2021.

GALVÃO, T. F.; PEREIRA, M. G. Revisões sistemáticas da literatura: passos para a sua elaboração. *Rev. Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v.23, n° 1, pg. 183-184, Jan./Mar., Brasília, 2014.

GANDEK, T. P.; HATTON, T. A.; REID, R. C. Batch Extraction with Reaction: Phenolic Antioxidant Migration from Polyolefins to Water. 2. Experimental Results and Discussion. *Ind. Eng. Chem. Res.*, v.28, n.7, 1989.

GARCIA, I. V.; SÉNDON, V.; GARCÍA-FONTE, X. X.; PASEIRO, L. P.; RODRÍGUEZ, B. Q. A. Migration studies of butylated hydroxytoluene, tributyl acetylcitrate and dibutyl phthalate into food simulants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.99, n.4, p. 1586-1595, 2018.

GNANASEKHARAN, V.; FLOROS, J. D.; GLACIN, J. R. Migration and sorption phenomena in packaged foods. *Food Science and Nutrition*, v.37, n.6, p. 519-559, 2009.

GOODMAN, D. L.; MCDONNELL, J. T.; NELSON, H. S.; VAUGHAN, T. R.; WEBER, R. W. Chronic urticaria exacerbated by the antioxidant food preservatives, butylated hydroxyanisole (BHA) and butylated hydroxytoluene (BHT). *J. Allergy Clin. Immunol.* v.86, n.4, part 1, p. 570-575, 1990.

GOMES, I. S.; CAMINHA, I. O. Guia para estudos de revisão sistemática: uma opção metodológica para as Ciências do Movimento Humano. *Movimento*, Porto Alegre, v. 20, n. 01, p. 395-411, jan/mar de 2014.

GONÇALVES, C. M. Determinação do potencial de migração de embalagens plásticas para alimentos. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Pampa, Bagé, 2014.

GOYDAN, R.; SCHWOPE, A. D.; REID, R. C.; CRAMER, G. High-temperature migration of antioxidants from polyolefins. *Food Additives & Contaminants*, v.7, n.3, p. 323-337, 1990. DOI: 10.1080/02652039009373897.

GROH, K. J.; BACKHAUS, T.; CARNEY-ALMROTH, B.; GEUEKE, B.; INOSTROZA, P. A.; LENNQUIST, A.; LESLIE, H. A.; MAFFINI, M.; SLUNGE, D.; TRASANDE, L.; WARHURST, A. M.; MUNCKE, J. Overview of known plastic packaging-associated chemicals and their hazards. *Science of the Total Environment*, v.651, p. 3253-3268, 2019.

GUIDANCE ON BEST PRACTICES ON THE RISK ASSESSMENT OF NON INTENTIONALLY ADDED SUBSTANCES (NIAS) IN FOOD CONTACT MATERIALS AND ARTICLES. *ILSI Europe Report Series*. p. 1-70, 2015.

GUYATT, G. OXMAN, A. D.; AKL, E. A.; KUNZ, R.; VIST, G.; BROZEK, J.; NORRIS, S.; FALCK-YTTER, Y.; GLASZIOU, P.; DEBEER, H.; JAESCHKE, R.; RIND, D.; MEERPOHL, J.; DAHM, P.; SCHÜNEMANN, H. J. Grade guidelines: 1. Introduction-grade evidence profiles and summary of findings tables. *Journal of Clinical Epidemiology*, v. 64, n. 4, p. 383-394, 2011b.

HAITAO, C.; YING, L.; XIA, G.; WEILI, L.; YUNJUN, L. Antioxidant BHT Modelling Migration from Food Packaging of High Density Polyethylene Plastics into the Food Simulant. *Journal of Food Science and Technology*, v.9, n.7, p. 534-538, 2015.

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, p. 43-62, 2015.

HAM, J.; LIM, W.; YOU, S.; SONG, G.; Butylated hydroxyanisole induces testicular dysfunction in mouse testis cells by dysregulating calcium homeostasis and stimulating endoplasmic reticulum stress. *Science of the Total Environment*, v.702, p. 1-12, 2020.

HELMROTH, I. E.; DEKKER, M.; HANKEMEIER, T. Influence of solvent absorption on the migration of Irganox 1076 from LDPE, *Food Additives & Contaminants*, v.19, n.2, p. 176-183, 2002. DOI: 10.1080/02652030110066198.

