

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**MIGRAÇÃO DE METAIS POR INTERAÇÃO DAS
EMBALAGENS COM SOLUÇÕES PARENTERAIS**

TESE DE DOUTORADO

Denise de Castro Bertagnolli

**Santa Maria, RS, Brasil
2008**

MIGRAÇÃO DE METAIS POR INTERAÇÃO DAS EMBALAGENS COM SOLUÇÕES PARENTERAIS

por

Denise de Castro Bertagnolli

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora em Química.**

Orientadora: Profa. Dra. Denise Bohrer do Nascimento

**Santa Maria, RS, Brasil
2008**

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**MIGRAÇÃO DE METAIS POR INTERAÇÃO DAS EMBALAGENS COM
SOLUÇÕES PARARENTERAIS**

elaborada por

Denise de Castro Bertagnolli

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutora em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof^a. Dra. Denise Bohrer do Nascimento (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Prof^a. Dra. Simone Gonçalves Cardoso (UFSC)

Prof^a. Dra. Renata Pereira Limberger(UFRGS)

Prof^a. Dra. Tatiana Emanuelli (UFSM)

Prof. Dr. Leandro Machado Carvalho (UFSM)

Santa Maria, 19 de junho de 2008.

*“ Se um dia tiver que escolher entre o mundo e o amor, lembre-se:
Se escolher o mundo, ficará sem o amor,
mas se escolher o amor, com ele conquistará o mundo”.*

Albert Einstein

*Dedico este trabalho
Aos meus pais **Edilberto e Ana Maria**,
pelos ensinamentos, pelo amor e pelo incentivo;
a minha irmã **Silvia**, ao meu cunhado **Mairon**
e a minha sobrinha **Carine**,
pela ajuda, amizade e compreensão,
A minha sogra **Mari** e ao meu sogro **Alceu**
por terem me apoiado e pela paciência;
e aos meus **amigos**
pela força e pelo apoio.
Sem vocês minha luta não
estaria completa.
Obrigada por tudo!
Amo vocês!*

*Agradeço ao meu namorado e fiel companheiro, **Alceu Júnior**,
pela paciência, amor, cumplicidade, e, apoio.
Obrigada pela eterna dedicação e amor!*

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Denise Bohrer, agradeço pela amizade, consideração, orientação, sabedoria, paciência, críticas construtivas e por todas as contribuições para a minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento e ao Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho pela amizade e pelo esclarecimento de dúvidas pertinentes ao desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e colegas Cristiane Jost, Raquel Stefanello, Simone NoreMBERG, Marlei Veiga, Sandra Maria Ribeiro, Alexandre Schneider, Maurício Hilgemann, Carine Ieggli, Vanessa Mörschbacher, Claudia Carvalho, Alice Raabe, Cibele Canabarro, Fabiane Stringhini, Daiane Dias, Cristiane Spengler, Ana Paula Lima, Larissa Sabo, Lucas Trindade, Nolberto Adriano, Adriana Berggrav, Juliane Froncheti, agradeço pelo incentivo, apoio, conselhos e pelos momentos de descontração vividos ao longo deste período em que trabalhamos juntos.

À colega Lara Saccol pela ajuda na realização das medidas e pela amizade.

Ao grande amigo Antonio Boli, pela amizade, ajuda e momentos de descontração.

Aos amigos e familiares que não conviveram comigo durante esta etapa de minha vida, mas que sempre me apoiaram e acreditaram em mim.

A todos os funcionários e professores que colaboraram direta ou indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Hospital Universitário de Santa Maria, pela disponibilidade e apoio durante a realização da pesquisa.

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade oferecida de realizar o curso de doutorado.

À CAPES pela concessão da bolsa e pelo financiamento do doutorado sanduíche na cidade de Bremen Alemanha.

“A Deus por ter me mostrado o caminho e ter me possibilitado mais esta conquista!”

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

Resumo

MIGRAÇÃO DE METAIS POR INTERAÇÃO DAS EMBALAGENS COM SOLUÇÕES PARENTERAIS

Autora: Denise de Castro Bertagnolli

Orientadora: Prof^a Dra. Denise Bohrer do Nascimento

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 19 de junho de 2008.

Atualmente a administração parenteral, tanto de medicamentos quanto nutrientes, é uma prática muito difundida. Um dos riscos desta prática é a presença de contaminantes que, dependendo da sua natureza, podem acarretar graves danos aos pacientes devido à forma direta (na corrente circulatória) da administração.

Neste trabalho, investigou-se a possibilidade das embalagens serem fontes de contaminação por metais de soluções utilizadas na nutrição parenteral. As embalagens investigadas incluíram vários tipos de vidro e polímeros plásticos mais comumente utilizados (polipropileno, polivinil cloreto (PVC) e etil vinil acetato(EVA)).

As embalagens, nas quais foram armazenados individualmente os constituintes das soluções parenterais (aminoácidos, sais, glicose, vitaminas e lipídeos), foram submetidas ao processo de esterilização e de armazenagem a longo prazo, visto que a validade deste tipo de formulação é geralmente de 2 anos. Após a esterilização e em intervalos de tempo regulares, alíquotas das soluções foram retiradas e os teores em Al, Pb, Cd, Fe, Cr, Mn, Ba e Zn foram medidos por espectrometria de absorção atômica forno de grafite (GF AAS) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).

As embalagens utilizadas foram também analisadas para determinar quanto dos metais em estudo elas apresentavam, seja como constituinte, como é o caso do Al no vidro, ou como impureza, no caso de todos os metais nos polímeros plásticos.

Todas as embalagens continham os metais em estudo em maior ou menor concentração. As soluções, dependendo dos seus constituintes foram capazes de

extrair os metais, tanto do vidro quanto do plástico. As maiores taxas de extração ocorreram com as soluções dos aminoácidos cisteína e ácido glutâmico. Os metais extraídos em maiores quantidades foram Ba, Pb e Zn das embalagens plásticas e Al, Pb e Zn das embalagens de vidro. Observou-se diferente comportamento entre os diferentes polímeros e tipos de vidro. O EVA mostrou-se o polímero mais inerte, enquanto que as ampolas transparentes foram as que mais metais liberaram para as soluções.

Foram analisadas, também, 50 amostras comerciais, as quais se mostraram contaminadas pelos metais em estudo. Observou-se nas soluções comerciais a mesma tendência das soluções individuais do estudo, tanto com relação ao comportamento da embalagem, quanto ao conteúdo (ação do componente sobre a embalagem) e os metais extraídos.

Palavras-Chave: nutrição parenteral, embalagens plásticas, embalagens de vidro

ABSTRACT

MIGRATION OF METALS BY THE INTERACTION OF PACKAGES WITH PARARENTERAL SOLUTIONS

Author: Denise de Castro Bertagnolli

Advisor: Prof^a Dra. Denise Bohrer do Nascimento

The administration of medication and nutrients via parenteral is very used nowadays. One of the risks of this procedure is the presence of contaminants, which depending on their nature may cause severe damage to the patients due to the direct way of the administration (in the circulatory stream).

In this work we investigated the possibility of the containers to be sources of metals for solutions of parenteral nutrition. The investigated containers are made of different kinds of glass and plastic polymers, namely polypropylene, PVC and EVA.

The system container/solution (amino acids, salts, glucose and lipids) individually stored, was submitted to the sterilization process and after that stored for a time period of approximately 10 months, since the shelf-life period of these formulations are generally 2 years. After the sterilization and at regular time intervals, aliquots of each solution were collected and their contents on Al, Pb, Cd, Fe, Cr, Mn, Ba, and Zn were measured by graphite furnace atomic absorption spectrometry.

The containers were also analyzed for the determination of the amount of each metal they contained. These metals are either constituents of the container material, as Al in glasses, or impurities in the case of plastic polymers.

All containers presented the metals investigated. The solutions, depending on their composition (species dissolved) were able to extract the metals either from the glass or the polymers. The highest extraction rates occurred in solutions of the amino acids cysteine and glutamic acid, and in solutions of NaHCO₃. The metals released in higher concentration were Ba, Pb and Zn from plastic containers and Al, Pb and Zn from glass containers.

A different behavior was observed among the plastic polymers, and the different kinds of glass. While EVA was the most inert polymer, the clear glass ampoule released the highest amount of metals into the solutions.

Fifty commercial samples were analyzed as well, and the investigated metals were found in all of them. The commercial formulations presented the same tendency of the individual sample used in the study, either in relation to the behavior of the substance in solution or the container material.

