

Migração de ϵ -caprolactama de embalagens contendo poliamida 6 para simulante ácido acético 3% e validação do método analítico

ϵ -Caprolactam migration from polyamide 6 packaging into 3% acetic acid food simulant and validation of the analytical method

Juliana Silva FÉLIX¹, Marisa PADULA², José Eduardo MANZOLI³, Magali MONTEIRO^{1*}

Resumo

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar método analítico para determinar ϵ -caprolactama no simulante de alimentos solução de ácido acético 3% e estudar sua migração de embalagens contendo poliamida 6 para o simulante em contato. Foi empregada a cromatografia gasosa usando ϵ -caprolactama como padrão analítico e 2-azociclononano como padrão interno. A linearidade esteve entre 1,60 e 640,00 μg de ϵ -caprolactama. mL^{-1} de simulante, com coeficiente de correlação 0,9999. Os limites de detecção e de quantificação do método foram 0,24 e 1,60 ng, respectivamente. A precisão do método revelou valores de coeficiente de variação menores que 4,3% e a avaliação da exatidão mostrou recuperação de 100 a 106%. O método demonstrou ser eficaz para quantificar ϵ -caprolactama no simulante, apresentando ampla linearidade, boa precisão e exatidão. No ensaio de migração, embalagens contendo poliamida 6 foram colocadas em tubos de vidro com 10 mL do simulante, que foram hermeticamente fechados e acondicionados a 40 ± 1 °C durante 10 dias. O ensaio de migração foi realizado por imersão total. A quantidade de ϵ -caprolactama migrada variou de 7,8 a 10,5 e de 6,9 a 7,6 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de simulante para as embalagens destinadas aos produtos cárneos e queijos, respectivamente. Todas as embalagens atenderam às exigências da Legislação Brasileira para migração de ϵ -caprolactama.

Palavras-chave: migração; ϵ -caprolactama; poliamida 6; simulante de alimento; validação de método analítico; cromatografia gasosa de alta resolução.

Abstract

The aim of this work was to develop and validate an analytical method to determine ϵ -caprolactam in 3% acetic acid solution and to study its migration from polyamide 6 into food simulant. Gas chromatography was used with ϵ -caprolactam as an analytical standard and 2-azacyclononane as an internal standard. The linearity was obtained by the concentration range of 1.60 to 640.00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, with a correlation coefficient of 0.9999. Detection and quantification limits of the method were 0.24 ng and 1.60 ng, respectively. Relative standard deviations obtained for method precision were less than 4.3%, while method accuracy showed recovery between 100 and 106%. The method was able to quantify ϵ -caprolactam in the simulant, showing a wide linearity, good precision and accuracy. For the migration assay, polyamide 6 films were placed in glass vials containing 10 mL of simulant, which were hermetically capped and exposed at 40 °C for 10 days (total immersion). The amount of ϵ -caprolactam that migrated from packaging into the simulant varied from 7.8 to 10.5 and 6.9 to 7.6 $\text{mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$, for films used as meat products and cheese packaging, respectively.

Keywords: migration; ϵ -caprolactam; polyamide 6; food simulant; validation of analytical method; gas chromatography.

1 Introdução

A ϵ -caprolactama é o monômero utilizado na fabricação da poliamida 6 (PA-6)^{14,22,28}. Durante o processo de polimerização, parte do monômero empregado pode permanecer na resina, já que a polimerização não é completa. Podem também estar presentes oligômeros de baixa massa molecular, aditivos, compostos de degradação, entre outros, que podem migrar para o alimento em contato^{2,3,17,19,21,28}.

A PA-6 é muito usada como embalagem de alimentos. Sua maior aplicação é na forma de filmes e envoltórios, como componente único ou em estruturas de multicamadas^{10,26}. Filmes de PA-6 têm sido muito empregados como embalagens a vácuo e com atmosfera modificada para carnes e aves frescas

e processadas, para queijos, e como embalagens tipo *cook in* para carnes e aves processadas. De maneira geral, a PA oferece boa barreira a gases, a aromas, a gorduras e ao vapor d'água e boa resistência mecânica, além de ser termoformável e termorresistente^{24,25}.