HEALTH-EVIDENCE. CA. Developing an efficient search strategy using PICO. 209. Disponível em: <<http://www.healthevidence.org/practice-tools.aspx>>. Acesso em: 16 Dez. 2020.

HIGGINS, J. P. T.; et al. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. Version 5.1.0. (updated march 2011). 2011. Disponível em: <<http://handbook.cochrane.org>>. Acesso em 15 dez. 2017.

HIGGINS JPT, GREEN S, EDITORS. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions 4.2.6 [updated September 2006]. In: The Cochrane Library, Issue 4, 2006. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.

HO, Y.C.; YAM, K.L.; YOUNG, S.S.; ZAMBETTI, P.F. Release of Off-Flavor From Hdpe Bottles Comparison of Vitamin E, Irganox 1010 and Bht as Antioxidants On Release of Off-Flavor From Hdpe Bottles. *Journal of Plastic Film and Sheeting*. p. 194-212, 1994. DOI: 10.1177/875608799401000303.

IBARRA, V. G.; QUIRÓS, A. R. B.; LOSADA, P. P.; SENDÓN, R. Identification of intentionally and non-intentionally added substances in plastic packaging materials and their migration into food products. *Anal Bioanal Chem*. v.410, n.16, p. 3789-3803, 2018.

IBARRA, V. G.; SENDÓN, R.; GARCÍA-FONTE, X. X.; PASEIRO, L. P.; RODRÍGUEZ, B. Q. A. Migration studies of butylated hydroxytoluene, tributyl acetylcitrate and dibutyl phthalate into food simulants, 2018. Doi: 10.1002/jsfa.9337.

JAKUBOWSKA, N.; BELDÌ, G.; BACH, A. P.; SIMONEAU, C. Optimisation of an analytical method and results from the inter-laboratory comparison of the migration of regulated substances from food packaging into the new mandatory European Union simulant for dry foodstuffs. *Food Additives & Contaminants: Part A*, v.31, n.3, p. 546-555, 2014. DOI: 10.1080/19440049.2013.874046.

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

JEON, D. H.; PARK, G. Y.; KWAK, I. S.; LEE, K. H. L.; PARK, H. J. Antioxidants and their migration into food simulants on irradiated LLDPE film. *LWT*, v.40, p.151-156, 2007.

JEONG, S. H.; KIM, B. Y.; KANG, H. G.; KU, H. O.; CHO, J. H. Effects of butylated hydroxyanisole on the development and functions of reproductive system in rats. *Toxicology*, v.208, p. 49–62, 2005.

JOBLING, S.; REYNOLDS, T., WHITE, R.; PARKER, M. G.; SUMPTER, J. P. A Variety of Environmentally Persistent Chemicals, Including Some Phthalate Plasticizers, Are Weakly Estrogenic. *Environmental Health Perspectives*, v.103, n.6, p. 582-587, 1995.

JORGE, N. Embalagens para alimentos. *Cultura Acadêmica, Universidade Estadual Paulista, Pró-Reitoria de graduação, São Paulo*, 2013, 194p.

KESSLER, J. C. Estudo da cinética da migração de aditivos de embalagem de polipropileno à margarina. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação em engenharia de alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Medianeira. Medianeira, 2015.

KILLORAN, J., COHEN, J., WIERBICKI, E. Reliability of flexible packaging of radappertized beef under production conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 37, n. 1, p. 25-34, 1979.

LABRADOR, V.; FERNÁNDEZ FREIRE, P.; PÉREZ MARTÍN, J. J.; HAZEN, M. J. Cytotoxicity of butylated hydroxyanisole in Vero cells. *Cell Biol Toxicol*, v.23, p.189-199, 2006.

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

LAU, J., ROTHSTEIN, H. R., STEWART, G. B. History & progress of meta-analysis. In: Koricheva, J., Gurevitch, J., Mengersen, K. (Eds.), *Handbook of Meta-analysis in Ecology and Evolution*. Princeton University Press, Princeton Chapter 25, 1998.

LAWSON, G.; BARKBY, C. T.; LAWSON, C. Contaminant migration from food packaging laminates used for heat and rat meals. *Fresenius J Anal Chem*, v.354, p. 483-489, 1996.

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 União, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 set. 1976.*

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 União, Poder Executivo, Brasília, DF, 20 set. 1990a.*

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 União: Poder Executivo, Brasília, DF, 11 fev. 1999a.*

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 União, Poder Executivo, DF, Brasília, 28 mar. 2005a.*

LIANG, R.; HU, Y.; LI, G. Monodisperse pillar[5]arene-based polymeric sub-microsphere for on-line extraction coupling with high-performance liquid chromatography to determine antioxidants in the migration of food contact materials. *Journal of Chromatography A*, v.1625 p. 1-8, 2020.