Keywords: parenteral nutrition, plastic containers, glass containers

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|-----|
| FIGURA 1 – Correlação entre as medidas realizadas para a determinação de metais por GF AAS e ICP-MS..... | 100 |
| FIGURA 2 – Concentração dos metais na água antes e depois do processo de esterilização nas embalagens de PVC..... | 102 |
| FIGURA 3 – Concentração de Al nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização..... | 102 |
| FIGURA 4 – Concentração de Ba nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização..... | 103 |
| FIGURA 5 – Concentração de Cd nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização..... | 104 |
| FIGURA 6 – Concentração de Pb nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização..... | 104 |
| FIGURA 7 – Concentração de Cr nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização..... | 105 |
| FIGURA 8 – Concentração de Zn nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização..... | 106 |
| FIGURA 9 – Concentração dos metais na água antes e depois do processo de esterilização nas embalagens de PP..... | 107 |
| FIGURA 10 – Concentração de Al nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP antes e depois da esterilização... | 108 |
| FIGURA 11 – Concentração de Ba nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP antes e depois da esterilização... | 109 |
| FIGURA 12 – Concentração de Cd nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP antes e depois da esterilização... | 109 |
| FIGURA 13 – Concentração de Pb nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP antes e depois da esterilização... | 110 |
| FIGURA 14 – Concentração de Cr nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP antes e depois da esterilização.. | 111 |
| FIGURA 15 – Concentração de Zn nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP antes e depois da esterilização... | 111 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 16 – Concentração dos metais na água antes e depois do processo de esterilização da embalagem EVA..... | 113 |
| FIGURA 17 – Concentração de Al em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização..... | 114 |
| FIGURA 18 – Concentração de Ba em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização..... | 114 |
| FIGURA 19 – Concentração de Cd em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização..... | 115 |
| FIGURA 20 – Concentração de Pb em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização..... | 116 |
| FIGURA 21 – Concentração de Cr em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização..... | 116 |
| FIGURA 22 – Concentração de Zn em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização..... | 117 |
| FIGURA 23 – Al extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo..... | 119 |
| FIGURA 24 – Ba extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo..... | 120 |
| FIGURA 25 – Cd extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo..... | 121 |
| FIGURA 26 – Pb extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo..... | 122 |
| FIGURA 27 – Cr extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo..... | 123 |
| FIGURA 28 – Mn extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo..... | 124 |

| | |
|--|-----|
| FIGURA 29 – Zn extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo..... | 125 |
| FIGURA 30 – Al extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias..... | 126 |
| FIGURA 31 – Ba extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias..... | 127 |
| FIGURA 32 – Cd extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias..... | 128 |
| FIGURA 33 – Pb extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias..... | 129 |
| FIGURA 34 – Cr extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias..... | 130 |
| FIGURA 35 – Zn extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias..... | 131 |
| FIGURA 36 – Al extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias..... | 132 |
| FIGURA 37 – Ba extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias..... | 133 |
| FIGURA 38 – Cd extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias..... | 134 |
| FIGURA 39 – Pb extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias..... | 135 |
| FIGURA 40 – Cr extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias..... | 136 |
| FIGURA 41 – Zn extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias..... | 137 |
| FIGURA 42 – Concentração dos metais na água antes e depois da esterilização em embalagens de vidro de pequeno volume..... | 147 |
| FIGURA 43 – Concentração de Al nas soluções de substâncias armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume antes e depois da esterilização..... | 147 |
| FIGURA 44 – Concentração de Cd nas soluções de substâncias armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume antes e depois da esterilização..... | 148 |

| | |
|--|-----|
| FIGURA 45 – Concentração de Pb nas soluções de substâncias armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume antes e depois da esterilização..... | 148 |
| FIGURA 46 – Concentração de Cr nas soluções de substâncias armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume antes e depois da esterilização..... | 149 |
| FIGURA 47 – Concentração de Fe nas soluções armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume antes e depois da esterilização..... | 150 |
| FIGURA 48 – Concentração de Zn em embalagens de vidro de pequeno volume antes e depois da esterilização..... | 150 |
| FIGURA 49 – Concentração dos metais na água antes e depois da esterilização em embalagens de vidro de grande volume..... | 152 |
| FIGURA 50 – Concentração de Al em embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização..... | 152 |
| FIGURA 51 – Concentração de Cd em embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização..... | 153 |
| FIGURA 52 – Concentração de Pb em embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização..... | 154 |
| FIGURA 53 – Concentração de Cr nas embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização..... | 154 |
| FIGURA 54 – Concentração de Fe nas embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização..... | 155 |
| FIGURA 55 – Concentração de Zn nas embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização..... | 156 |
| FIGURA 56 – Concentração dos metais na água antes e depois da esterilização em ampolas de vidro âmbar..... | 157 |
| FIGURA 57 – Concentração de Al nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização..... | 158 |
| FIGURA 58 – Concentração de Cd nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização..... | 158 |
| FIGURA 59 – Concentração de Pb nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização | 159 |
| FIGURA 60 – Concentração de Cr nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização..... | 160 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 61 – Concentração de Fe nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização..... | 160 |
| FIGURA 62 – Concentração de Zn nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização..... | 161 |
| FIGURA 63 – Concentração dos metais na água antes e depois da esterilização em ampolas de vidro transparente..... | 162 |
| FIGURA 64 – Concentração de Al nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização..... | 163 |
| FIGURA 65 – Concentração de Cd nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização..... | 163 |
| FIGURA 66 – Concentração de Pb nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização..... | 164 |
| FIGURA 67 – Concentração de Cr nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização..... | 165 |
| FIGURA 68 – Concentração de Fe nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização..... | 165 |
| FIGURA 69 – Concentração de Zn nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização..... | 166 |
| FIGURA 70 – Al extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 168 |
| FIGURA 71 – Cd extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 169 |
| FIGURA 72 – Pb extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 170 |
| FIGURA 73 – Cr extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 171 |
| FIGURA 74 – Fe extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 172 |
| FIGURA 75 – Zn extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 173 |
| FIGURA 76 – Al extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 174 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 77 – Cd extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 175 |
| FIGURA 78 – Pb extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 175 |
| FIGURA 79 – Cr extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 176 |
| FIGURA 80 – Fe extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 177 |
| FIGURA 81 – Zn extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias..... | 178 |
| FIGURA 82 – Al extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias..... | 179 |
| FIGURA 83 – Cd extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias..... | 180 |
| FIGURA 84 – Pb extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias..... | 181 |
| FIGURA 85 – Cr extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias..... | 181 |
| FIGURA 86 – Fe extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias..... | 182 |
| FIGURA 87 – Zn extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias..... | 183 |
| FIGURA 88 – Al extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias..... | 184 |
| FIGURA 89 – Cd extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias..... | 184 |
| FIGURA 90 – Pb extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias..... | 185 |
| FIGURA 91 – Cr extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias..... | 186 |
| FIGURA 92 – Fe extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias..... | 187 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 93 – Zn extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias..... | 187 |
| FIGURA 94 – Metais presentes nas embalagens plásticas para nutrição parenteral..... | 192 |
| FIGURA 95 – Metais presentes nas embalagens de PET..... | 193 |
| FIGURA 96 – Metais presentes nas embalagens de vidro..... | 195 |
| FIGURA 97 – Troca iônica na interface membrana/solução. Prótons trocam com o íon Na^+ da estrutura do silicato em uma membrana de vidro..... | 197 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1 – Exemplos de polímeros e seus respectivos monômeros..... | 42 |
| TABELA 2 – Concentração em g/L dos aminoácidos em formulações comerciais..... | 56 |
| TABELA 3 – Composição das emulsões lipídicas em formulações comerciais usadas na nutrição parenteral, em gramas..... | 58 |
| TABELA 4 – Composição de medicamentos injetáveis comerciais, em gramas... | 59 |
| TABELA 5 – Composição das vitaminas em formulações comerciais em mg/10 mL de água..... | 59 |
| TABELA 6 – Descrição dos programas de temperatura para os metais determinados por GF AAS..... | 61 |
| TABELA 7 – Calibração diária do equipamento ICP-MS..... | 67 |
| TABELA 8 – Soluções padrões utilizadas em (µg/L) para o método ICP-MS..... | 68 |
| TABELA 9 – Composição percentual (m/m), das embalagens de vidro tipo I (borossilicato), utilizadas em soluções de nutrição parenteral..... | 80 |
| TABELA 10 – Material polimérico, sua unidade estrutural, usos farmacêuticos e catalisadores utilizados na reação de polimerização e aditivos..... | 78 |
| TABELA 11 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presentes em soluções comerciais armazenadas em embalagens plásticas, determinados por GF AAS..... | 82 |
| TABELA 12 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presentes em soluções comerciais (injetáveis) armazenadas em embalagens plásticas, determinados por GF AAS | 83 |
| TABELA 13 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presentes em soluções comerciais (aminoácidos, elementos essenciais e emulsões lipídicas) armazenadas em embalagens de vidro, determinados por GF AAS | 84 |
| TABELA 14 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presentes em soluções comerciais armazenadas em embalagens de vidro, determinados por GF AAS .. | 85 |
| TABELA 15 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presentes em soluções comerciais (vitaminas) armazenadas em embalagens de vidro, determinados por GF AAS | 86 |