A literatura disponível sobre migração da ϵ -caprolactama de embalagens de PA para alimentos e simulantes é ainda restrita. Particularmente, no caso de embalagens contendo PA-6 produzidas e amplamente empregadas no Brasil, não foram encontrados trabalhos descritos na literatura.

Os compostos presentes em embalagens plásticas podem representar um risco à saúde humana, principalmente durante a exposição crônica, através do consumo de alimentos^{6,18,20}. A ϵ -caprolactama foi descrita como hepatotóxica^{9,29}, neurotóxica²⁹ e genotóxica¹⁵, além de ter sido considerada mutagênica para células somáticas e germinativas de *Drosophila melanogaster*¹¹ e capaz de provocar danos cromossômicos e aneuploidia em linfócitos humanos²⁷. A ϵ -caprolactama está inserida no grupo 4, de acordo com a classificação da *International Agency for Research on Cancer* (IARC), sendo considerada como provavelmente não carcinogênica para humanos¹¹.

¹ Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista – UNESP, CEP 14801-902, Araraquara - SP, Brasil, E-mail: monteiro@fcar.unesp.br

² Centro de Tecnologia de Embalagem, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, CP 139, CEP 13070-178, Campinas - SP, Brasil

³ Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, Centro de Tecnologia das Radiações – CTR, Comissão Nacional de Energia Nuclear – CNEN, CP 11049, CEP 05508-000, São Paulo - SP, Brasil e Universidade São Judas Tadeus, CEP 03166-000, São Paulo - SP, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

Uma variedade de métodos cromatográficos tem sido utilizada na determinação de ϵ -caprolactama e seus oligômeros no próprio polímero, em simulantes de alimentos e em alimentos: cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG/DIC)^{8,13,22}, cromatografia líquida de alta eficiência usando detector de ultravioleta (CLAE/UV)^{2,4,7,15,28}, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM)^{13,30} e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE/EM)^{2,28}. A CG/DIC é amplamente utilizada em ensaios de migração por detectar a ϵ -caprolactama em níveis de traços, enquanto a CLAE/UV tem sido muito empregada quando o objetivo é a análise da ϵ -caprolactama e seus oligômeros. Já a CG/EM e a CLAE/EM vêm sendo usadas para identificar e quantificar os compostos presentes nas diferentes matrizes dependendo de sua massa molecular, polaridade e volatilidade.

Este trabalho teve como objetivo desenvolver e validar método analítico para determinar ϵ -caprolactama no simulante solução de ácido acético 3% e estudar sua migração de filmes contendo PA-6 para o simulante em contato.

2 Material e métodos

Foram utilizados filmes contendo PA-6, correspondentes a 13 marcas comerciais de embalagens empregadas no Brasil para o acondicionamento de produtos cárneos, denominadas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, e de queijos, denominadas 1, 2, 3, 4 e 5, fornecidos pelas empresas produtoras.

A ϵ -caprolactama (pureza > 99%, Sigma-Aldrich) foi utilizada como padrão analítico e a 2-azociclononona (pureza > 98%, Sigma-Aldrich) como padrão interno. Foi utilizado o cromatógrafo gasoso (CG) Shimadzu 17-A (Shimadzu, Kyoto, Japão), com detector de ionização de chama (DIC) e colunas capilares DB-1701 e DB-5 (J&W Scientific) de 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura do filme interno e 60 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de espessura do filme interno, respectivamente.

Metanol (MeOH) e n-heptano foram adquiridos da Mallinckrodt Chemicals (Phillipsburg, USA), etanol (EtOH), da J. T. Baker, todos de grau cromatográfico e ácido acético 100% PA foi adquirido da Merck (Darmstadt, Germany). Água destilada também foi utilizada.

As soluções estoque de ϵ -caprolactama e de 2-azociclononona foram preparadas em MeOH na concentração de 10.000 e 350 μ g.mL⁻¹, respectivamente. Posteriormente, por diluições sucessivas das soluções estoque, foram obtidas as soluções padrão de ϵ -caprolactama e 2-azociclononona de diferentes concentrações, que foram diluídas em simulante solução de ácido acético 3% e então injetadas no CG/DIC.

Para o ensaio de migração, os filmes foram cortados em seções de 6 cm² de área. Cada seção foi colocada em tubo de vidro de 20 mL contendo 10 mL de simulante solução de ácido acético 3%. Os tubos foram hermeticamente fechados e acondicionados em estufa a 40 \pm 1 °C durante 10 dias¹. O ensaio de migração foi realizado sob imersão total, em triplicata. Um tubo branco, usado como referência, contendo apenas o simulante foi exposto e analisado sob as mesmas condições.

