



Daniela Martins Neves Reis

## Contaminação de alimentos veiculada por embalagens: o caso da ITX

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Celeste de Matos Lino e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Daniela Martins Neves Reis

# Contaminação de alimentos veiculada por embalagens: o caso da ITX

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Celeste de Matos Lino e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Daniela Martins Neves Reis, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011164804, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 13 de setembro de 2016.

---

*(Daniela Martins Neves Reis)*

**O Orientadora da Monografia:**

---

(Professora Doutora Celeste de Matos Lino)

**A Aluna:**

---

(Daniela Martins Neves Reis)

## AGRADECIMENTOS

“Só se pode alcançar um grande êxito  
quando nos mantemos fiéis a nós mesmos.”

Friedrich Nietzsche

À minha orientadora, Professora Doutora Celeste Lino, por todos os conhecimentos transmitidos, por toda a compreensão e atenção dispensada e pela sua simpatia um grande obrigada!

A todos os Professores e Professoras da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, obrigada pelos conhecimentos que me transmitiram ao longo destes cinco anos. A todos os auxiliares e membros da equipa desta Faculdade, obrigada pela vossa simpatia e disponibilidade.

Aos amigos que Coimbra me deu quero agradecer por todos os momentos que vivemos juntos e por tudo o que fizeram por mim, especialmente aquelas palavras calorosas nos momentos mais difíceis porque foi muito graças a vocês que consegui chegar aqui!

Aos meus pais e à minha irmã um grande obrigada por nunca terem duvidado de mim e das minhas capacidades e por estarem ao meu lado no final desta etapa tão importante da minha vida!

E por último, mas definitivamente não menos importante, aos meus melhores amigos, aqueles que cresceram comigo, que sempre tiveram um ombro onde eu pudesse chorar, que não me deixaram desistir nos meus momentos de desalento, que souberam e sabem sempre o que dizer qualquer que seja a situação, que vivem comigo as minhas vitórias, mas também me ajudam a ultrapassar as minhas derrotas e que em momento algum duvidaram que eu chegaria aqui! Um obrigado é tão pouco! São os melhores do mundo!

## ÍNDICE

ABREVIATURAS	2
RESUMO	3
ABSTRACT	3
1. INTRODUÇÃO	4
2. ISOPROPILTIOXANTONA	5
2.1 Caraterísticas físico-químicas	5
2.2 Toxicidade	6
2.3 Incidência e Avaliação da exposição	8
2.4 Metodologias analíticas	11
3. CONCLUSÃO	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

## **ABREVIATURAS**

EFSA – *European Food Safety Authority*

GABA – *Ácido gama-aminobutírico*

GC-MS – *Gas chromatography-mass spectrometry*

HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*

HPLC-DAD/FLD – *High Performance Liquid Chromatography – Diode Array Detector / Fluorescence Detector*

ITX – *Isopropiltioxantona*

LC-MS/MS – *Liquid chromatography-mass spectrometry*

PLE – *Pressurized Liquid Extraction*

RASFF – *Rapid Alert System on Food and Feed*

UV – *Ultravioleta*

## RESUMO

A Isopropiltioxantona (ITX) é um fotoiniciador utilizado pela indústria no processo de impressão das cartonagens, quando são utilizadas tintas curadas por raios ultravioleta (UV).

Após a primeira detecção da ITX em leite de fórmula, era importante conhecer o mecanismo de migração para os alimentos e concluiu-se que o mais provável seria através do chamado *set-off effect* que ocorre durante o armazenamento das embalagens.

Existem diversos estudos de toxicidade da ITX, mas ainda nenhum deles permitiu que se retirasse uma conclusão definitiva sobre os seus riscos para a saúde.

Foi estudada a incidência da ITX em leites, produtos à base de leite, sumos e néctares de fruta. Os latentes por serem alimentados exclusivamente com leite são os que estão mais expostos à ITX seguindo-se as crianças e, por fim, os adultos.

As metodologias utilizadas para a extração da ITX têm sido várias. No entanto, em termos de detecção e quantificação a mais utilizada foi a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa.

## ABSTRACT

Isopropylthioxantone (ITX) is a photoinitiator used by the industry on carton printing processes, when the inks used are UV-cured.

After the first detection in formula milk, it was important to know how it can migrate from packaging to food and it was concluded that the most probable mechanism is the one called set-off effect, which occurs during the cartons storage.