| | |
|---|-----|
| TABELA 16 – Limites de metais em algumas matérias-primas em µg/g..... | 89 |
| TABELA 17 – Quantidade de metais presentes nos aminoácidos como impureza, em µg/g de substância, determinados por GF AAS..... | 91 |
| TABELA 18 – Quantidade de metais presentes nos sais, glicose e outras substâncias em µg/g de substância, determinados por GF AAS..... | 93 |
| TABELA 19 – Recuperação das espécies metálicas em diferentes embalagens após a decomposição por calcinação e dissolução em H ₂ SO ₄ , determinada por GF AAS..... | 96 |
| TABELA 20 – Teores dos metais presentes nas embalagens plásticas em µg do metal/g de embalagem..... | 98 |
| TABELA 21 – Teores dos metais presentes nas embalagens plásticas PET em µg do metal/g de embalagem..... | 99 |
| TABELA 22 – Recuperação das espécies frente à diferentes embalagens de vidro para o procedimento 1 (microondas) , determinação por GF AAS..... | 141 |
| TABELA 23 – Recuperação de espécies frente à diferentes embalagens de vidro para o procedimento 2 (sem microondas) , determinação por GF AAS..... | 142 |
| TABELA 24 – Tabela 24 – Concentração dos metais nas embalagens de vidro utilizando o procedimento 1 (microondas), em µg/g..... | 144 |
| TABELA 25 – Concentração dos metais nas embalagens de vidro utilizando o procedimento 2 (sem microondas)..... | 145 |
| TABELA 26: Classificação dos ácidos e bases de Lewis usando o critério duros e moles..... | 199 |
| TABELA 27 – Constantes de estabilidade conhecidas dos aminoácidos com os metais..... | 200 |
| TABELA 28 – Alumínio extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 205 |
| TABELA 29 – Bário extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 206 |
| TABELA 30 – Cádmi extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 207 |
| TABELA 31 – Chumbo extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 208 |

| | |
|--|-----|
| TABELA 32 – Cromo extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 209 |
| TABELA 33 – Manganês extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 210 |
| TABELA 34 – Zinco extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 211 |
| TABELA 35 – Alumínio extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 212 |
| TABELA 36 – Bário extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 213 |
| TABELA 37 – Cádmio extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 214 |
| TABELA 38 – Chumbo extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 215 |
| TABELA 39 – Cromo extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 216 |
| TABELA 40 – Zinco extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 217 |
| TABELA 41 – Alumínio extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 218 |
| TABELA 42 – Bário extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 219 |
| TABELA 43 – Cádmio extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 220 |
| TABELA 44 – Chumbo extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 221 |
| TABELA 45 – Cromo extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 222 |
| TABELA 46 – Zinco extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento..... | 223 |
| TABELA 47 – Alumínio extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 224 |

| | |
|---|-----|
| TABELA 48 – Cádmió extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 225 |
| TABELA 49 – Chumbo extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 226 |
| TABELA 50 – Cromo extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 227 |
| TABELA 51 – Ferro extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 228 |
| TABELA 52 – Zinco extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 229 |
| TABELA 53 – Alumínio extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 230 |
| TABELA 54 – Cádmió extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 231 |
| TABELA 55 – Chumbo extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 232 |
| TABELA 56 – Cromo extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 233 |
| TABELA 57 – Ferro extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 234 |
| TABELA 58 – Zinco extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 235 |
| TABELA 59 – Alumínio extraído das ampolas âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 236 |
| TABELA 60 – Cádmió extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 237 |
| TABELA 61 – Chumbo extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 238 |
| TABELA 62 – Cromo extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 239 |
| TABELA 63 – Ferro extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 240 |

| | |
|--|-----|
| TABELA 64 – Zinco extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 241 |
| TABELA 65 – Alumínio extraído das ampolas de vidro transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 242 |
| TABELA 66 – Cádmio extraído das ampolas de vidro transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 243 |
| TABELA 67 – Chumbo extraído das ampolas de vidro transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 244 |
| TABELA 68 – Cromo extraído das ampolas de vidro transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 245 |
| TABELA 69 – Ferro extraído das ampolas de vidro transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 246 |
| TABELA 70 – Zinco extraído das ampolas de vidro transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento..... | 247 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

| | |
|-----------------|--|
| NP | Nutrição parenteral |
| PVC | Polivinilcloreto |
| PE | Polietileno |
| PS | Poliestireno |
| PET | Polietileno tereftalato |
| EVA | Etil vinil acetato |
| PP | Polipropileno |
| AAS | Espectrometria de absorção atômica |
| GF AAS | Espectrometria de Absorção Atômica Forno de Grafite |
| ICP-MS | Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado |
| LPV | Soluções parenterais de grande volume |
| SPV | Soluções parenterais de pequeno volume |
| USP | United States Pharmacopeia – Farmacopéia Americana |
| BP | British Pharmacopeia – Farmacopéia Britânica |
| SNC | Sistema nervoso central |
| PMA | Pharmaceutical Manufactures Association |
| DNA | Ácido desoxiribonucléico |
| NF | National Formulary |
| FDA | Food and Drugs Administration |
| HDPE | Polietileno de alta densidade |
| PTFE | Politetrafluoretileno |
| Ácido aspártico | Asp |
| Ácido glutâmico | Glu |
| Arginina | Arg |
| Asparagina | Asn |
| Cisteína | Cys |
| Fenilalanina | Phe |
| Glicina | Gly |
| Histidina | His |
| Isoleucina | Ile |
| Leucina | Leu |

| | |
|-------------------|----------|
| Lisina | Lys |
| Metionina | Met |
| N-acetil tirosina | N-acetyl |
| Ornitina | Orn |
| Prolina | Pro |
| Serina | Ser |
| Tirosina | Tyr |
| Treonina | Thr |
| Triptofano | Trp |

LISTA DE APÊNDICES

| | |
|---|-----|
| APÊNDICES..... | 202 |
| Apêndice 1 – Reagentes utilizados..... | 202 |
| Apêndice 2 – Resultados da extração de metais em embalagens plásticas, em $\mu\text{g/g}$ | 205 |
| Apêndice 3 – Resultados da extração de metais em embalagens de vidro, em $\mu\text{g/g}$ | 224 |
| Apêndice 4 – Composição das embalagens plásticas utilizadas para armazenar as soluções parenterais..... | 248 |
| Apêndice 5 – Composição das embalagens de vidro utilizadas para armazenar as soluções parenterais..... | 249 |
| Apêndice 6 – Estrutura e classificação dos aminoácidos..... | 251 |
| Apêndice 7 – Limites estabelecidos pelas Farmacopéias para metais em embalagens plásticas..... | 254 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 30 |
| 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 32 |
| 2.1 – Nutrição parenteral..... | 32 |
| 2.2 – Metais no organismo..... | 34 |
| 2.3 – Embalagens utilizadas para armazenar soluções de nutrição parenteral..... | 41 |
| 2.3.1 – Embalagens plásticas..... | 41 |
| 2.3.2 – Embalagens de vidro..... | 46 |
| 2.4 – Procedimentos de esterilização das soluções parenterais..... | 51 |
| 3 – MATERIAIS E MÉTODOS..... | 53 |
| 3.1 – Instrumentação..... | 53 |
| 3.2 – Reagentes e soluções..... | 54 |
| 3.3 – Prevenção da contaminação..... | 54 |
| 3.4 – Composição das soluções comerciais utilizadas..... | 55 |
| 3.5 – Condições utilizadas na determinação dos metais..... | 62 |
| 3.5.1 – Espectrometria de Absorção Atômica Forno de Grafite - GF AAS..... | 62 |
| 3.5.2 – Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado – ICP-MS..... | 67 |
| 3.6 – Determinação de Al, BA, Cd, Cr, Fe, Pb, Mn e Zn da matéria-prima utilizada no preparo das soluções..... | 69 |
| 3.7 – Determinação de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn em soluções comerciais..... | 69 |
| 3.8 – Embalagens plásticas..... | 70 |
| 3.8.1 – Validação do método de decomposição das embalagens plásticas..... | 70 |
| 3.8.2 – Decomposição das embalagens plásticas..... | 71 |
| 3.8.3 – Preparo das embalagens plásticas..... | 72 |
| 3.8.4 – Influência do processo de esterilização na extração de Al, Ba, Cd, Cr, Mn, Pb e Zn das embalagens plásticas por ação das substâncias usadas nas soluções de nutrição parenteral..... | 72 |
| 3.8.5 – Determinação de Al, BA, Cd, Cr, Mn, Pb e Zn extraído das embalagens plásticas por ação das substâncias usadas nas soluções de nutrição parenteral em função do tempo de contato..... | 73 |
| 3.9 – Embalagens de vidro..... | 74 |