LIBERATI, A.; ALTMAN, D. G.; TETZLAFF, J.; MULROW, C.; GOTZSCHE, P. C.; IOANNIDIS, J. P. A.; CLARKE, M.; DEVEREAUX, P. J.; KLEIJNEN, J.; MOHER, D. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta analysis of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *British Medical Journal*, v. 339, p. b2700, 2009.

LIMM, W.; HOLLIFIELD, H. C. Effects of temperature and mixing on polymer adjuvant migration to corn oil and water. *Food Additives & Contaminants*, v.12, n.4, p. 609-624, 1995. DOI: 10.1080/02652039509374349.

LINO, R. C. Desenvolvimento de filmes de metilcelulose incorporados por nanopartículas de poli- ϵ -caprolactona/ β -caroteno. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos. Florianópolis, 2012.

LINSSEN, J. P. H.; REITSMA, J. C. E.; COZIJNSEN, J. L. Research Note - Migration of Antioxidants from Polyolefins into Ethanolic Simulants. *Packag. Technol. Sci.* v.11, p.241-245, 1998.

LUCCHESI, G. Globalização e regulação sanitária: os rumos da vigilância sanitária no Brasil. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, 326 p., 2001.

MALAGUTTI, Cíntia. Embalagens. *Food Safety Brazil*. Conteúdo para Segurança de Alimentos. 14 de julho de 2017. Disponível em: <<https://foodsafetybrazil.org/101142-2/>>. Acesso em: 13 de dezembro de 2020.

MACHADO, M.P.; COLTRO, L.; PISSOLATO, C.; FAVARO, M. A. Determinação da migração específica de 3-(3,5-diter-butil-4-hidroxifenil) propionato de n-octadecila (Irganox 1076) em simulantes aquosos. Anais do 10º Congresso Brasileiro de Polímeros, Foz do Iguaçu, PR, outubro 2009.

MACHADO, P. A. L. O princípio da precaução e a avaliação de riscos. *Lusíada, Direito e Ambiente*, Lisboa, n.1, p. 275-295, 2008.

MAURICIO-IGLESIAS, M.; JANSANA, S.; PEYRON, S.; GONTARD, N.; GUILLARD, V. Effect of high-pressure/temperature (HP/T) treatments of in-package food on additive migration from conventional and bio-sourced materials. *Food additives and Contaminants*. v.27, n.1, p. 118-127, 2010. DOI: 10.1080/19440040903268054.

MENDES, J. M. “Ulrich Beck: a iminência do social e a sociedade do risco”. *Análise Social*, 214, L (1.º), pp. 211-215.

MEYER, O. Testing and assessment strategies, including alternative and new approaches. *Toxicology Letters*, 140-141, p. 21-30, 2003.

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

MOON, H. J.; PARK, W. H. Butylated hydroxyanisole inhibits the growth of HeLa cervical cancer cells via caspase-dependent apoptosis and GSH depletion. *Mol Cell Biochem*, v.349, p.179-186, 2011.

- MORAIS, L. O. Embalagens para alimentos contendo nanopartículas de prata representam perigo para a população humana? Uma revisão sistemática como subsídio para ações de vigilância sanitária. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz. Rio de Janeiro, 2018.
- MOURA, E. A. B. Avaliação do desempenho de embalagens para alimentos quando submetidas a tratamento por radiação ionizante. Tese (Doutorado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicação) - IPEN, Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- MOURA, N. AS.; VASCONCELOS, A. C. M.; BERNABÉ, B. M.; TEIXEIRA, L. J. Q.; SARAIVA, S. H. Ensaios toxicológicos: um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15; p. 1945-1959, 2012.
- MUNN, Z; MOOLA, S; RIITANO, D; LISY, K. The development of a critical appraisal tool for use in systematic reviews addressing questions of prevalence. *Int J Health Policy Manag*, v.3, n.3, p. 123-128, 2014.
- NAMIKI, M.; Antioxidants/antimutagens in food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **1990**, 29, 273.
- NASCIMENTO, E. S. Contribuição ao estudo da estabilização do polipropileno à radiação gama do cobalto-60 para aplicação em seringas descartáveis. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Área de concentração em Ciência e Tecnologia de Materiais, Campinas, 1999.
- NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. Butylated Hydroxyanisole Department of Health and Human Services, 2009. <http://ntp.niehs.nih.gov/go/roc>.
- NAVARRO, M. V. T. Conceito e Controle de risco à saúde. In: *Risco, radiodiagnóstico e vigilância sanitária*. Salvador: EDUFBA, 2009, p. 37-75. ISBN 978-85-232-0924-7.
- O'BRIEN, A.; COOPER, I. Practical experience in the use of mathematical models to predict migration of additives from food-contact polymers. *Food Additives and Contaminants*, v.19, n.63, 2002.
- O'BRIEN, A.; GOODSON, A.; COOPER, I. Polymer additive migration to foods - a direct comparison of experimental data and values calculated from migration models for high density polyethylene (HDPE). *Food Additives and Contaminants*, v.6, n.9, p. 367-380, 1999.
- OECD - ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Guidance Document on the Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment. OECD Series on Testing and Assessment, Number 34.
- OFFICE OF PREMARKET APPROVAL. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Food and Drug Administration. “Recommendations for Chemistry Data for Indirect Food Additive Petitions”, Washington D.C., 20204, p.33, 1995.