There are some studies about ITX toxicity but none of them allowed to make definitive conclusions about its health risks.

The incidence was studied in milk, milk-based products, juices and fruit nectars. The infants fed exclusively with formula milk are the most exposed at ITX, followed by children, and finally by adults.

To extract ITX several methodologies were used, however in terms of detection and quantification the most used was gas chromatography coupled to mass spectrometry.



## I. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos foram lançados diversos alarmes relativos à segurança alimentar, nomeadamente no que toca à contaminação dos alimentos por parte das embalagens que os contêm. São lançados regularmente novos alarmes sobre possíveis novos contaminantes (Sagrati *et al.*, 2006).

A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) presta aconselhamento científico independente sobre os riscos associados aos alimentos. O seu aconselhamento, por dizer respeito à legislação e às políticas europeias, protege os consumidores dos riscos na cadeia alimentar.

As tintas aplicadas em materiais de embalagens de alimentos não estão reguladas por nenhuma legislação Europeia específica (Sagrati *et al.*, 2006). Contudo, de acordo com o Regulamento (CE) No. 1935/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27 de Outubro de 2004, relativo aos materiais e objetos destinados a entrar em contacto com os alimentos, os materiais e objetos, incluindo os materiais e objetos ativos e inteligentes, devem ser fabricados em conformidade com as boas práticas de fabrico de modo a que, em condições normais e previsíveis de utilização, não transfiram os seus constituintes para os alimentos em quantidades que possam representar um perigo para a saúde humana, provocar uma alteração inaceitável da composição dos alimentos ou provocar uma deterioração das suas características organoléticas.

O risco é definido como a probabilidade de que, em determinadas condições de exposição, um perigo intrínseco irá representar uma ameaça para a saúde humana. É uma função dos perigos e da exposição, sendo o perigo definido como o potencial de um agente ou uma situação causar um efeito/evento adverso. Recentemente, a EFSA definiu o termo de risco emergente como o risco resultante de uma exposição significativa a um novo perigo recentemente identificado. Com o aparecimento de riscos emergentes de origem alimentar, é importante que existam sistemas de alerta precoces com o objetivo de evitar crises e catástrofes, fazendo controlo dos danos ao prever as possíveis implicações de determinado acontecimento (Marvin *et al.*, 2009).

Atualmente já existem vários sistemas de alerta precoces, uns focados no “ponto final” e outros focados no perigo que determinado acontecimento apresenta. De entre os existentes, o que melhor se adequa à contaminação de alimentos é o *Rapid Alert System on Food and Feed* (RASFF) que é um sistema de alerta europeu pertencente à EFSA. Os membros deste sistema são obrigados a reportar as suas medidas em relação à segurança dos alimentos. As notificações podem ser divididas em dois tipos: notificações “alerta” que

são observações e medidas que podem ter implicações para outros membros e notificações “informação” que pertencem a produtos considerados sem implicações para os outros membros. Os membros do *RASFF* avaliam as possíveis implicações destas notificações para as suas próprias políticas de segurança alimentar e, se necessário, tomam as medidas apropriadas. Os sumários semanais e relatórios anuais podem ser encontrados no *site* da Comissão Europeia. A União Europeia e as autoridades nacionais já tomaram medidas contra várias tendências observadas no sentido de frequências mais elevadas de notificações para perigos relacionados com certos produtos e substâncias. Estas tendências nos dados do *RASFF* combinados com informação do potencial impacto na saúde e no comércio podem ser uma base útil para identificar perigos/riscos que são suscetíveis de aumentar no futuro.

Este trabalho tem como primeiro objetivo a caracterização físico-química da isopropiltioxantona (ITX), seguido da avaliação da sua toxicidade e da incidência nos leites, sumos e néctares de fruta, com a finalidade de inferir sobre os riscos inerentes ao consumo destes alimentos, sendo feita também uma avaliação da exposição para tomar conhecimento daqueles que serão os grupos de risco. Finalmente foram abordadas as metodologias analíticas mais comumente usadas nas matrizes alimentares em estudo.

## **2. ISOPROPILTIOXANTONA**

As tintas curadas por raios ultravioletas (UV) são constituídas normalmente por acrilatos multifuncionais, oligómeros acrilados e pigmentos.

Comparando estas tintas com tintas baseadas em solventes, as primeiras pareceram a alternativa mais acertada e vantajosa por serem aquelas que apresentavam menos riscos para a saúde humana, uma vez que o material da embalagem já não contaminaria os alimentos com os resíduos dos solventes orgânicos do processo de impressão.