Após o período de contato, cada seção da embalagem foi retirada do tubo e descartada, sendo, a seguir, adicionado o padrão interno. As soluções de simulante assim obtidas foram injetadas no CG/DIC em duplicata, empregando o método previamente desenvolvido e validado, que foi então utilizado para quantificar a ϵ -caprolactama no simulante solução de ácido acético 3%.

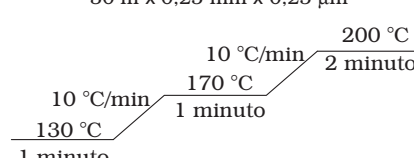
O tratamento estatístico dos dados da validação do método analítico envolveu a determinação da média, do desvio padrão e do coeficiente de variação, enquanto o tratamento estatístico dos dados da curva de calibração envolveu a determinação da equação da reta de regressão linear e do coeficiente de correlação. Os resultados do ensaio de migração foram submetidos à Anova e teste de Tukey (Origin 7.0, 2000).

3 Resultados e discussão

3.1 Condições cromatográficas

Foram realizados estudos preliminares para estabelecer as condições de operação do equipamento (diferentes fases estacionárias, diferentes programações de temperatura, etc.) utilizando soluções padrão de ϵ -caprolactama e 2-azociclononona, com base no método de determinação de ϵ -caprolactama em simulantes de alimentos¹³. A melhor resolução foi obtida quando a temperatura da coluna foi mantida a 130 °C por 1 minuto, programada a 10 °C/min até 170 °C e mantida por 1 minuto, novamente aquecida a 10 °C/min até 200 °C, permanecendo por 2 minutos. O gás de arraste utilizado foi hidrogênio com vazão de 1 mL/min. As injeções (1 μ L) foram feitas a 240 °C no modo *split* e razão 1:20. A temperatura de detecção foi de 250 °C (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros analíticos otimizados para determinação de ϵ -caprolactama em simulante solução de ácido acético 3% usando CG/DIC.

Parâmetros analíticos	Valores otimizados
Temperatura do injetor	240 °C
Coluna DB-1701	30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m
Temperatura da coluna	
Temperatura do detector	250 °C
Gás de arraste	Hidrogênio
Vazão do gás de arraste	1 mL/min
Volume de injeção	1 μ L
Tempo de análise	11 minutos

3.2 Validação do método analítico

A validação foi estudada de acordo com os protocolos relatados na literatura^{5,12,16,23}. A seletividade, calibração, linearidade, limite de detecção e limite de quantificação, precisão e exatidão foram avaliados.

Seletividade

A seletividade do analito no sistema cromatográfico foi avaliada utilizando as colunas capilares DB-1701 e DB-5, com diferentes fases estacionárias. A ϵ -caprolactama e a 2-azociclononona estavam livres de compostos interferentes ou que se sobreponham aos seus sinais.

Curva de calibração e linearidade

Foram realizadas 10 injeções de cada concentração empregada (1,60; 16,01; 64,00; 160,11; e 640,00 μg de ϵ -caprolactama. mL^{-1} de simulante e 14,00 μg de 2-azociclononona. mL^{-1} de simulante), e determinadas as médias, os desvios padrão e os coeficientes de variação, que foram menores que 5,0 e 5,3%, para a ϵ -caprolactama e 2-azociclononona, respectivamente, para todas concentrações avaliadas. O cromatograma típico da curva de calibração está apresentado na Figura 1. Os tempos de retenção obtidos para a ϵ -caprolactama e a 2-azociclononona foram 6,4 e 8,8 minutos, respectivamente.