OLIVEIRA, W. S. “Estudo do potencial de migração de materiais plásticos utilizados para fabricação de mamadeiras”. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2013.

OMURA, K.; *J. Antioxidant synergism Between butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. Journal of the American Oil Chemists’ Society*, v. 72, p. 1565-1570, 1995.

PARK, S.; LEE, J. Y.; LIM, W.; YOU, S.; SONG, G. Butylated Hydroxyanisole Exerts Neurotoxic Effects by Promoting Cytosolic Calcium Accumulation and Endoplasmic Reticulum Stress in Astrocytes. *J. Agric. Food Chem.* v.67, p. 9618–9629, 2019.

PASQUALINI, C. D. Las células HeLa como prototipo del cultivo celular inmortalizado. *MEDICINA (Buenos Aires)*, v. 66, p. 487-488, 2004.

PATEIS, V. O.; BRACHT, L.; CASTRO, L. S.; SALLA, G. B. F.; COMAR, J. F.; PARISOTTO, A. V.; PERALTA, R. M.; BRACHT, A. The food additive BHA modifies energy metabolism in the perfused rat liver. *Toxicology Letters*, p. 1-45, 2018.

PETERS, M.D, et al. Guidance for conducting systematic scoping reviews. *Int J Evid Based Healthc.* v.13, n.3, p.141-6, 2015.

PINO, M. A.; BILLACK, B. REDUCTION OF VESICANT TOXICITY BY BUTYLATED HYDROXYANISOLE IN A-431 SKIN CELLS. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, v.27, p. 161–172, 2008.

PISANU, L. Influência do polietileno reciclado nas propriedades de peças obtidas pelo processo de rotomoldagem. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande, 2008.

POP, A.; KISS, B.; LOGHIN, F. Endocrine disrupting effects of butylated hydroxyanisole (BHA - E320). *Clujul Med.*, v.86, n.1, p. 16-20, 2013. DOI: PMCID: PMC4462476. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4462476/>.

PLASTICS EUROPE. Plastics – the Facts 2019/2020. Recuperado em 26 de março de 2021, de <https://www.plasticseurope.org/en/resources/publications/4312-plastics-facts-2020>.

PORTO, K. M. B. G. Efeitos da radiação gama (Cobalto-60) nas principais propriedades físicas e químicas de embalagens compostas por papel grau cirúrgico e filme plástico laminado, destinadas à esterilização de produtos para a saúde. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, autarquia associada à Universidade de São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear), São Paulo, 2013.

RAFECAS, M.; GUARDIOLA, F.; ILLERA, M.; CODONY, R.; BOATELLA, J.; J. Liquid chromatographic determination of phenolic antioxidants in bakery products, *Journal of chromatography. A*, v. 822, n. 2, p. 305-309, 1998.

RAMOS, A.; FARIA, P. M.; FARIA, A. Revisão Sistemática de Literatura: contributo para a inovação na investigação em ciências da educação. *Revista Diálogo Educacional*, vol. 14, nº. 41, jan./abril, pp. 17-36. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Paraná, Brasil, 2014.

RAZZOLINI, M. T. P.; NARDOCCI, A. C. Avaliação de risco microbiológico: etapas e sua aplicação na análise da qualidade da água. *Interfacehs, Revista de Gestão Integrada em Saúde do Trabalho e Meio Ambiente*, v.1, n.2, artigo 3, 2006.