Contudo, ao optar pelas tintas curadas por UV, surgem possíveis novos contaminantes na embalagem nomeadamente os acrilatos e os fotoiniciadores.

A Isopropiltioxantona (ITX) é utilizada como fotoiniciador em tintas curadas por UV, despoletando a polimerização radicalar do componente acrílico dessas mesmas tintas, fazendo com que a película de tinta líquida seque (Rothenbacher, Baumann e Fügel, 2007).

### **2.1. Características físico-químicas**

Quimicamente, trata-se da 2-Isopropiltioxantona,  $C_{16}H_{14}OS$  (Figura 1), com peso molecular de 254 Daltons. O seu número CAS é No. 5495-84-1. É um sólido amarelo, com

ponto de fusão entre 62 °C e 77 °C. É virtualmente insolúvel em água mas é solúvel em solventes orgânicos, especialmente em solventes não polares (EFSA, 2005).

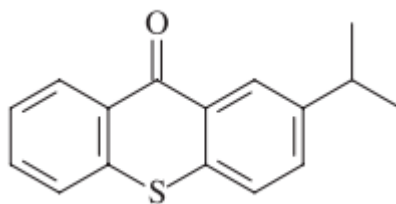


Figura 1 - Estrutura química da ITX.

## 2.2. Toxicidade

A ITX foi encontrada pela primeira vez, enquanto contaminante, em setembro de 2005 em Itália em leite para bebé e aí foi lançado o alerta (Gallart-Ayala, Moyano e Galceran, 2008).

Uma vez que as camadas intermédias de alumínio não permitem que os componentes da tinta passem através do material, foi assumido que a ITX migra das embalagens para os alimentos através do chamado *set-off effect*, isto é, quando o material impresso é armazenado em rolos ou empilhado, a face externa impressa fica em contato com a face interna que estará em contato com o alimento propriamente dito, fazendo com que o contaminante seja transferido para a face interna e, conseqüentemente, após o embalamento a ITX consegue migrar para o alimento (Rothenbacher *et al.*, 2007).

A primeira opinião da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar, adotada a 7 de Dezembro de 2005, sobre o risco para a saúde humana da aplicação da ITX como fotoiniciador em tintas aplicadas em materiais de embalagens alimentares, concluiu que a ITX apresentou resultados contraditórios em estudos de genotoxicidade *in vitro*, mas no entanto foram apresentados resultados claramente negativos em dois estudos de genotoxicidade *in vivo*. Contudo os dados são escassos, não se podendo retirar conclusões definitivas a partir dos resultados existentes, impossibilitando a retirada de conclusões acerca da segurança da ITX. Conclui ainda que os bebés alimentados exclusivamente por leite de fórmula (devido à razão entre o consumo de fórmula e a massa corporal) são os que estão mais expostos à ITX (EFSA, 2005).

Mais tarde, em setembro de 2007, foi feita uma reavaliação desta primeira opinião à luz dos resultados obtidos num estudo de toxicidade oral da ITX em roedores. Neste estudo, a ITX foi administrado a grupos de 5 machos e 5 fêmeas de ratos Wistar por alimentação forçada em doses diárias de 0, 50, 150 e 1000 mg/kg de peso corporal/dia, durante 28 dias consecutivos. Dois grupos de recuperação (5 machos e 5 fêmeas/grupo)

receberam ITX em doses de 0 e 1000 mg/kg de peso corporal/dia, durante 28 dias, e foram sacrificados duas semanas após o período de administração. O protocolo deste estudo incluía a observação diária de sinais clínicos e semanal de peso ganho, consumo alimentar e teste funcional observacional. No final foi avaliada a patologia clínica, química clínica no sangue, hematologia e determinação do peso dos órgãos (EFSA, 2007).