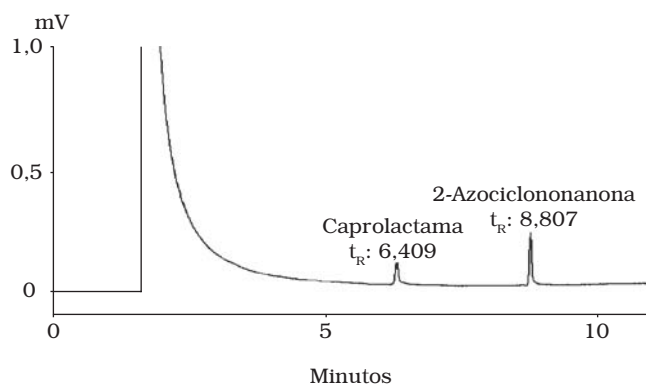


Figura 1. Cromatograma típico da curva de calibração da ϵ -caprolactama e 2-azociclononona em solução de ácido acético 3%, obtido por CG/DIC (concentração da ϵ -caprolactama e do padrão interno: 8,00 e 14,00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente). Condições cromatográficas de acordo com a Tabela 1.

A linearidade do método foi determinada a partir dos dados referentes à curva de calibração. O cálculo da regressão linear, usando o método dos mínimos quadrados, forneceu a equação da reta ($y = a + bx$), sendo x a concentração do analito na matriz e y , a área do pico.

A curva de calibração obtida apresentou linearidade no intervalo de concentração de 1,60 a 640,00 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Figura 2).

A equação de regressão foi $y = -0,0744 + 0,93463x$, sendo y a razão da área do pico da ϵ -caprolactama pela área do pico do padrão interno e x , a razão da concentração da ϵ -caprolactama pela concentração do padrão interno. O coeficiente de correlação (r) foi 0,9999.

A linearidade também foi estudada utilizando a curva da razão área relativa/concentração relativa versus log da concentração relativa das soluções padrão empregadas²³. Verificou-se que todas as concentrações das soluções padrão utilizadas na curva de calibração estavam perfeitamente dentro do intervalo

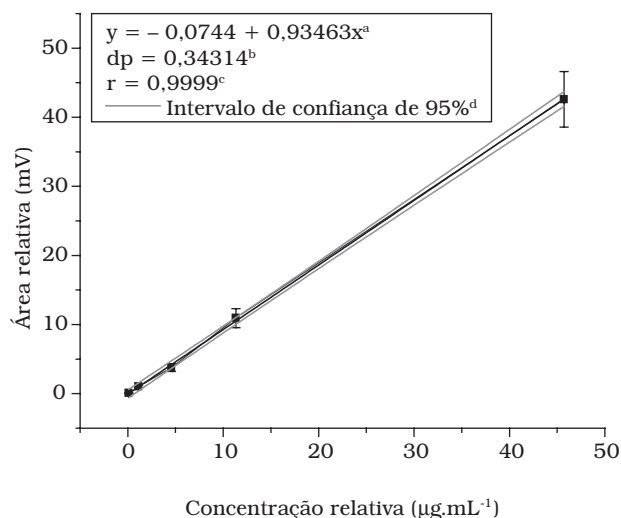


Figura 2. Curva de calibração de ϵ -caprolactama/2-azociclononona em solução de ácido acético 3% (concentração: 1,6 a 640 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). ^aEquação da reta; ^bDesvio padrão; ^cCoefficiente de correlação; ^dIntervalo de confiança de 95%.

de confiança de 95% (Figura 3). Além disso, considerou-se o intervalo obtido suficientemente amplo, uma vez que para o sistema estudado não há necessidade de quantificar amostras com concentrações de ϵ -caprolactama muito elevadas.

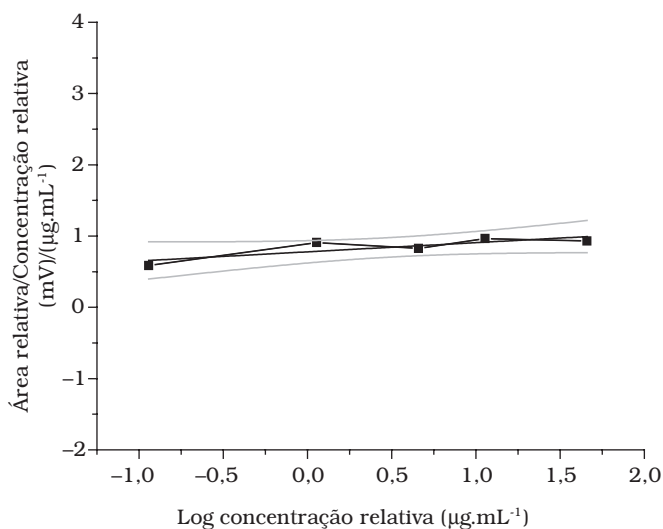


Figura 3. Curva da razão área relativa/concentração relativa da ϵ -caprolactama e 2-azociclononona versus log da concentração relativa da ϵ -caprolactama e 2-azociclononona, com intervalo de confiança de 95%.