| | |
|---|-----|
| 3.9.1 – Validação do método de decomposição das embalagens de vidro..... | 74 |
| 3.9.2 – Decomposição das embalagens de vidro..... | 75 |
| 3.9.3 – Preparo das embalagens de vidro..... | 76 |
| 3.9.4 – Influência do processo de esterilização na extração de Al, Cd, Cr, Fe, Pb e Zn das embalagens de vidro por ação das substâncias usadas nas soluções de nutrição parenteral..... | 76 |
| 3.9.5 – Determinação de Al, Cd, Cr, Fe, Pb e Zn extraído das embalagens de vidro por ação das substâncias usadas em nutrição parenteral em função do tempo de contato..... | 77 |
| 4 RESULTADOS..... | 78 |
| 4.1 – Investigação do teor dos metais presentes na matéria-prima utilizada na preparação de soluções parenterais..... | 87 |
| 4.2 – Contribuição da embalagem plásticas na contaminação por metais de soluções de uso parenteral..... | 94 |
| 4.2.1 – Decomposição das embalagens plásticas e determinação dos metais..... | 94 |
| 4.2.2 – Influência do processo de esterilização na extração de metais das embalagens plásticas..... | 101 |
| 4.2.2.1 – Embalagem de polivinil cloreto (PVC)..... | 101 |
| 4.2.2.2 – Embalagem de polipropileno (PP)..... | 106 |
| 4.2.2.3 – Embalagem de etil vinil acetato (EVA)..... | 112 |
| 4.3 – Conclusões: Embalagens plásticas X Esterilização..... | 117 |
| 4.4 – Estudo para verificar o efeito do tempo de armazenagem..... | 118 |
| 4.4.1 – Embalagens de PVC..... | 119 |
| 4.4.2 – Embalagens de PP..... | 126 |
| 4.4.3 – Embalagens de EVA..... | 131 |
| 4.5 – Conclusões: Embalagens plásticas X Armazenamento..... | 137 |
| 4.6 – Contribuição da embalagem de vidro na contaminação por metais de soluções de uso parenteral..... | 139 |
| 4.6.1 – Validação da decomposição das embalagens de vidro..... | 140 |
| 4.6.2 – Influência da esterilização na extração de metais das embalagens de vidro..... | 146 |
| 4.6.2.1 – Embalagem de vidro de pequeno volume..... | 146 |
| 4.6.2.2 – Embalagem de vidro de grande volume..... | 151 |

| | |
|---|-----|
| 4.6.2.3 – Ampolas de vidro âmbar..... | 156 |
| 4.6.2.4 – Ampolas de vidro transparentes..... | 161 |
| 4.7 – Conclusões: Embalagens de vidro X Esterilização..... | 167 |
| 4.8 – Ensaio para verificar o efeito do tempo de armazenagem..... | 167 |
| 4.8.1 – Embalagem de pequeno volume..... | 168 |
| 4.8.2 - Embalagem de grande volume..... | 173 |
| 4.8.3 – Ampolas de vidro âmbar..... | 178 |
| 4.8.4 – Ampolas de vidro transparentes..... | 183 |
| 4.9 – Conclusões: Embalagens de vidro X Armazenamento..... | 188 |
| 4.10 – Sumário final dos resultados..... | 189 |
| 5 DISCUSSAO DOS RESULTADOS..... | 191 |
| 5.1 – Embalagens plásticas..... | 191 |
| 5.1.1 – Esterilização e ensaio de longo prazo..... | 193 |
| 5.2 – Embalagens de vidro..... | 194 |
| 5.2.1 – Esterilização e ensaio de longo prazo..... | 195 |
| 5.3 – Interação dos metais com os constituintes das soluções... .. | 196 |
| 6 CONCLUSÕES..... | 201 |
| APÊNDICES..... | 202 |
| Apêndice 1 – Reagentes utilizados..... | 202 |
| Apêndice 2 – Resultados da extração de metais em embalagens plásticas, em µg/g..... | 205 |
| Apêndice 3 – Resultados da extração de metais em embalagens de vidro, em µg/g..... | 224 |
| Apêndice 4 – Composição das embalagens plásticas utilizadas para armazenar as soluções parenterais | 248 |
| Apêndice 5 –Composição das embalagens de vidro utilizadas para armazenar as soluções parenterais | 249 |
| Apêndice 6 – Estrutura e classificação dos aminoácidos..... | 251 |
| Apêndice 7 – Limites estabelecidos pelas Farmacopéias para metais em embalagens plásticas..... | 254 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 255 |

1 INTRODUÇÃO

A investigação da presença de metais contaminantes na terapia de nutrição parenteral (NP) torna-se muito importante, devido ao fato destas soluções serem amplamente utilizadas por pessoas com saúde debilitada e com problemas (como infecções, queimaduras graves, doença intestinal infecciosa), bebês prematuros e pacientes com insuficiência renal crônica [WAITABERG, 1995].

A terapia de NP contém macro (aminoácidos, glicose, lipídios) e micronutrientes (vitaminas, eletrólitos e oligoelementos) que são administrados diretamente na corrente sanguínea.

Na literatura há poucos estudos sobre a contaminação das soluções parenterais por espécies metálicas. Considerando o grande volume administrado ao paciente, podendo chegar a 3 litros/dia conforme o peso e necessidade do paciente, eventuais contaminantes presentes nas soluções, mesmo em baixas concentrações, podem significar uma quantidade elevada introduzida no organismo. Como a via de administração é parenteral, espécies contaminantes não são eliminadas pelo trato gastrointestinal, como ocorre quando a ingestão se dá por via oral.

As prováveis fontes de contaminação são a matéria-prima utilizada no preparo das soluções e as embalagens para armazenamento. Via de regra a matéria-prima utilizada em produtos farmacêuticos apresenta a qualidade adequada. As embalagens, apesar de cumprir com o estipulado nas farmacopéias com relação à sua qualidade, podem ser fontes de contaminação devido à natureza variada das mesmas. Apesar do vidro e plásticos serem os materiais de referência, suas composições podem variar enormemente (Apêndice 7).

Neste trabalho, estudou-se a composição das embalagens plásticas e de vidro utilizadas em NP e, a partir das espécies metálicas encontradas, a possibilidade de sua extração por ação dos constituintes das formulações.

Os objetivos deste trabalho são: identificar as possíveis fontes de contaminação das soluções parenterais, investigar a capacidade de migração dos metais Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn de embalagens plásticas e de vidro por ação de soluções de aminoácidos, sais e outras substâncias bem como verificar a

contribuição do processo de esterilização e armazenamento a longo prazo (tempo de prateleira) na extração dos metais das embalagens

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Nutrição Parenteral

A nutrição Parenteral (NP) pode ser definida como a administração de nutrientes por uma via que não a gastrointestinal, em geral, a intravenosa. Este conceito foi posto em prática pela primeira vez em 1968 por Dudrick [FISCHER, 1978]. Ela pode ser classificada em dois grandes grupos: nutrição parenteral como tratamento de apoio e nutrição parenteral como terapia primária.

A NP como medida de apoio é utilizada em pacientes portadores de diversas doenças complexas, em pacientes cirúrgicos, tanto no pré como no pós-operatório e pacientes pediátricos. Quando a ingestão normal por via oral é suspensa, utiliza-se a nutrição parenteral como terapia primária, como nos casos de fístula enterocutânea, enteropatia inflamatória, insuficiência renal aguda e crônica, insuficiência cardíaca e insuficiência hepática.

As soluções de NP são compostas de misturas de aminoácidos, soluções salinas, soluções de traços metálicos essenciais, além de glicose e alumina. Estas soluções são preparadas de acordo com as necessidades nutricionais de cada paciente [WAITABERG, 1995]. Dentre os tipos de soluções disponíveis estão os hidrolisados protéicos, soluções cristalinas de aminoácidos e emulsões lipídicas.

A NP oferece um meio relativamente fácil de tratar as deficiências nutricionais de forma suplementar ou primária e propicia a restauração das funções fisiológicas do organismo, levando a uma queda na morbidade e mortalidade tradicionalmente previstas para qualquer doença [FISCHER, 1978; POLAK, 1991].

No entanto é preciso reconhecer que a manipulação das soluções parenterais não é totalmente isenta de riscos. Existe não só o risco de contaminação microbiológica (no momento da administração), como química, tendo em vista que elementos como o boro, o molibdênio, o vanádio, o níquel e o alumínio foram encontrados como contaminantes nas soluções de nutrição parenteral [FISCHER, 1978]

A Farmacopéia Americana (USP), define que as soluções de nutrição parenteral são divididas em dois grupos, segundo o volume: soluções parenterais de grande volume (LPV) e soluções de pequeno volume (SPV). As soluções de LPV são aquelas de 100 mL ou mais e as soluções SPV são as com volume inferior a 100 mL.

Tanto as formulações de pequeno volume quanto as de grande volume são desenvolvidas para:

- fornecer água, eletrólitos e carboidratos para suprir as necessidades do corpo;
- agir como veículo para a infusão de medicamentos que são compatíveis com a solução;
- suprir as necessidades nutricionais quando é a única fonte de nutrientes;
- prover solução para corrigir o balanço ácido-básico do organismo;
- agir como expansores do plasma;
- promover diurese quando o corpo retém líquidos;
- agir como agente dialisante em pacientes com função renal enfraquecida.

Geralmente, as soluções de grande volume abrangem as formulações de aminoácidos que fornecem suporte nutricional, emulsões lipídicas para fornecer calorias e elementos essenciais, entre outras soluções específicas para o suporte renal, hepático e para recém-nascidos.

Soluções salinas, como cloreto de sódio (0,9 e 10%), cloreto de potássio (7,5 e 10%), glicose (10 e 50%), são alguns exemplos de soluções de pequeno volume, ou seja, são armazenadas em embalagens de menos de 100 mL. Inclui-se nessa classificação as soluções de cloreto de cálcio, magnésio, acetato de sódio, bicarbonato de sódio, todos com concentração de 10%. As soluções de oligoelementos, cloreto de cromo, sulfato de zinco, sulfato de cobre e sulfato de manganês, são de pequeno volume, sendo que suas concentrações variam de acordo com a necessidade do paciente.

A administração intravenosa fornece uma resposta rápida à suplementação de medicamentos, pois promove uma dispersão maior de grandes quantidades de fluidos e medicamentos a todas as partes do corpo [AVIS *et al.*, 1986].