Nos grupos de estudo principais foram detetados aumentos dose-dependentes de proteína sérica total, albumina sérica e colesterol sérico, acompanhados de um aumento de peso absoluto e relativo do fígado que foram tanto observados nos machos como nas fêmeas. Estes aumentos já eram significativos nas doses mais baixas, mas não foram acompanhadas por alterações histopatológicas no fígado. No entanto, nas doses mais elevadas, já foi observada uma pequena hipertrofia centrilobular tanto nos machos como nas fêmeas. Para além disso, foi observada uma mínima a ligeira hiperplasia escamosa da primeira divisão do estômago nos roedores de ambos os sexos aos quais foi administrada a dose máxima, acompanhada ainda por uma hiperplasia folicular difusa da tiróide. Nos machos foi ainda observado um aumento dependente da dose de gotas hialinas nos rins acompanhada de basofilia tubular na junção corticomedular do rim. Este efeito também ocorreu nas fêmeas que receberam a dose máxima. Todas as alterações histopatológicas, com exceção da basofilia tubular no rim dos ratos macho, foram descritas como reversíveis e já não estavam presentes nos animais sacrificados duas semanas após a administração da dose de 1000 mg/kg de peso corporal/dia (EFSA, 2007).

Contudo a duração do estudo foi curta e por isso apenas se podem retirar conclusões limitadas. As alterações observadas foram consideradas potencialmente relevantes e dependentes da dose. Ainda assim, para que se possa realizar uma avaliação dos potenciais riscos para a saúde resultantes da presença de ITX nos alimentos, são necessários dados sobre os efeitos da administração a longo prazo (EFSA, 2007).

Pouco era sabido acerca da atividade da ITX ao nível da função do sistema nervoso central e neurotransmissores cerebrais e, por isso, um grupo de investigadores desenhou um estudo com o objetivo de estabelecer se a ITX exercia ou não um efeito ansiolítico-sedativo e se atuava como um composto benzodiazepina-like. Através de testes comportamentais, bioquímicos e eletrofisiológicos, aquele grupo descobriu que a ITX não exercia um efeito ansiolítico ou sedativo *in vivo*, quando administrado oralmente a ratos, não afetava as características de ligação dos recetores centrais e periféricos das benzodiazepinas estudados *in vitro* e não influenciava a capacidade do ácido gama-aminobutírico (GABA) de aumentar a permeabilidade dos canais de cloreto. Assim concluiu-se que a ITX não apresenta efeito ansiolítico ou sedativo (Campioli *et al.*, 2010).

Foi demonstrado por Peijnenburg *et al.* (2010) que a ITX tem potenciais propriedades anti-estrogénicas e anti-androgénicas *in vitro*. Contudo são necessários mais estudos *in vivo* para comprovar estes resultados.

### **2.3. Incidência e Avaliação da exposição**

Desde a primeira deteção em leite de fórmula para bebé que se têm feito diversos estudos com o objetivo de determinar as quantidades de ITX que efetivamente trespassam das embalagens para os alimentos.

Um dos estudos existentes avaliou o teor de ITX em amostras de leite comparando ao mesmo tempo a cromatografia líquida com a cromatografia gasosa, ambas acopladas com a espetrometria de massa. Neste estudo foram recolhidas 100 amostras de leite e derivados, embalados em TetraPack cuja impressão foi feita com tintas curadas por UV, recolhidas em diversos supermercados em Valência (Espanha). Das 100 amostras analisadas, o fotoiniciador foi detetado em 15 delas e os resultados encontram-se explicitados na Tabela I (Gil-Vergara, Blasco e Picó, 2007).

Nos resultados divulgados pela indústria, os níveis de ITX, em derivados do leite destinados ao primeiro ano de vida, variaram entre 120 µg/L e 305 µg/L. Em produtos à base de leite e de soja não destinados a bebés os valores oscilavam entre 54 µg/L e 219 µg/L e em sumos e néctares de fruta os teores variavam de níveis inferiores a 5 µg/L e 249 µg/L (Tabela I e II) (EFSA, 2005).

Na Tabela II encontram-se os resultados dos sumos e néctares de fruta e bebidas consideradas “nubladas” devido à presença de polpa de fruta e fibras. Nas bebidas consideradas “limpas” não foi detetada ITX (limite de deteção: 5 µg/L) e por isso não se encontra referido na tabela. Nos sumos, os teores oscilaram entre 29 µg/L e 249 µg/L, nos néctares as concentrações médias situavam-se entre 17 µg/L e 160 µg/L e nas bebidas diversas situavam-se entre 6 µg/L e 213 µg/L (EFSA, 2005).

Num outro estudo foram analisadas 30 amostras de sumos de frutas embalados em TetraBrickAseptic TetraPack, 15 de Itália e 15 de Espanha. Os valores mais elevados foram detetados nas amostras proveniente de Itália, cujo máximo foi 0,78 µg/L (Sagratiini *et al.*, 2006).