Limite de detecção do método

O limite de detecção do método (LD) foi determinado experimentalmente utilizando sucessivas diluições a partir da solução padrão de ϵ -caprolactama de concentração 0,05 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, que foram injetadas ($n = 6$) no CG/DIC. O LD foi expresso como a quantidade de ϵ -caprolactama correspondente a 3 vezes a área do ruído de fundo ($S/R = 3$) no tempo de retenção do pico do analito^{12,16,23}. O valor obtido para LD foi 0,24 ng. Os coeficientes de variação referentes às áreas dos picos da ϵ -caprolactama e

2-azociclononana foram 5,0 e 3,1%, respectivamente, indicando boa precisão.

Precisão e exatidão do método

A precisão é um critério utilizado para avaliar o desempenho de um método analítico e expressa concordância entre os dados experimentais obtidos, ou seja, quanto mais próximos entre si maior será a precisão^{5,12}. A precisão do método foi avaliada mediante ensaio de repetibilidade e de precisão intermediária. A repetibilidade foi avaliada realizando medidas intra-dias. Para tanto, três concentrações da solução padrão (8,00; 80,00 e 400,00 μg de ϵ -caprolactama. mL^{-1} de simulante solução de ácido acético 3%) foram injetadas no CG/DIC em triplicata num mesmo dia. A precisão intermediária foi avaliada realizando medidas inter-dias e as mesmas concentrações empregadas no ensaio de repetibilidade foram usadas. As soluções padrão foram injetadas no CG/DIC em dias consecutivos, totalizando 10 injeções. Durante os ensaios intra e inter-dias foram obtidos coeficientes de variação menores que 3,9 e 4,3%, respectivamente, indicando uma boa precisão (Tabela 2).

A exatidão do método foi determinada durante avaliação da precisão e foi expressa como a razão percentual entre a concentração de ϵ -caprolactama obtida e a concentração adicionada^{5,12,16,23}. Para tanto, soluções padrão contendo 8,00; 80,00 e 400,00 μg de ϵ -caprolactama em simulante solução ácido acético 3% foram injetadas 10 vezes no CG/DIC. Verifica-se, pela Tabela 2, que foram obtidos valores de recuperação entre 100,5 e 106,0%, indicando boa exatidão do método. A porcentagem de recuperação foi elevada para todas as concentrações de ϵ -caprolactama adicionadas.

Limite de quantificação do método

O limite de quantificação do método (LQ), expresso como a menor quantidade de ϵ -caprolactama quantificada na matriz simulante solução de ácido acético 3% no tempo de retenção

do pico do analito, determinado com nível de precisão aceitável, correspondeu a 7 vezes o LD^{12,16,23}. O valor obtido para LQ foi 1,60 ng. Os coeficientes de variação referentes às áreas dos picos da ϵ -caprolactama e 2-azociclononana obtidos quando a solução foi injetada dez vezes no CG/DIC foram 4,2 e 4,5%, respectivamente, indicando que a precisão obtida foi muito boa.

3.3 Migração

De acordo com a Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que realiza o controle e regulamentação de materiais plásticos empregados na elaboração de embalagens e equipamentos destinados ao contato com alimentos e bebidas, o limite de migração específica (LME) estabelecido para ϵ -caprolactama em resinas e embalagens de PA é de 15 mg.kg^{-1} de alimento ou de simulante de alimento¹.

Na Figura 4 estão apresentados os cromatogramas obtidos pela injeção do simulante solução de ácido acético 3% contendo ϵ -caprolactama migrada de filmes contendo PA-6, correspondentes a duas marcas comerciais.

Os valores obtidos no ensaio de migração da ϵ -caprolactama de embalagens contendo PA-6, destinadas ao acondicionamento de produtos cárneos e queijos para o simulante solução de ácido acético 3%, estão apresentados na Tabela 3.