REGULAMENTO UNIÃO EUROPÉIA, nº 10/2011, da Comissão de 14 de janeiro de 2011, relativo aos materiais e objetos de plástico destinados a entrar em contato com os alimentos. *Jornal Oficial da União Europeia*. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=celex%3A32011R0010#document1>.

REGULATION (EC) N°1935/2004 of the European Parliament and of the Council of 27 October 2004 on materials and articles intended to come into contact with food and repealing directives 80/590/EEC and 89/109/EEC, *Off. J. Eur. Union L338 (2004) 4–17*.

RESOLUÇÃO RDC N° 04, de 20, 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 União: Poder Executivo, Brasília, DF, 11 fev. 2009a*.

RESOLUÇÃO RDC N° 41, de 16 de setembro de 2011. Dispõe sobre a proibição de uso de bisfenol A em mamadeiras destinadas à 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+amaadeiras+com+BPA.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em 18 dez 2020.

RESOLUÇÃO RDC N° 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 União, Poder Executivo, Brasília, 11 nov. 2012b*.

ROBERTO, A. F. V. Lesões de extravasamento de terapêutica intravenosa com propriedades vesicantes. Trabalho final, Mestrado integrado de medicina. Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, 2014.

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.

VIEIRA, M. A. B.; CARRIJO, M. F. Aditivos Alimentares: conceitos, aplicações e toxicidade. Capítulo V - Antioxidantes e antimicrobianos como agentes preservativos, Editora FUCAMP, P. 98-109, Monte Carmelo, MG, 2013.

REINAS, I.; OLIVEIRA, J.; PEREIRA, J.; MACHADO, F.; POÇAS, M. F. Migration of two antioxidants from packaging into a solid food and into Tenax. *Food Control*, v.28, p. 333-337, 2012.

ROSA, F. M. L. Simulação numérica da migração de elementos metálicos e do monômero-caprolactama de embalagens poliméricas irradiadas para simulantes de alimentos. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Autarquia Associada à Universidade de São Paulo, 2008.

- RUBIO, L.; VALVERDE-SOM, L.; SARABIA, L. A.; ORTIZ, M. C. The behaviour of Tenax as food simulant in the migration of polymer additives from food contact materials by means of gas chromatography/mass spectrometry and PARAFAC. *Journal of Chromatography A*, 1589, P.18-29, 2019. doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.12.054>.
- SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. *Rev. bras. fisioter.*, São Carlos, v. 11, n. 1, p. 83-89, 2007.
- SANTOS, B. F. Criação e manejo de camundongos. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório: criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Fiocruz, p.115-8, 2002.
- SANTOS, M. F. Desenvolvimento de filmes monocamada PEBDL e PEAD antimicrobianos e atóxicos para aplicação em embalagens flexíveis. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Criciúma, 2013.
- SAPATEIRO, M. F.; PATEIS, V. O. Efeito do aditivo alimentar hidroxianisol (BHA) sobre a gliconeogênese no fígado de rato em perfusão isolada. 26º Encontro Anual de Iniciação Científica; 6º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior. Maringá, 2017.
- SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. et al. Embalagens plásticas flexíveis - principais polímeros e avaliação de propriedades. Campinas, ITAL/ CETEA, 267p., 2002.
- SCHWOPE, A. D.; TILL, D. E.; EHNHOLT, D. J.; SIDMAN, K. R.; WHELAN, R. H.; SCHWARTZ, P. S.; REID, R. C. Migration of BHT AND irganox 1010 from low-density polyethylene (LDPE) to foods and food-simulating liquids. *Fd Chem. Toxic.* v.25, n.4, pp. 317-326, 1987.
- SERRANO, N. O.; CABRERA, M. F. F.; OLMEDO, P. M. Disruptores endócrinos: el caso particular de los xenobióticos estrogênicos. II estrógenos sintéticos. *Rev. Salud Ambient*, v.1, n.2, p.64-72, 2001.
- SOTO-CANTÚ, C. D.; GRACIANO-VERDUGO, A. Z.; PERALTA, E.; ISLAS-RUBIO, A. R.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A.; GONZÁLEZ-LEÓN, SOTO-VALDEZ, H. Release of Butylated Hydroxytoluene from an Active Film Packaging to Asadero Cheese and Its Effect on Oxidation and Odor Stability. *J. Dairy Sci.* V.91, P. 11-19, 2008. doi:10.3168/jds.2007-0464.
- STOFFERS, N. H.; STÖRMER, A.; BRADLEY, E. L.; BRANDSCH, R.; COOPER, I.; LINSSEN, J. P. H.; FRANZ, R. Feasibility study for the development of certified reference materials for specific migration testing. Part 1: Initial migrant concentration and specific migration. *Food Additives & Contaminants*, v.21, n.12, p. 1203-1216, 2004. doi.org/10.1080/02652030400023911.
- SILBERGELD, E., SCHERER, R.W. Evidence-based toxicology: strait is the gate, but the road is worth taking. *ALTEX*. v.3, n.1, p. 67–73, 2013.
- SILVA, J. F. Discriminação forense de sacos de plástico: aplicação de métodos térmicos, espectroscópicos e de análise estatística multivariada. Dissertação (Mestrado em Química Forense) - Universidade de Coimbra, Departamento de Química, Coimbra, 2017.