Na Ásia foram analisadas 39 amostras de diferentes alimentos provenientes de um mercado local e apesar de terem sido detetadas quantidades de ITX num intervalo entre 0,004 e 108,600 µg/dm<sup>2</sup> nas embalagens propriamente ditas, a migração deste para os alimentos ocorreu em apenas 7 das 39 amostras, com teores que oscilavam entre 0,53 e 84,30 µg/kg (Sun *et al.*, 2007).

**Tabela I:** Frequência (%) e níveis de ITX (µg/L) em leite, produtos à base de leite e sumos de frutos.

País	Alimento	Frequência (%)	Mínimo-Máximo (µg/L)		Média (µg/L)		Bibliografia
			GC-MS	LC-MS	GC-MS	LC-MS	
Espanha	Leite UHT (n=30)	20	2,5-189	2,6-190	95,8	95,4	Gil-Vergara et al., 2007
	Leite com chocolate (n=10)	20	50-323	50-325	186,5	187,5	
	Leite de baunilha (n=10)	10	167	164	-	-	
	Leite de morango (n=10)	10	100	105	-	-	
	Leite enriquecido com cálcio (n=10)	10	225	230	-	-	
	Leite enriquecido com ómega 3 (n=10)	20	132-148	130-152	140	141	
	Sumo de frutas e leite (n=10)	10	50	49	-	-	
	Leite aromatizado de morango (n=10)	10	223	223	-	-	
	<i>Starter formula</i> (n=4)	-	120-262	-	-	-	
	<i>Growing up milk</i> (n=9)	-	143-305	-	-	-	
<i>Growing up milk</i> (para maiores de 12 meses) (n=2)	-	74-445	259,5	-	-	Report A, EFSA 2005	
<i>Flavoured milk</i> (n=1)	-	600	-	-	-		
Leite UHT (n=3)	-	54-177	124,3	-	-		
Leite de soja (n=1)	-	219	-	-	-		
Baunilha leite de soja (n=1)	-	170	-	-	-	Report B, EFSA 2005	
Leite de soja e sumo (n=1)	-	137	-	-	-		
Leite com chocolate (n=1)	-	295	-	-	-		

**Tabela II:** Frequência (%) e níveis de ITX ( $\mu\text{g/L}$ ) em sumos e néctares de frutas.

País	Alimento	Frequência (%)	Mínimo-Máximo ( $\mu\text{g/L}$ )	Média ( $\mu\text{g/L}$ )	Bibliografia
	Sumo Maçã (n=1)	-	45	-	
	Sumo Laranja (n=5)	-	29-201	88,4	
	Sumo Multivitamínico (n=1)	-	249	-	
	Sumo Pêra (n=1)	-	70	-	
	Sumo Ananás (n=1)	-	32	-	
	Sumo Beterraba (n=1)	-	32	-	
	Sumo Cenoura (n=1)	-	34	-	
	Sumo Vegetais (n=1)	-	57	-	
	Sumo Tomate (n=4)	-	32-122	58,3	
	Sumo Maçã com Fruta (n=1)	-	36	-	
	Sumo de Fruta (mix) (n=1)	-	47	-	
	Sumo Toranja (n=2)	-	33-73	53	
	Néctar Laranja & Pêssego (n=1)	-	43	-	
	Néctar Laranja (n=1)	-	49	-	
	Néctar Multivitamínico ACE (n=1)	-	41	-	
	Néctar Laranja e Manga (n=1)	-	117	-	
	Néctar Ananás (n=1)	-	17	-	
	Néctar Pêssego (n=2)	-	87-95	91	
	Néctar Damasco (n=1)	-	63	-	
	Néctar Ananás e Kiwi (n=1)	-	160	-	Report B, EFSA 2005
	Bebida de frutos sumo de soja (n=1)	-	25	-	
	Bebida Fruta <i>mixed</i> (n=1)	-	40	-	
	Bebida Sumo Tropical (n=1)	-	67	-	
	Bebida Multivitamínica (n=2)	-	30-69	49,5	
	Bebida Banana (n=1)	-	6	-	
	Bebida Laranja, Pêssego (n=1)	-	<5	-	
	Bebida de Vitamina Romã, Laranja (n=1)	-	187	-	
	Bebida Laranja, Ananás (n=1)	-	43	-	
	Arando, Basilico (n=1)	-	27	-	
	Manga, Pimento vermelho (n=1)	-	150	-	
	Mistura Sumo Tropical (n=1)	-	213	-	
	Pêssego, Manga (n=1)	-	106	-	
	Soja e Fruta (n=1)	-	75	-	
	Uva & Manga (n=1)	-	129	-	
<b>Itália</b>	Sumo Damasco (n=15)	33,3	0,09-0,78	0,29	
	Sumo Pêssego (n=3)	33,3	0,15	-	
<b>Espanha</b>	Sumo Uva e Ananás (n=3)	33,3	0,30	-	Sagrati et al., 2006
	Sumo Maçã (n=3)	33,3	0,06	-	
	Néctares Fruta (n=3)	100	0,05-0,09	-	