A indústria farmacêutica tem desenvolvido técnicas e equipamentos, onde algumas soluções de aminoácidos e glicose, pré-esterilizadas, podem ser

combinadas assepticamente, e as soluções resultantes podem ter uma vida média de cerca de 3 meses a 4°C.

Estudos por espectrometria de absorção atômica (AAS) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) demonstram contaminações significativas das soluções parenterais por metais tóxicos como zinco, titânio, cromo, chumbo, arsênio, bário, germânio, alumínio e manganês. Estes metais podem se depositar em vários órgãos e causar danos aos pacientes. No caso da NP, podem ocorrer interações entre os metais tóxicos e os outros nutrientes, modificando a biodisponibilidade destes metais [HARRARI *et al.*, 1995; PLUHATOR-MURTON *et al.*, 1999; BUCHMAN *et al.*, 2001].

A origem da contaminação das soluções parenterais pode ser atribuída a diversos fatores como a embalagem (frasco e/ou tampa), ao processo de esterilização (pois promove a liberação dos metais das embalagens para a solução) e até mesmo os componentes das soluções [BINOTTO, 2001].

O tempo e a temperatura de armazenamento também podem contribuir para a contaminação das soluções. Apesar da contaminação ser em nível de traços, quando administrados a pacientes debilitados oferece risco potencial de acumulação e toxicidade [KLEIN, 1998].

Na literatura há poucos estudos sobre soluções de NP considerando a possibilidade de interações entre os metais e os seus constituintes, principalmente os aminoácidos, que podem atuar como ligantes para os metais. Sabe-se que em soluções de NP, os aminoácidos estão presentes na faixa de concentração de mg L⁻¹ e, devido a sua estrutura, são hábeis em atuar como ligantes para íons metálicos, assim o transporte destes íons no organismo pode ser facilitado.

2.2 – Metais no Organismo

No organismo humano os elementos-traço podem ser divididos em essenciais e não-essenciais. Elementos-traço essenciais são aqueles fundamentais para o desenvolvimento e a manutenção da vida, devido à sua participação nos processos

bioquímicos. Sua deficiência ou ausência na dieta levará às chamadas patologias carenciais. Por outro lado o excesso desses elementos pode levar à intoxicação.

Já os elementos-traço não essenciais são aqueles que não apresentam finalidade definida e possuem efeitos tóxicos sobre o organismo.

Dentre os elementos essenciais cita-se o iodo, o ferro, o zinco, o cobre, o manganês, o molibdênio, o selênio e o cromo [CHAPPUIS *et al.*, 1991; LEUNG, 1995; PLUHATOR-MURTON *et al.*, 1999].

Sabe-se que quantidades diminutas de determinados metais tóxicos causam efeitos deletérios, porém, estes efeitos variam com o modo, a quantidade e grau da exposição, com o estado nutricional, o metabolismo individual e a capacidade de detoxicação. Os mecanismos de toxicidade são múltiplos e incluem a inibição de enzimas e/ou co-fatores, a interferência na permeabilidade das membranas celulares e outros processos de transporte, o decréscimo na função neuronal ou dos processos de condução nervosa, a interferência na estrutura e função de proteínas e ácidos nucleicos e o aumento da formação de radicais livres [PAVANETTO *et al.*, 1989].

Entre os elementos não essenciais ou tóxicos ao organismo humano temos o alumínio, bário, cádmio, chumbo, sendo que o conhecimento sobre a distribuição destas espécies pode auxiliar na explicação da absorção, distribuição e excreção dos metais no organismo humano.

Neste trabalho, determinou-se o teor de alumínio, bário, cádmio, chumbo, cromo, ferro, manganês e zinco em embalagens e soluções parenterais.

O alumínio é um elemento onipresente no ambiente, é o metal mais abundante da crosta terrestre, perfazendo cerca de 8%. É um elemento não essencial, porém está presente no organismo humano. A exposição a esse elemento se dá principalmente soluções de nutrição parenteral e medicamentos contaminados por alumínio.

O homem tem contato com o alumínio ou seus compostos diariamente, ingerindo cerca de 10 a 100 mg, tanto por via oral, como por inalação, através de alimentos, utensílios domésticos, medicamentos e através da água potável, uma vez que o sulfato de alumínio é utilizado como floculante na purificação da mesma. Alguns antiácidos e tampões medicinais podem ser uma fonte potencial de entrada do mesmo no organismo. Porém, apenas uma parte deste alumínio é absorvida, sendo posteriormente, eliminado por via renal. Em indivíduos com a função renal

debilitada ou com insuficiência renal, todo alumínio absorvido deposita-se no organismo, preferencialmente no tecido ósseo, onde faz trocas com o cálcio, causando osteodistrofia e no tecido cerebral, causando encefalopatia [MERIAN, 1991; KLEIN *et al.*, 1991].

A FDA (Food and Drug Administration) investiga o problema da contaminação por alumínio nas soluções de nutrição parenteral desde 1986, e propõe que a concentração máxima de alumínio nas soluções de NP seja 25 µg/L. Porém, mesmo que esta contaminação seja pequena, há a variação no volume administrado diariamente, a exposição a grandes volumes pode levar à intoxicação. A FDA propõe reformas para regulamentar não só a concentração máxima permitida, como também o volume máximo de solução de NP administrado por dia para cada paciente [KLEIN *et al.*, 1998].

O cádmio é um elemento escasso na crosta terrestre, é um metal pesado que produz efeitos tóxicos nos organismos vivos, mesmo em concentrações muito pequenas. O tempo de meia-vida do cádmio é de 10 a 30 anos, sendo de lenta excreção pelo organismo humano. A exposição ao cádmio nos humanos ocorre geralmente através de duas fontes principais: a primeira é por via oral (ingestão de água e alimentos contaminados), e a segunda por inalação. Alguns órgãos vitais são alvos da toxicidade do cádmio. Em organismos intensamente expostos, o cádmio ocasiona graves enfermidades ao atuar sobre estes órgãos. A inalação de doses elevadas produz intoxicação aguda caracterizada por pneumonia e edema pulmonar. Está associado com frequência à lesão renal, hipertensão, aterosclerose, imunodepressão em fumantes, dores osteoarticulares, disfunção pulmonar, entre outras. A ingestão de Zn, Ca, Mg e Cu inibem a absorção e retenção de cádmio no organismo [PAVANETTO *et al.*, 1989; GARCIA & CORREDOR, 2004; CASTELLI *et al.*, 2005].

Existem, algumas descrições de possíveis mecanismos de toxicidade do cádmio, entretanto, o modo real pelo qual este elemento age como agente tóxico tem sido pouco estudado. De qualquer forma, o cádmio uma vez absorvido, é fortemente retido. Baixas doses deste metal, podem inclusive constituir um nível significativo no organismo se a exposição se prolongar durante um longo período de tempo. No organismo, o cádmio apresenta afinidade muito forte por estruturas biológicas contendo grupos sulfidrílicos, como proteínas, enzimas e ácidos nucléicos. Depois de absorvido, o cádmio é transportado pela corrente sanguínea

até o fígado, onde se une a uma proteína de baixo peso molecular. Pequenas quantidades desse complexo proteína-cádmio passam continuamente do fígado para a corrente sanguínea, para ser transportado até os rins e filtrado através dos glomérulos, para posteriormente ser reabsorvido e armazenado nas células tubulares dos rins. Este último órgão excreta de 1 a 2% do cádmio obtido diretamente das fontes ambientais. A concentração do metal nos rins é aproximadamente 10 mil vezes mais alta que a da corrente sanguínea [BERTINI *et al.*, 1994].

Não se sabe se o cádmio tem algum efeito benéfico, porém, pode causar alguns efeitos adversos para a saúde. Embora atualmente, as exposições prolongadas sejam extremamente raras, a ingestão de altas doses é causa de severas irritações no estômago provocando vômitos e diarreias, e sua inalação causa graves irritações nos pulmões.

O chumbo não apresenta nenhuma função essencial conhecida no corpo humano. É extremamente danoso quando absorvido pelo organismo através da alimentação, ar ou água. Este metal pesado pode causar vários efeitos indesejáveis como a perturbação da biossíntese da hemoglobina e anemia, aumento da pressão sanguínea, danos aos rins, alterações no sistema nervoso e danos ao cérebro. As principais vias de exposição são a oral, a inalatória e a cutânea. A ingestão é a principal via de exposição, sendo, especialmente, importante nas crianças. O chumbo é transportado no sangue, ligado principalmente aos eritrócitos, além da albumina e algumas globulinas sendo desconhecido se estas formas constituem a fração ativa para a distribuição do chumbo em tecido e células [BERTINI *et al.*, 1994; COUTINHO *et al.*, 2004]. Uma vez absorvido, o chumbo pode ser armazenado nos ossos e dentes por longos períodos. A via de absorção tem pouco efeito na distribuição do chumbo. O chumbo absorvido é transportado pelo sangue e distribuído nos ossos, dentes, fígado, rins, pulmões, cérebro, baço, músculos e coração. Mais de 90% do chumbo no sangue encontra-se nos glóbulos vermelhos. O tempo de meia-vida do chumbo no sangue varia entre 28 a 36 dias. As maiores acumulações de chumbo nos tecidos moles encontram-se no fígado e rins. O chumbo absorvido é excretado pela urina (76%), fezes (16%), cabelos, unhas e suor (8%), independentemente da via de exposição. Geralmente a excreção do chumbo é extremamente lenta o que favorece a sua acumulação no organismo. Dos vários órgãos afetados pelo chumbo o mais importante é o sistema nervoso central (SNC).