STEPHENS, M. L. et al. The Emergence of Systematic Review in Toxicology. TOXICOLOGICAL SCIENCES. v.152, n.1, p.10–16, 2016.

STOKES, W. S. Humane endpoint for laboratory animals used in regulatory testing. ILAR J., 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.

TAKEMOTO, E. M. Y.; TEIXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Validação de metodologia para determinação simultânea dos antioxidantes sintéticos em óleos vegetais, margarinas e gorduras hidrogenadas por CLAE/UV. Química Nova, v. 32, n. 5, p. 1189-1194, 2009.

TILL, D. E.; EHNHOLT, D. J.; REID, R. C.; SCHWARTZ, P. S.; SLDMAN, K. R.; SCHWOPE, A. D.; WHELAN, R. H. Migration of BHT Antioxidant from High Density Polyethylene to Foods and Food Simulants. Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev., v.21, n.1, 1982.

THOMPSON, D. C.; TRUSH, M. A. Enhancement of Butylated Hydroxytoluene-Induced Mouse Lung Damage by Butylated Hydroxyanisole. Toxicology and Applied pharmacology, v.96, p. 115-121, 1988.

TORRES-ARREOLA, W.; SOTO-VALDEZ, H.; PERALTA, E.; CARDENAS-LÓPEZ, J. L.; EZQUERRA-BRAUER, J. M. Effect of a low density polyethylene film containing butylated hydroxytoluene on lipid oxidation and proteins of sierra fish (*Scomberomorus sierra*) muscle during frozen storage. J. Agric. Food Chem., v.55, p. 6140-6146, 2007.

TURELHA, C. C. B. Desenvolvimento e avaliação de filmes incorporados de extratos naturais e determinação da oxidação em filés de tilápia. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Goiânia, 2019.

UNITED STATES NUCLEAR REGULATORY COMMISSION (U.S.NRC). Gray (GY). Acesso em: 22 de outubro de 2021. Disponível em: <https://www.nrc.gov/reading-rm/basic-ref/glossary/gray-gy.html>.

VÁSQUEZ, S. M. P. Las eternas células HeLa, el dilema ético de hoy. Rev Med Hondur, v. 82, n. 4, 2014.

VERA, P.; CANELLAS, E.; BARKNOWITZ, G.; GOSHAWK, J.; NERÍN, C. Ion-Mobility Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry: A Novel Technique Applied to Migration of Nonintentionally Added Substances from Polyethylene Films Intended for Use as Food Packaging. Analytical chemistry, v.91, p. 12741-12751, 2019.

VERHAGEN, H., BECKERS, H. H. G.; COMUTH, P. A. W. V.; HOOR, F.; HENDERSON, P. T.; KLEINJANS, J. C. C. Disposition of single oral doses of butylated hydroxytoluene in man and rat. Food and chemical Toxicology, Exeter, v.27, n.12, p. 765-772, 1989.

VITERBO, L. M. F. Desenvolvimento de instrumento quantitativo para inspeção sanitária em serviços de alimentação. Dissertação (Mestrado em Tecnologias em Saúde) – Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública. Salvador, 2017.

VITRAC, O.; CHALLE, B.; LEBLANC, J. C.; FEIGENBAUM, A. Contamination of packaged food by substances migrating from a direct-contact plastic layer: Assessment using a generic quantitative household scale methodology. *Food Additives & Contaminants*, v.24, n.1, p.75-9.

VITRAC, O.; MOUGHARBEL, A.; FEIGENBAUM, A. Interfacial mass transport properties which control the migration of packaging constituents into foodstuffs. *Journal of food Engineering*, v.79, p. 1048-1064, 2007.