Na Alemanha foram analisadas 137 amostras de um mercado local, na sua maioria embaladas em caixas de multicamadas e em copos plásticos. A ITX foi detetada em 36 das 137 embalagens, mas apenas em 27 ocorreu migração da ITX para o alimento e os valores mais elevados foram detetados em sumo de laranja, 357 µg/kg, e alimentos para bebé, 208 µg/kg (Rothenbacher *et al.*, 2007).

Em Itália, para além do estudo realizado em amostras de sumos, foi realizado um estudo em lacticínios em que foram recolhidas 50 amostras de mercados locais (15 amostras de leite, 28 amostras de iogurte e 7 amostras de pudim). A incidência de ITX apenas foi considerada relevante nas amostras de iogurte. Foi detetada em 10 das 28 amostras: 3 tinham uma concentração relevante (330, 499 e 512 µg/kg). Em outras três os valores estavam compreendidos entre 15 e 40 µg/kg e nas restantes quatro, apesar de detetável, não se encontrava em concentrações quantificáveis. Nos outros tipos de amostras a ITX não foi detetada (Benetti *et al.*, 2008).

De acordo com os dados da EFSA (2005), a exposição alimentar potencial dos lactentes à ITX é de 77 µg/kg p.c./dia, no pior cenário. Esta exposição pode ser mais elevada em casos específicos como lactentes nas primeiras semanas de vida e prematuros. Nos lactentes mais velhos, a exposição é mais reduzida porque são introduzidas alternativas alimentares ao leite. Nas crianças, a exposição ainda é alta pois muitas das bebidas consumidas por estas são embaladas em pequenas embalagens de cartão, tais como sumos de fruta e produtos à base de leite. Neste caso, tendo em consideração uma dieta variada com leite e sumos de fruta a contribuir para os alimentos e bebidas embaladas, a exposição é de 12 µg/kg p.c./dia. À medida que vão crescendo é esperado que a exposição das crianças diminua devido ao decréscimo do consumo alimentar por quilo de massa corporal e ao aumento da variedade de alimentos e bebidas consumidas. É expectável que a exposição das crianças esteja entre a dos latentes, mais elevada, e dos adultos, mais reduzida. Nos adultos, no pior cenário, é expectável uma exposição de 6 µg/kg p.c./dia.

#### **2.4. Metodologias Analíticas**

Para extrair e posteriormente quantificar a ITX que migrou das embalagens para os alimentos foram utilizadas diversas metodologias, sendo que a maioria delas de baseia numa extração líquido-líquido pressurizada ou não (Tabela III).

Não foram necessários processos de purificação na maioria dos casos à exceção da metodologia utilizada por Sun *et al.* (2007) que utilizou Solução de Carrez I e II para purificar as amostras.



O método analítico tradicional relatado para detetar e quantificar ITX é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. A cromatografia em camada fina de alta performance só tem sido proposta para o rastreio combinado com fluorescência e com espectrometria de massa. No entanto, a cromatografia líquida, devido à sua robustez, sensibilidade e facilidade de operação, é a técnica mais utilizada atualmente combinada com deteção por fluorescência, um detetor de díodos e espectrometria de massa. Hoje em dia, a GC-MS e a LC-MS são de longe as mais utilizadas para a determinação de ITX (Gil-Vergara *et al.*, 2007).