Os resultados obtidos da migração de filmes contendo PA-6 usados para o acondicionamento de produtos cárneos demonstraram que a marca 4 apresentou o nível mais elevado de ϵ -caprolactama (10,46 mg.kg^{-1} simulante), não diferindo significativamente ($p \geq 0,05$) apenas da marca 6. Os níveis mais baixos de ϵ -caprolactama migrada foram apresentados pela marca 8 (7,75 mg.kg^{-1} simulante), que não diferiu ($p \geq 0,05$) das marcas 2 e 7 (Tabela 3).

Tabela 2. Avaliação da precisão intra e inter-ensaios e da exatidão do método para determinação da ϵ -caprolactama em simulante solução de ácido acético 3% utilizando CG/DIC.

Injeções	Repetibilidade (intra-ensaio)			Precisão intermediária (inter-ensaio)		
	n = 3	n = 3	n = 3	n = 10	n = 10	n = 10
Concentração real ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	8,00	80,00	400,00	8,00	80,00	400,00
Concentração obtida ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	8,10	82,12	414,03	8,16	87,34	412,29
	7,58	85,43	394,23	8,10	87,28	414,54
	8,12	84,21	393,40	7,58	84,23	441,78
				8,12	82,12	426,04
				8,15	85,43	414,03
				8,43	86,47	394,23
				8,31	84,21	437,64
				7,73	87,90	393,40
				7,43	82,94	425,32
				8,38	80,40	437,97
Média ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	7,90	83,90	400,60	8,00	84,80	419,70
DP	0,30	1,70	11,70	0,30	2,50	17,20
CV (%)	3,90	2,00	2,90	4,30	2,90	4,10
Exatidão (%)				100,50	106,00	104,90

DP: Desvio padrão; e CV Coeficiente de variação.

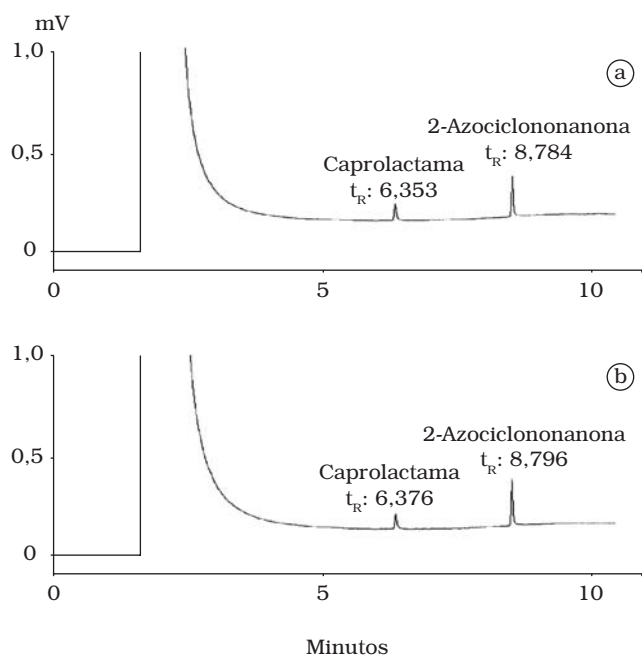


Figura 4. Cromatogramas típicos da quantificação da ϵ -caprolactama migrada de filmes contendo PA-6 para simulante solução de ácido acético 3%, obtidos por CG/DIC: a) marca 1 - produtos cárneos e b) marca 1 - queijos. Condições cromatográficas de acordo com a Tabela 1.

Tabela 3. Nível de ϵ -caprolactama (mg.kg^{-1}) migrada de filmes contendo PA-6, usados como embalagens de produtos cárneos (marcas 1-8) e de queijos (marcas 1-5) para o simulante solução de ácido acético 3% durante 10 dias a 40 °C.

Embalagem	Migração de ϵ -caprolactama (mg.kg^{-1})	
	Produtos cárneos	Queijos
1	9,49 (3,5) ^{bc}	6,92 (6,5) ^b
2	7,93 (3,3) ^e	7,59 (4,3) ^a
3	9,65 (4,1) ^b	7,01 (4,2) ^{ab}
4	10,46 (6,2) ^a	<LQ
5	8,88 (6,4) ^{cd}	ND
6	9,90 (5,0) ^{ab}	
7	8,57 (3,0) ^{de}	
8	7,75 (6,9) ^e	

Coefficiente de variação (%) entre parênteses. n = 6; médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente entre si no teste de Tukey ($p \geq 0,05$); LQ: limite de quantificação (1,6 ng); e ND: não detectada.