VON GOETZ, N. et al. Migration of silver from commercial plastic food containers and implications for consumer exposure assessment. *Migration of silver from commercial plastic food containers and implications for consumer exposure assessment. Food Additives & Contaminants: Part A*. v. 30, n. 3, p. 612–620, 2013.

VULIC, I., G. VITARELLI, AND J. ZENNER. Structure-property relationships: Phenolic antioxidants with high efficiency and low color contribution. *Polym. Degrad. Stab.*, v.78, p. 27-34, 2002.

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.

WESSLING, C.; NIELSEN, T.; LEUFVÉN, A.; JÄGERSTAD, M. Mobility of α -tocopherol and BHT in LDPE in contact with fatty food simulants. *Food Additives & Contaminants*, v.15, n.6, p. 709-715, 1998. DOI: 10.1080/02652039809374701.

WHALEY, P.; HALSALL, C.; ÅGERSTRAND, M.; AIASSA, E.; BENFORD, D.; BILOTTA, G.; COGGON, D.; COLLINS, C.; DEMPSEY, C.; DUARTE-DAVIDSON, R.; FITZGERALD, R.; GALAY-BURGOS, M.; GEE, D.; HOFFMANN, S.; LAM, J.; LASSERSON, T.; LEVY, L.; LIPWORTH, S.; ROSS, S. M.; MARTIN, O.; MEADS, C.; MEYER-BARON, M.; MILLER, J.; PEASE, C.; ROONEY, A.; SAPIETS, A.; STEWART, G.; TAYLOR, D. Implementing systematic review techniques in chemical risk assessment: Challenges, opportunities and recommendations. *Environment International*. v.92-93, p.556-564, 2015.

WHO/FAO. Toxicological and health aspects of bisphenol A. World Health Organization, Ottawa, Canadá, 2011.

YAM, K. L.; HO, Y. C.; YOUNG, S. S.; ZAMBETTI, P. F. Effect of Resin Types and Antioxidants on Release of Off-Flavor From HDPE Bottles, *Polymer-Plastics. Technology and Engineering*, v.35, n.5, p. 727-755, 1996. DOI: 10.1080/03602559608004057.

ANEXO A
TESTE DE RELEVÂNCIA I
(Aplicado ao título e ao resumo dos estudos)

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 antioxidantes em embalagem de polietileno?		
4. O artigo foi publicado em idioma: inglês, português ou espanhol?		
5. Este trabalho deve ser selecionado para leitura na íntegra?		

Assinatura do avaliador

ANEXO A1
TESTE DE RELEVÂNCIA I
(Aplicado ao título e ao resumo dos estudos)

Questões	Sim	Não
1. A publicação está no formato de artigo científico?		
2. A publicação está disponível na íntegra?		
3. O estudo avalia o antioxidante proposto por este trabalho e sua possível toxicidade?		
4. O artigo foi publicado em idioma: inglês, português ou espanhol?		
5. Este trabalho deve ser selecionado para leitura na íntegra?		

Assinatura do avaliador

ANEXO B
TESTE DE RELEVÂNCIA II
(Aplicado aos estudos na íntegra)

Questões	Sim	Não
1. Os objetivos do estudo têm relação com a questão que está sendo estudada, que é a migração dos antioxidantes propostos da embalagem de polietileno 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

ANEXO B1
TESTE DE RELEVÂNCIA II
(Aplicado aos estudos na íntegra)

Questões	Sim	Não
1. Os objetivos do estudo têm relação com a questão que está sendo estudada, que é a avaliação dos antioxidantes propostos e a sua possível toxicidade?		
2. Os resultados do estudo contribuem para responder à questão norteadora desta revisão sistemática?		

Parecer do avaliador: Inclusão () - Exclusão ()

Assinatura do avaliador

ANEXO C
ROTEIRO PARA EXTRAÇÃO DE INFORMAÇÕES DOS ESTUDOS

1. Tipo de polímero da embalagem:	
2. Tipo de embalagem:	
3. Qual o antioxidante presente na embalagem:	
4. Dados qualitativos dos alimentos utilizados e dados qualitativos e quantitativos dos simulantes utilizados:	
3. Condições do teste:	
6. Técnicas utilizadas para caracterização e quantificação do antioxidante presente na embalagem e no alimento:	
7. Descrição do método utilizado (referência):	
8. Concentração inicial do antioxidante na embalagem:	
9. Descrição da evidência de migração pelo estudo:	
10. Resultados quantitativos da migração de antioxidante:	