**Tabela III:** Metodologias analíticas utilizadas na deteção e quantificação da ITX em leites e sumos.

<b>Alimento</b>	<b>Extração</b>	<b>Purificação</b>	<b>Deteção e Quantificação</b>	<b>Bibliografia</b>
<b>Leite Fresco</b>	PLE com acetato de etilo a 100 °C e pressão de $10,3 \times 10^6$ Pa – 10 min		GC-MS Coluna revestida com fenil metil polisiloxano a 5% reticulado Gás transportador: Hélio	Gil-Vergara <i>et al.</i> , 2007
	Extração líquido-líquido com 10ml de éter <i>tert</i> -butilmetilo-hexano (80:20, v/v)		LC-MS Fase móvel: metanol-água com 10 mmol/L formato de amónio (80:20 v/v)	
<b>Leite</b>	Ciclohexano		GC-MS	Report A, EFSA, 2005
<b>Leite e Bebidas de Soja</b>	Ciclohexano após pré-tratamento com amónia aquosa e etanol		HPLC com deteção por fluorescência (Limite deteção: 5 µg/L)	Report B, EFSA, 2005
<b>Sumos</b>	Éter dietílico			
<b>Sumos de fruta</b>	PLE com <i>n</i> -hexano e acetona (50:50) a 100 °C e 10,4 MPa durante 5min.		LC-MS Fase móvel: metanol (90%)/água (10%) a um fluxo de 0,3 mL/min	Sagrati <i>et al.</i> , 2006
<b>Leite e Sumo</b>	Acetonitrilo - água (60:40, v/v)	Solução Carrez I e II	LC-MS/MS Fase móvel: Metanol/Solução ácido fórmico 0,1% (80:20 → 95:5 → 80:20)	Sun <i>et al.</i> , 2007
<b>Alimentos não gordurosos</b>	Acetonitrilo		HPLC-DAD/FLD Fase móvel: água/acetonitrilo (15:85, v/v)	Rothenbacher <i>et al.</i> , 2007
<b>Alimentos gordurosos</b>	Solução tampão: fosfato de citrato 0,1M (pH 6)			
<b>Lacticínios</b>	Acetonitrilo		HPLC-MS Fase móvel: formiato de amónia 20 mM em água/metanol	Benetti <i>et al.</i> , 2008

### 3. CONCLUSÃO

Todos os dias, consciente ou inconscientemente, somos expostos a diversos contaminantes e poluentes que podem ter implicações na nossa saúde, no imediato ou mesmo anos mais tarde, mesmo quando já não haja exposição. Daí ser tão importante a realização de estudos como os que alguns investigadores desenvolveram a fim de conhecer os riscos a que estamos expostos quando entramos em contato com algum contaminante, neste caso a ITX.

Com a ajuda de sistemas de alerta precoces, como o RASFF, a transmissão de informação entre os vários países é feita a uma grande velocidade permitindo uma resposta rápida e efetiva em situações de crise eminente.

No que diz respeito à migração da ITX da embalagem para os alimentos concluiu-se que esta ocorre no intervalo de tempo em que as embalagens depois de impressas estão empilhadas nos armazéns até serem utilizadas e ocorre através do chamado *set-off effect*, ou seja, quando a face externa de uma embalagem está em contato com a fase interna de outra há possível migração da fase externa para a fase interna uma vez que as camadas intermédias de alumínio já não interferirão. Uma vez na face interna, já não existem impedimentos físicos para a migração da ITX da embalagem para o alimento.

Assim surge a necessidade da realização de estudos toxicológicos a fim de conhecer os potenciais efeitos tóxicos da ITX na saúde humana. Os resultados obtidos até ao momento são contraditórios e os estudos ainda são escassos havendo a necessidade da realização de mais ensaios *in vivo* para que se possam retirar conclusões válidas.

Na primeira opinião da EFSA, concluiu-se, com os testes genotóxicos *in vivo* existentes, que não há indícios de potencial genotóxico da ITX. Contudo, devido à escassez de dados não foi emitido qualquer comentário acerca da toxicidade da ITX. Da segunda opinião surgiu a necessidade de dados, após a administração de longo prazo.

Sobre os potenciais efeitos ansiolíticos ou sedativos da ITX concluiu-se que o complexo recetor do GABA, que é o maior sistema sedativo do Sistema Nervoso Central, não é afetado por doses relevantes de ITX, excluindo-se assim estes potenciais efeitos.

Com os resultados existentes conclui-se que a presença de ITX nos alimentos, ainda que indesejável, não apresenta riscos conhecidos para a saúde humana. Contudo esta conclusão não exclui a necessidade de outros estudos, mais abrangentes e mais extensos.