Muito da sua toxicidade no SNC pode ser atribuída à alteração de enzimas e proteínas estruturais, mas existem outros alvos. Nas células, o chumbo liga-se a uma variedade de proteínas, algumas das quais têm sido implicadas na sua toxicidade. A formação de corpos de inclusão intranucleares no túbulo proximal renal é uma das características da nefrotoxicidade do chumbo. Outra dessas características é a alteração da estrutura das mitocôndrias das células do túbulo proximal renal. O chumbo entra na mitocôndria como substrato do transportador de cálcio, interferindo com o metabolismo energético e favorecendo a formação de radicais livres, que levam ao estresse oxidativo. O chumbo é um dos mais perigosos metais tóxicos pela quantidade e severidade dos seus efeitos. Suplementação de cálcio, ferro, zinco, fosfato, vitamina C e proteínas inibem a absorção de chumbo pelo organismo [COUTINHO *et al.*, 2004].

As interações com metais essenciais melhor compreendidas e clinicamente mais importantes são as que envolvem os metais tóxicos cádmio, mercúrio e chumbo [GOYER, 1997].

O cádmio interage principalmente com o metabolismo de cálcio, zinco e ferro, em nível intestinal, ósseo e/ou renal. Inibe a absorção intestinal de cálcio, interfere na calcificação e remodelagem óssea e reduz a reabsorção deste nos tubos renais, provocando hipercalcúria. A interação entre cádmio e zinco ocorre por competição na absorção intestinal e no metabolismo celular, através da indução da metalotioneína (proteína de baixo peso molecular rica em resíduos sulfidríla), que participa do controle da homeostase de zinco e na detoxificação do cádmio. A deficiência de ferro favorece a absorção intestinal de cádmio e o efeito prejudicial do cádmio no metabolismo do ferro deve-se à ligação deste à transferrina (proteína de transporte) e ferritina (proteína de armazenamento) [STUHNE-SEKALEC *et al.*, 1992].

De forma semelhante ao cádmio, o chumbo interage principalmente com ferro, zinco e cálcio. O chumbo compete com o ferro e zinco por sítios de ligação em proteínas de captação intestinal e de armazenamento intracelular. As deficiências de ferro e zinco favorecem a absorção intestinal de chumbo e acentuam seus efeitos prejudiciais na hematopoiese [STUHNE-SEKALEC *et al.*, 1992].

A interação entre chumbo e cálcio, uma das interações mais estudadas entre um elemento tóxico e um nutriente, ocorre pela capacidade do chumbo de substituir

ou “mimetizar” o cálcio nos processos fisiológicos. O chumbo inibe a liberação de neurotransmissores mediada por cálcio. A deficiência de cálcio na dieta favorece a absorção intestinal do chumbo e a sua retenção em tecidos não ósseos.

Alguns pesquisadores sugerem que interações biologicamente importantes podem ocorrer entre metais essenciais e metais tóxicos com propriedades físicas e químicas semelhantes. Estas características comuns possibilitam a interação entre os mesmos no organismo em nível de absorção, transporte, captação pelos tecidos, metabolismo intracelular e excreção. Além disso, explicam porque a deficiência de metais nutricionalmente essenciais podem potencializar os riscos provocados pela exposição a metais tóxicos [BRZÓSKA & MONIUSZKO-JAKONIUK, 2001].

Em relação ao bário, sabe-se apenas que é um metal tóxico, e seu excesso no organismo pode causar vômitos, diarreia, dor abdominal e principalmente, desalojar o potássio das células. Altos níveis de bário associado com uma razão Ca/Mg alta foram correlacionados com infarto do miocárdio. Não há estudos que comprovem a toxicidade, a absorção e a excreção do mesmo no organismo.

O ferro é um dos metais mais abundantes da crosta terrestre, perfazendo cerca de 5,6%. É muito importante para os seres vivos, pois cumpre numerosas e variadas funções, sendo que, a principal é a presença de ferro em proteínas do sangue. Dentre elas, temos a hemoglobina e a mioglobina, onde o ferro tem a função de transportar o oxigênio do sangue. O ferro que entra no organismo, é absorvido no intestino delgado e é transportado e armazenado nas proteínas. A maior parte do ferro é utilizada e uma pequena quantidade eliminada [SHILS *et al.*, 1994; BROWN, 1990].

Tanto o excesso como a deficiência de ferro podem causar problemas no organismo. O excesso de ferro é chamado de hemocromatose enquanto que a sua deficiência é conhecida popularmente como anemia ferropriva. A deficiência de ferro pode causar, além da anemia, anorexia, sensibilidade óssea, distúrbios digestivos, problemas de crescimento e irritabilidade. Já seu excesso (como nutriente) pode causar: anorexia, tontura, fadiga e dores de cabeça e o excesso de ferro acumula-se no fígado causando sérios danos [SHILS *et al.*, 1994; BROWN, 1990].

O zinco é um elemento químico essencial para os seres humanos, intervém no metabolismo de proteínas e ácidos nucleicos, estimula a atividade de mais de 200 sistemas enzimáticos, contribui para o bom funcionamento do sistema imunológico,

é necessário para cicatrização dos ferimentos, nas percepções do sabor e olfato e na síntese do DNA (ácido desoxiribonucléico). O organismo de uma pessoa sadia possui cerca de 2 g de zinco. A maior parte do zinco está presente nos músculos (60%) e ossos (30%). Não tem sido identificado nenhum hormônio que esteja única e especificamente envolvido no metabolismo do zinco. No entanto, hormônios reguladores de cálcio e magnésio podem afetar o metabolismo do zinco direta ou indiretamente [VALLEE & FALCHUK, 1993].

A ingestão diária recomendada de zinco é em torno de 10 mg, menor para bebês, crianças e adolescentes (devido ao menor peso corporal). A deficiência de zinco pode produzir retardo no crescimento, perda de cabelo, diarreias, impotência sexual e imaturidade sexual nos adolescentes, apatia, cansaço e depressão, lesões oculares e de pele, inclusive acne, unhas quebradiças, amnésia, perda de apetite, perda de peso, aumento do tempo de cicatrização de ferimentos e anomalias no sentido do olfato. As causas que podem provocar uma deficiência de zinco são a insuficiente quantidade na dieta alimentar e a dificuldade na absorção do mineral que pode ocorrer em casos de alcoolismo, quando é eliminado pela urina ou, ainda, devido à excessiva eliminação devido a desordens digestivas [SHILS *et al.*, 1994; BROWN, 1990]

O manganês é um elemento químico essencial para todas as formas de vida, nas quais tem função, tanto estruturais, quanto enzimáticas. Em humanos, o manganês é absorvido no intestino delgado, seguindo posteriormente até o fígado, de onde segue para diferentes órgãos. É necessário um consumo de manganês entre 1 a 5 mg por dia, que pode ser obtido através dos alimentos. A carência deste elemento pode causar perda de peso, fragilidade óssea, dermatite e náuseas. O manganês em excesso é tóxico, pois, exposições prolongadas a compostos de manganês, tanto oral como inalada, podem provocar efeitos adversos no sistema nervoso, respiratório e outros [GUVENC *et al.*, 1995].

Em princípio se considera o cromo (em seu estado de oxidação +3) um elemento químico essencial, ainda que não se conheça com exatidão suas funções. Parece participar no metabolismo dos lipídios, e no dos hidratos de carbono, assim como em outras funções. Tem-se observado que alguns de seus complexos parecem participar na potencialização da ação da insulina, sendo, por isso, denominado de "fator de tolerância à glicose" devido a esta relação com a ação da

insulina. A ausência de cromo provoca uma intolerância à glicose, e, como consequência, o aparecimento de diversos distúrbios. Sua carência nos humanos pode causar: ansiedade, fadiga e problemas de crescimento. O excesso deste elemento (como nutriente) nos humanos pode causar: dermatites, úlcera, problemas renais e hepáticos. Por outro lado, os compostos de cromo no estado de oxidação +6 são muito oxidantes e carcinogênicos [ANDERSON, 1986; MERTZ, 1993].

2.3 – Embalagens utilizadas para armazenar soluções de nutrição parenteral

As embalagens utilizadas para o armazenamento das soluções de NP podem ser de plástico (polivinilcloreto (PVC), polipropileno (PP), etil vinil acetato (EVA)) ou de vidro, sendo as embalagens de vidro mais amplamente utilizadas [Ministério da Saúde, Brasil, Portaria nº 272, 1998].

2.3.1 – Embalagens plásticas

As embalagens plásticas para soluções parenterais tornaram-se comercialmente disponíveis somente na década de 80. Ao contrário do vidro que é um produto inorgânico, o plástico é de natureza orgânica e polimérica. Um polímero é simplesmente uma grande molécula constituída da união de pequenas moléculas ou monômeros. Estes monômeros são unidos pelo processo de polimerização. Os monômeros comumente consistem de átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e halogênios (fluoreto, cloreto e brometo) [MANO, 1985].