ANEXO C1
ROTEIRO PARA EXTRAÇÃO DE INFORMAÇÕES DOS ESTUDOS
TOXICOLÓGICOS

1. Há menção de embalagem de polietileno no estudo?	
2. Qual o tipo de embalagem?	
3. Qual o antioxidante estudado?	
4. Qual a dose do antioxidante avaliada?	
5. O estudo utiliza animais ou não?	
6. Quais animais são utilizados?	
7. Descrição de toxicidade provocada pelo antioxidante?	
8. Conclusão do estudo em relação ao antioxidante avaliado?	

ANEXO D
AValiação DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS INCLuíDOS

Questões	Pontuação
1. O delineamento da pesquisa está bem definido com foco na migração de antioxidantes?	
2. Há a descrição dos equipamentos utilizados?	
3. Há descrição da metodologia utilizada para a avaliação do teste de migração do antioxidante?	
4. O teste de migração está baseado em algum regulamento?	
5. Há descrição dos reagentes utilizados?	
6. Foi feita a caracterização do antioxidante na embalagem testada?	
7. A caracterização do antioxidante foi feita com pelo menos três técnicas?	
8. Há descrição do tipo de embalagem avaliada?	
9. O artigo relata como o antioxidante foi incorporado na embalagem?	
10. A quantificação do antioxidante está descrita no estudo?	
11. O artigo determina qual o antioxidante na embalagem testada e no alimento?	
12. O artigo utiliza padrão de referência de antioxidante?	
13. Os métodos utilizados são validados?	
14. O estudo contempla análise estatística?	
Total	

Alta (10 a 14 pontos); Média (6 a 9 pontos); Baixa (0 a 5 pontos).

ANEXO D1
AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS
TOXICOLÓGICOS INCLUÍDOS

Questões	Pontuação
1. O delineamento da pesquisa está bem definido com foco nos antioxidantes propostos?	
2. Há descrição dos antioxidantes utilizados?	
3. Há descrição da metodologia utilizada para a avaliação dos antioxidantes?	
4. Há a descrição dos equipamentos utilizados?	
5. O artigo utiliza padrão de referência do antioxidante?	
6. O estudo foi conduzido com no mínimo duas espécies de mamíferos?*	
7. O animal utilizado é considerado espécie apropriada para a extrapolação de dados para humanos?	
8. O estudo passou por comitê de ética?	
9. Há avaliação da possível toxicidade produzida pelo antioxidante?	
10. Há determinação dos efeitos adversos do antioxidante?	
11. Há caracterização do perfil toxicológico do antioxidante?	
12. Os métodos utilizados são validados?	
13. O estudo contempla análise estatística?	
14. Utilização de algum regulamento?	
Total	

Alta (10 a 14 pontos); Média (6 a 9 pontos); Baixa (0 a 5 pontos).

*ANVISA, 2013.

ANEXO E
CHECKLIST DO PRISMA

QUADRO I: Itens do *Checklist* a serem incluídos no relato de revisão sistemática.

Seção/Tópico	Nº	Item do <i>Checklist</i>	Relatado na página nº
TÍTULO			
Título	1	Identifique o artigo como uma revisão sistemática, metanálise ou ambos.	
RESUMO			
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.	
INTRODUÇÃO			
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 do estudo (PICOS).	

Seção/Tópico	Nº	Item do Checklist	Relatado na página nº
MÉTODOS			
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.	
Critérios 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 dos artigos (ex. formas para o piloto, independente, em duplicata) e todos os processos para obtenção e confirmação de dados dos pesquisadores.	

Seção/Tópico	Nº	Item do <i>Checklist</i>	Relatado na página nº
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 resultado 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.	

Seção/Tópico	Nº	Item do Checklist	Relatado na página nº
RESULTADOS			
Seleção de estudos	17	Apresente número 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).	
Análises adicionais	23	Apresente resultados de análises adicionais, se realizadas (ex. análise de sensibilidade ou subgrupos, metarregressão – ver item 16).	

Seção/Tópico	Nº	Item do <i>Checklist</i>	Relatado na página nº
DISCUSSÃO			
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 política).	
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.	
FINANCIAMENTO			
Financiamento	27	Descreva fontes de financiamento para a revisão sistemática e outros suportes (ex. suprimento de dados), papel dos financiadores na revisão sistemática.	