Em termos de incidência tentaram-se definir os parâmetros que influenciariam a migração da ITX, tendo sido observado que em alimentos com maior percentagem de gordura parece haver uma maior migração de ITX. O tempo entre a impressão e a utilização

do material das embalagens também poderá influenciar as quantidades detetadas, uma vez que é durante este período que ocorre a contaminação das faces internas.

Para além da quantificação propriamente dita, também é importante desenvolver testes de *screening* rápidos, precisos e sensíveis para que se possa investigar a presença/ausência de ITX nos alimentos.

Chego assim ao fim do meu trabalho. Foi um grande desafio porque eu não conhecia o tema, nem tinha noção que havia um processo tão complexo por detrás de uma mera embalagem, neste caso em relação ao seu processo de impressão, mas também foi isso que o tornou tão interessante porque à medida que avançava ia sempre aprendendo algo de novo, o que me abriu horizontes, dando-me uma nova perspetiva deste processo.

É sem dúvida importantíssimo a realização de estudos como estes que tanto nos dão a ganhar, pois permitem-nos conhecer um pouco mais do Mundo, mas que também nos deixam outras questões que ficam por responder e criam a necessidade de uma continuação quanto mais não seja para descobrir um novo método ou entender algum efeito.

Que a curiosidade e a sede de saber nos façam chegar sempre mais longe!

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENETTI, C.; ANGELETTI, R.; BINATO, G.; BIANCARDI, A.; BIANCOTTO, G. - A packaging contaminant: isopropylthioxanthone (ITX) in dairy products. *Analytica Chim. Acta* 617 (2008) 132–138.

CAMPIOLI, E.; ZAVATTI, M.; AVALLONE, R.; PUIA, G.; LOSI, G.; BARALDI, M. - Evidence that isopropylthioxanthone (ITX) is devoid of anxiolytic and sedative effect. *Food Additives & Contaminants: Part A* 27:3 (2010), 389–395.

EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY) - Opinion of the scientific panel of food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to 2-isopropylthioxanthone (ITX) and 2-ethylhexyl-4-dimethylaminobenzoate (EHDAB) in food contact materials. *The EFSA Journal* 293 (2005), 1–15.

EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY) - Scientific Statement of the Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the Commission related to an update on the hazard assessment of 2-isopropyl thioxanthone (ITX) in food contact materials. *EFSA-Q-2007-088* (2007), 1–4.

GALLART-AYALA, H.; MOYANO, E.; GALCERAN, M. T. - Liquid chromatography/tandem mass spectrometry (highly selective selected reaction monitoring) for the analysis of isopropylthioxanthone in packaged food. *Journal of Chromatography A*, 1208 (2008), 182–188.

GIL-VERGARA, A.; BLASCO, C.; PICÓ, Y. - Determination of 2-isopropyl thioxanthone and 2-ethylhexyl-4-dimethylaminobenzoate in milk: comparison of gas and liquid chromatography with mass spectrometry. *Analytical Bioanalytical Chem.* 389 (2007), 605–617.

MARVIN, H. J. P.; KLETER, G. A.; PRANDINI A.; DEKKERS, S.; BOLTON, D. J. - Early identification systems for emerging foodborne hazards. *Food and Chemical Toxicology* 47 (2009), 915–926.

PEIJNENBURG, A.; RIETHOF-POORTMAN, J.; BAYKUS, H.; PORTIER, L.; BOVEE, T.; HOOGENBOOM, R. - AhR-agonistic, anti-androgenic, and anti-estrogenic potencies of 2-isopropylthioxanthone (ITX) as determined by in vitro bioassays and gene expression profiling. *Toxicology in Vitro* 24 (2010), 1619–1628.

Regulamento (CE) No. 1935/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 27 de Outubro de 2004.

ROTHENBACHER, T.; BAUMANN, M.; FÜGEL, D. - 2-Isopropylthioxanthone (2-ITX) in food and food packaging materials on the German market. *Food Additives & Contaminants* 24:4 (2007), 438–444.

SAGRATINI, G.; MAÑES, J.; GIARDINÁ, D.; PICÓ, Y. - Determination of isopropyl thioxanthone (ITX) in fruit juices by pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 (2006), 7947–7952.

SUN, C.; CHAN, S. H.; LU, D.; LEE, H. M. W.; BLOODWORTH, B. C. - Determination of isopropyl-9H-thioxanthen-9-one in packaged beverages by solid-phase extraction clean-up and liquid chromatography with tandem mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, 1143 (2007) 162–167.