Entre os filmes contendo PA-6 usados para o acondicionamento de queijos, verificou-se que a marca 2 apresentou o maior conteúdo de ϵ -caprolactama migrada para o simulante solução de ácido acético 3% (7,59 mg.kg^{-1} de simulante), embora não tenha havido diferença significativa em relação à marca 3 ($p \geq 0,05$). Em uma das marcas de embalagem de queijo a ϵ -caprolactama não foi detectada e em outra, seu nível esteve abaixo do limite de quantificação do método (Tabela 3).

A literatura disponível sobre a migração de ϵ -caprolactama de filmes de PA para alimentos e simulantes é ainda restrita. Particularmente, em relação a embalagens de PA produzidas no país, não foram encontrados trabalhos descritos na literatura. No caso da solução de ácido acético 3%, Pogorzelska e Mielniczuk²² descreveram valores de ϵ -caprolactama migrada de filmes de PA para o simulante variando de 6,0 a 16,3 mg.kg^{-1} , que compreende a faixa obtida em nosso estudo para filmes

contendo PA-6, usados no acondicionamento de produtos cárneos e queijos.

Foi possível verificar que, em todas as amostras estudadas, o nível de ϵ -caprolactama migrada esteve abaixo do limite de migração específica estabelecido pela Legislação Brasileira para este monômero, que é de 15 mg.kg^{-1} de simulante¹.

4 Conclusões

O método desenvolvido e validado apresentou alta sensibilidade, boa precisão e exatidão, além de tempo máximo de análise de 11 minutos.

O método desenvolvido e validado foi eficaz para quantificar a ϵ -caprolactama migrada de filmes contendo PA-6 para simulante solução de ácido acético 3%.

Todas as embalagens estudadas atenderam às exigências da Legislação Brasileira para migração de ϵ -caprolactama.

Agradecimentos

À CAPES e ao PADC/FCF/UNESP pelo suporte financeiro.

Referências bibliográficas

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamentos técnicos: disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos e seus anexos**. Resolução nº 105, de 19 de maio de 1999. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=19772&word=>>>. Acesso em: 30 ago. 2006.
2. BARKBY, C. T.; LAWSON, G. Analysis of migrants from nylon 6 packaging films into boiling water. **Food Addit. Contam.**, v. 10, n. 5, p. 541-553, 1993.
3. BEGLEY, T. H.; GAY, M. L.; HOLLIFIELD, H. C. Determination of migrants in and migration from nylon food packaging. **Food Addit. Contam.**, v. 12, n. 5, p. 671-676, 1995.
4. BONIFACI, L.; FREZZOTTI, D.; CAVALCA, G.; MALAGUTI, E.; RAVANETTI, G. P. Analysis of ϵ -caprolactam and its oligomers by high-performance liquid chromatography. **J. Chromat.**, v. 585, n. 2, p. 333-336, 1991.
5. CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G. **Desenvolvimento de métodos por HPLC: fundamentos, estratégias e validação**. São Carlos: EdUFSCar, 2001.
6. DE FUSCO, R.; MONARCA, S.; BISCARDI, D.; PASQUINI, R.; FATIGONI, C. Leaching of mutagens into mineral water from polyethyleneterephthalate bottles. **Sci. Total Environ.**, v. 90, p. 241-248, 1990.
7. GRAMSHAW, J. W.; SOTO-VALDEZ, H. Migration from polyamide 'microwave and roasting bags' into roast chicken. **Food Addit. Contam.**, v. 15, n. 3, p.329-335, 1998.
8. GROMAN, A.; GUBERSKA, J. Gas chromatographic determination of ϵ -caprolactam migrating from plastic materials. **Polimery**, v. 44, n. 9, p. 618-622, 1999. In: Chemical Abstracts, 1997-2001. Abstract 132:22239. CD ROM.
9. GROSS, P. Biologic activity of epsilon-caprolactam. **Crit. Rev. Toxicol.** v. 13, n. 3, p. 205-216, 1984.
10. HERNANDEZ, R. J.; SELKE, S. E. M.; CULTER, J. D. **Plastics packaging: properties, processing, applications and regulations**. Cincinnati: Hanser Gardner Publications, 2000.