Após os monômeros sofrerem polimerização, evidencia-se uma estrutura repetida ou unidade repetida, sendo equivalente ao monômero. Alguns exemplos de polímeros e seus monômeros são mostrados na tabela 1.

Tabela 1: Exemplos de polímeros e seus respectivos monômeros

| Polímero | Monômero | Unidades repetidas |
|---------------------------------|---|---|
| Polietileno (PE) | $\text{CH}_2 = \text{CH}_2$ | $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)_n-$ |
| Polivinilcloro (PVC) | $\text{CH}_2 = \text{CHCl}$ | $-(\text{CH}_2\text{CHCl})_n-$ |
| Poliestireno (PS) | $\text{CH}_2 = \text{CHC}_6\text{H}_5$ | $-(\text{CH}_2\text{CHC}_6\text{H}_5)_n-$ |
| Polipropileno (PP) | $\text{CH}_2 = \text{CHCH}_3$ | $-(\text{CH}_2\text{CHCH}_3)_n-$ |
| Polietileno vinil acetato (EVA) | $\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CO}-\text{CH}_3$ | $-(\text{CH}_2\text{CHCOCH}_3)_n-$ |
| Polietileno-tereftalato (PET) | $\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{COO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O}$ | $-(\text{COC}_6\text{H}_4\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ |

Os plásticos estão divididos basicamente em duas classes: termoplásticos e termorrígidos. Termoplásticos são polímeros que amolecem quando aquecidos à altas temperaturas e solidificam por resfriamento. Termorrígidos são polímeros que são somente amolecidos durante a fabricação de um artigo e solidificam permanentemente, entretanto, eles não podem ser amolecidos novamente com aquecimento. Para embalagens parenterais, polímeros termoplásticos são preferidos aos polímeros termorrígidos, devido à sua disponibilidade, reutilização e processabilidade [MANO, 1985].

Já que os polímeros geralmente não são inertes, eles podem estar sujeitos à degradação e oxidação durante a vida útil do produto. Estes problemas podem ser reduzidos ou eliminados pelo uso de aditivos para proteger o polímero básico.

Os aditivos mais comumente encontrados em plásticos usados para embalagens de soluções parenterais são antioxidantes, estabilizadores, lubrificantes, plastificantes, modificadores e corantes. Estes aditivos podem ser líquidos, sólidos ou matéria finamente particulada e as quantidades podem variar de 0,01% a 60% em massa.

Há também o uso de catalisadores, que apenas participam das reações, ou seja, não são constituintes dos polímeros, porém podem estar presentes como impurezas no material polimérico. Os principais catalisadores utilizados nas reações de polimerização são o $\text{TiCl}_4 + \text{Al}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$, $\text{CrO}_3/\text{SiO}_2$, $\text{MoO}_3/\text{Al}_2\text{O}_3$ para as embalagens de polietileno e $\alpha\text{-TiCl}_3 + \text{Al}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$ nas embalagens de polipropileno.

Os polímeros mais comumente usados para embalagens de soluções parenterais são o PP, o PVC, e o EVA [British Pharmacopeia, 2003].

A Pharmaceutical Manufactures Association (PMA) reconheceu a necessidade de desenvolver padrões para materiais plásticos no ano de 1961. Um comitê foi formado para estabelecer procedimentos, testar e formar uma base de dados acerca de alguns materiais plásticos. Após um período de dois anos, 20.000 testes foram realizados em 22 materiais plásticos. Os resultados deste trabalho foram, com algumas modificações, adotados pela Farmacopéia Americana. Desde então outras revisões, modificações e adições têm sido adotadas e aparecem atualmente na USP XXIII- NFXVI [USP, 1781].

A FDA (Food and Drugs Administration) tem dado uma importância em relação à avaliação e testes de materiais poliméricos. Para introduzir um plástico para uso como material na embalagem de soluções parenterais, a seguinte estrutura básica de testes deve ser considerada:

a) determinar procedimentos para testes biológicos e físico-químicos, a quantidade e tipos de substâncias potencialmente lixiviáveis em qualquer embalagem plástica aplicada às soluções parenterais;

b) determinar a integridade ou estabilidade, testando os efeitos das condições de armazenagem (tempo, temperatura, luz e umidade) e o efeito do ciclo de esterilização nas propriedades físicas, químicas e biológicas da embalagem;

c) realizar quaisquer outros testes e gerar uma base de dados apropriada para garantir a segurança da embalagem.

Uma vez determinado o tipo de plástico para o uso em embalagens de soluções parenterais, o próximo passo é processar o novo material para o produto final. Todas as embalagens para soluções parenterais disponíveis no mercado estão na forma de bolsas ou garrafas. As bolsas são fabricadas a partir de filmes, enquanto as garrafas são feitas num molde por sopro [AVIS et al, 1986].

Para a utilização das embalagens plásticas são realizados ensaios físicos, químicos e biológicos, variando de acordo com o plástico utilizado. As embalagens

plásticas devem ser transparentes, sem pigmentos ou corantes, flexíveis, atóxicas, estéreis, apirogênicas, resistentes ao vazamento, queda e pressão e compatíveis com a NP sob condições de estocagem. Em geral, estas embalagens devem ser estáveis em relação ao seu conteúdo durante o período de validade, sendo compatível com o processo de esterilização empregado, ou seja, não apresentando resíduos do processo de esterilização [AVIS et al, 1986].

A maioria das embalagens para soluções parenterais requer uma lavagem antes do envase e fechamento, que pode ser feita com água destilada e detergente, ou somente com água destilada. Uma vez o produto selado, ele está pronto para o processo de esterilização [AVIS et al, 1986].

Segundo a Farmacopéia Britânica, as embalagens plásticas podem conter alguns aditivos que, ao serem adicionados aos polímeros, aperfeiçoam suas propriedades químicas, físicas e mecânicas com a finalidade de adaptar os mesmos ao uso pretendido. Todos os aditivos são escolhidos de uma lista que especifica, para cada produto, o conteúdo máximo permitido [British Pharmacopeia, 2003].

Na fabricação das embalagens são utilizados antioxidantes e plastificantes. No produto final devem ser feitos testes garantindo a qualidade do produto acabado. Abaixo estão citados os principais aditivos utilizados na fabricação das embalagens plásticas.

O EVA pode conter não mais que três antioxidantes, sendo especificado os limites para cada aditivo na Farmacopéia Britânica. Dentre os principais antioxidantes usados, pode-se citar o butil-hidroxi-tolueno (até 0,125%), a oleamida (até 0,5%), o estearato de cálcio ou de zinco (até 0,5%), o carbonato de cálcio ou hidróxido de potássio (até 0,5% de cada) e a sílica coloidal (até 0,2%).

São realizados alguns testes com as embalagens de EVA, dentre eles, o de acidez e alcalinidade, o de substâncias redutoras, o de amidas e ácido esteárico, os de antioxidantes fenólicos e cinzas sulfatadas [British Pharmacopeia, 2003].

O PVC é estruturalmente similar ao polietileno, mas com um cloro substituindo um hidrogênio em carbonos alternados. O PVC é duro e rígido e tem sido fabricado para aplicações como manufatura de tubulações pela adição de plastificantes tais como ésteres ftalatos. Ele pode ser atacado por muitos solventes orgânicos e não deveria ser usado acima de 70°C, exceto em períodos curtos. Geralmente, é descrito como um polímero com impurezas, podendo conter estabilizadores como cádmio e bário [British Pharmacopeia, 2003].

As embalagens de PVC também apresentam em sua constituição alguns antioxidantes e plastificantes, dentre eles tem-se 2-dietil-hexil-ftalato (até 40%), estearato de cálcio ou estearato de zinco (até 1%), N', N'- diacil-etileno-diamina (até 1%), e deve-se adicionar quantidades mínimas de antioxidantes no PVC. São realizados alguns testes para essas embalagens, como alcalinidade e acidez, substâncias redutoras, presença de aminas aromáticas e presença de alguns metais como, bário (até 5 ppm), cádmio (0,6 ppm), cálcio (não mais que 0,07%), estanho (até 20 ppm) e zinco (até 0,2%) [British Pharmacopeia, 2003].

O polipropileno (PP) é preparado cataliticamente a partir do propileno, possuindo na cadeia lateral um grupamento metila tornando-o mais suscetível ao ataque de agentes oxidantes. No entanto, ele pode ser usado em altas temperaturas, tais como 140⁰C, por curtos períodos, e 130⁰C, continuamente, sendo eficiente em processos que requeiram esterilização. Pode envolver alguns catalisadores como: alumínio, cromo, silício, titânio, vanádio, zinco e zircônio [British Pharmacopeia, 2003].

As embalagens de PP podem conter no máximo 3 antioxidantes, vários lubrificantes e agentes antibloqueadores, bem como dióxido de titânio, para deixar a embalagem opaca, quando o medicamento deve ser protegido da luz. Dentre os aditivos usados nas embalagens de polipropileno tem-se butil-hidroxi-tolueno (até 0,125%), octadecil 3-(3,5-di-terc-butil-4-hidroxi-fenil)propionato (até 0,3%), dioctadecil- disulfeto (até 0,3%), entre outros. O total de aditivos antioxidantes não deve exceder 0,3%. São adicionados, também, sílica, benzoato de sódio, fosfato trisódico, parafina líquida, óxido de zinco, talco, óxido de magnésio, estearato de cálcio ou estearato de zinco, todos com limites de até 0,5% [British Pharmacopeia, 2003].