11. INTERNACIONAL Agency for Research on Cancer (Iarc) – **Summaries & evaluations: caprolactam (group 4)**, 1999. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/iarc/vol71/010-caprolactam.html>>. Acesso em: 30 jul. 2006.
12. INTERNATIONAL Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). **Harmonised guidelines for the in-house validation of methods of analysis (Technical Report)**. Disponível em: <<http://www.iupac.org/divisions/V/501/draftoct19.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2006.
13. JOINT Research Centre. **European Commission. Determination of caprolactam in food simulants**. Disponível em: <<http://cpf.jrc.it/smt/monomers/downloads/pm14200.pdf>>. Acesso em: 30 ago. 2006.
14. JOINT Research Centre. **European Commission. Index of substances: caprolactam**. Disponível em: <<http://cpf.jrc.it/smt/monomers/pm14200.htm>>. Acesso em: 30 ago. 2006.
15. Kulkarni, R.; Kanekar, P. simultaneous determination of epsilon-caprolactam and epsilon-aminocaproic acid by high-performance liquid chromatography. **Process Control Qual.**, v. 9, n. 1/3, p. 31-37, 1997.
16. LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. Rima: São Carlos, 2004.
17. MONTEIRO, M.; NERÍN, C.; REYES, F. G. R. Determination of UV stabilizers in PET bottles by high performance-size exclusion chromatography. **Food Addit. Contam.**, v. 13, n. 5, p. 575-586, 1996.
18. MONTEIRO, M. **Absorvedores de radiação ultravioleta em embalagens plásticas e em óleos vegetais: metodologia analítica e estudo de migração**. Campinas, 1997, 123 f. Tese (Doutora em Ciência de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
19. MONTEIRO, M.; NERÍN, C.; REYES, F. G. R. Migration of Tinuvin P a stabilizer, from PET bottles into fatty-food simulants. **Pack. Tech. Sci.**, v. 12, p. 241-248, 1999.
20. NASSER, A. L. M. **Identificação de oligômeros presentes em garrafas PET destinadas ao acondicionamento de água mineral e de suco de fruta: desenvolvimento e validação do método analítico**. Araraquara, 2003, 118 f. Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista (UNESP).
21. NERÍN, C. Alimentos preparados para cocinar en la bolsa. In: NERÍN, C.; CACHO, J.; REYES, F. G. R.; FARIA, J. A.; ANJOS, C. A. R.; PADULA, M. **Materiais plásticos em contato com alimentos**. Campinas: CETEA/ITAL, 1995. Cap. 5, p. 1-21. (apostila).
22. POGORZELSKA, Z.; MIELNICZUK, Z. Determination of ϵ -caprolactam migration from polyamide plastics: A new approach. **Packag. Technol. Sci.**, v. 14, n.1, p. 31-35, 2001.
23. RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
24. SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. Carnes, aves, pescados e derivados. In: SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, 2001. p.151-171.
25. SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. Queijos. In: SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, 2001. p. 175-182.
26. SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, M. L.; COLTRO, L.; VERCELINO, A. R. M.; CORRÊA, G. E. E. Principais materiais plásticos para embalagens flexíveis. In: SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, M. L.; COLTRO, L.; VERCELINO, A. R. M.; CORRÊA, G. E. E. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. p.1-43.
27. SHELDON, T. Chromosomal damage induced by caprolactam in human lymphocytes. **Mutat. Res.**, v. 224, n. 3, p. 325-327, 1989.
28. SOTO-VALDEZ, H.; GRAMSHAW, J. W.; VANDERBURG, H. J. Determination of potential migrants present in Nylon 'microwave and roasting bags' and migration into olive oil. **Food Addit. Contam.**, v. 14, n. 3, p. 309-318, 1997.
29. YAGOUBI, N.; BAILLET, A.; PELLERIN, F.; FERRIER, D. Physico-chemical behaviour of β irradiated plastic materials currently used as packaging and medical products. **Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B**, v. 105, n.1-4, p. 340-344, 1995.
30. ZHAO, Y.; JING, Z.; LI, H.; ZHANG, H. The determination of impurities in caprolactam by capillary gas chromatography-mass spectrometry. **Microchem. J.**, v. 69, n. 3, p. 213-217, 2001.