Segundo a Farmacopéia Britânica (Apêndice 7), devem ser realizados alguns testes para verificar a estabilidade das embalagens de PP como acidez e alcalinidade, substâncias redutoras, alumínio extraível (até 1 ppm), cromo extraível (até 0,05 ppm), Ti extraível (até 1ppm), Zn extraível (até 1 ppm) e metais pesados (até 2,5 ppm) [British Pharmacopeia, 2003].

O polietileno tereftalato (PET) é obtido da polimerização do ácido tereftálico ou dimetil-ftalato com etileno glicol. Ele pode conter não mais que 0,5% de sílica ou silicatos e pigmentos, para medicamentos que necessitem proteção da luz. Pode ter

como possíveis contaminantes: titânio, germânio e antimônio [British Pharmacopeia, 2003].

Assim como para as demais embalagens, são realizados alguns testes com o PET, tais como acidez e alcalinidade, alumínio, antimônio, bário, cobalto, germânio, manganês, titânio e zinco extraíveis, todos com limites de até 1 ppm [British Pharmacopeia, 2003].

As embalagens de PET não devem ser utilizadas para armazenar as soluções de NP, devido à quantidade de impurezas que podem apresentar, sendo mais utilizadas para armazenar medicamentos como xaropes.

2.3.2 – Embalagens de vidro

O vidro é um líquido viscoso resfriado até à condição de rigidez, sem cristalizar. É produto da fusão de materiais cristalinos em temperaturas elevadas, caracteriza-se por não possuir uma temperatura de fusão definida. A composição básica do vidro pode ser expressa por três compostos inorgânicos: sílica (SiO_2) 73%, Na_2CO_3 14%, CaCO_3 11%.

Na estrutura do vidro cada átomo de silício está ligado a quatro átomos de oxigênio. Os átomos de oxigênio se dispõem espacialmente formando um tetraedro. Os tetraedros de sílica estão ligados pelos vértices, através do compartilhamento de um átomo de oxigênio por dois átomos de silício. Todos os quatro átomos de oxigênio de um tetraedro podem ser compartilhados com quatro outros tetraedros formando uma rede tridimensional.

Os óxidos formadores do vidro são os componentes mais essenciais, sendo eles denominados, também, de formadores de rede. Os primeiros formadores de rede em vidros comerciais foram sílica (SiO_2), óxido de boro (B_2O_3) e óxido fosfórico (P_2O_5). Um grande número de outros compostos podem atuar como formadores de rede sob certas circunstâncias, incluindo GeO_2 , Bi_2O_3 , As_2O_3 , Sb_2O_3 , TeO_2 , Al_2O_3 , Ga_2O_3 e V_2O_3 . Com exceção do GeO_2 , estes óxidos sozinhos não formam vidros, mas podem servir como formadores de rede quando associados com outros óxidos.

Os óxidos conferem ao vidro propriedades especiais como cor, durabilidade, resistência química, entre outras [SHELBY, 1997].

Como a manufatura de vidro de sílica é muito cara devido à utilização de altas temperaturas (em torno de 2000 °C), utilizam-se os modificadores de rede que são capazes de reduzir a temperatura tornando mais viável o processo. Os modificadores de rede mais comuns são os óxidos alcalinos Na_2O , PbO , K_2O e Li_2O . O mecanismo de atuação destes átomos, nos vidros silicatos alcalinos, é a ligação iônica com o oxigênio que interrompe a continuidade da rede, uma vez que alguns átomos de oxigênio não são compartilhados entre dois tetraedros, mas ligados somente a um átomo de silício, diminuindo assim a temperatura de fusão do vidro [SHELBY, 1997].

A adição de grandes quantidades de óxidos alcalinos resulta na degradação das propriedades do vidro, tornando o vidro solúvel em água. Esta degradação pode ser diminuída pela ação de modificadores de propriedades, incluindo os óxidos de metais alcalino terrosos. Estes vidros são denominados sodo-cálcicos, sendo adicionados óxidos como alumina (Al_2O_3) e vidros borosilicatos com a adição de óxido de boro (B_2O_3) e alumina. Estes óxidos diminuem a temperatura de trabalho do vidro e conferem maior resistência hidrolítica e a choques térmicos [SHELBY, 1997].

Corantes são usados apenas no controle final da cor do vidro como mecanismo de proteção às substâncias sensíveis à luz. Em muitos casos, corantes são óxidos de metais de transição, como os óxidos de ferro, cobalto, manganês, níquel, cromo e outros. Para promover a remoção de bolhas da fusão dos óxidos, adicionam-se os agentes finalizadores. Esses agentes incluem óxidos de arsênio e antimônio, nitratos de potássio e sódio, fluoreto de sódio, cálcio e alumínio bem como sulfatos. São utilizados em pequenas quantidades apenas para a remoção de bolhas [SHELBY, 1997].

O vidro pode ser classificado em cinco tipos, de acordo com sua composição química:

1- Sílica vítrea: sílica ou cristais de quartzo aquecidos. Devido a sua alta pureza é usada em veículos espaciais, espelhos astronômicos e fibras óticas.

2- Silicatos alcalinos: adição de óxidos alcalinos. Possui baixa resistência química aos óxidos alcalinos.

3- Vidro sodo-cálcicos: adição de CaO e/ou MgO, entre 8 e 12%, 12 a 17% de Na₂O e 1 a 2,5% de Al₂O₃.

4- Vidros de chumbo: adição de PbO, usado na indústria eletro-eletrônica e produção de artigos finos de mesa e peças de arte.

5- Vidros borosilicatos: adição de óxido de boro (B₂O₃) e óxido de alumínio (Al₂O₃), que conferem alta resistência a choques térmicos e alta resistência eletrolítica [SHELBY, 1997].

O vidro é, em princípio, incolor, mas devido ao fato de as matérias-primas serem de origem mineral, há presença de ferro que confere ao vidro coloração esverdeada. Vidros coloridos são obtidos pela adição de pequenas quantidades de óxidos metálicos como óxido de ferro, cobalto manganês, níquel, cromo e outros. A cor é importante não somente pelo aspecto estético, mas é também um mecanismo de proteção, quando o produto a ser armazenado é sensível à luz [ILLIG, 1983; SHELBY, 1997; DUFFY & BAUCKE, 1997; BECKER, 2002].

Os recipientes de vidro são muito utilizados para o armazenamento de medicamentos. Eles garantem a proteção destes da luz, quando as substâncias em questão forem sensíveis à luz ou a alguns raios específicos. Além disso, estes recipientes são passíveis de esterilização, garantindo, assim, a qualidade microbiológica dos medicamentos.

As embalagens de vidro abastecem as indústrias farmacêuticas devido a algumas características:

a) têm excelente resistência química na interação com o conteúdo e não absorvem, nem tampouco, liberam ingredientes orgânicos.

b) o vidro é impermeável e, com tampa apropriada, a entrada ou a saída dos gases é negligenciável.

c) são facilmente limpas por causa de sua superfície lisa.

d) são transparentes, facilitando a inspeção do conteúdo.

e) são rígidos, fortes e dimensionalmente estáveis, suportam vácuo e podem ser aquecidos a 121⁰C para esterilização a vapor, ou a 260⁰C para esterilização seca sem deformação.

f) podem ser facilmente construídos a partir de um molde.

Uma característica importante do vidro para uso farmacêutico é a resistência ao ataque químico, ou durabilidade química, ou durabilidade do vidro. Esta

durabilidade, também denominada estabilidade química, é expressa pela resistência hidrolítica, que é a resistência em liberar substâncias minerais solúveis para a água, quando em contato com a superfície interna do recipiente. A resistência hidrolítica é calculada pela titulação da alcalinidade [British Pharmacopeia, 2003; AVIS *et al.*,1986].

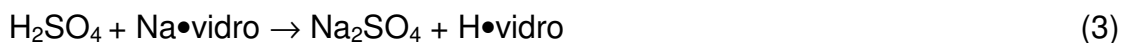
As farmacopéias Americana e Britânica desenvolveram uma especificação para a classificação dos vidros, de acordo com a resistência hidrolítica:

Tipo I: vidros borosilicatos: com elevada resistência hidrolítica, devido à sua composição química. Possuem uma quantidade relativamente baixa de Na₂O e uma quantidade relativamente alta de B₂O₃ e Al₂O₃, responsáveis pela durabilidade química superior. A função mais importante do B₂O₃ é agir como um dissolvente não alcalino para facilitar a fusão do vidro, pobre em Na₂O, Na forma de tubos são usados na fabricação de viais, ampolas, corpos das seringas e componentes para a administração de grandes volumes parenterais. As soluções de pequeno volume geralmente estão disponíveis em seringas ou cartuchos de vidro de dose única. Esses vidros são apropriados não só para uso parenteral, como também para sangue humano e seu componentes.

Tipo II: vidros sodo-cálcicos tratados: o processo usado para dealcalinizar a superfície é conhecido como tratamento sulfúrico e é feito para melhorar a resistência química. Tipicamente, dióxido de enxofre é introduzindo nos frascos recém formados, passando na máquina da forma para o recozimento. Este reage com a superfície do vidro para formar sulfato de sódio. Frascos frios podem ser tratados pela introdução de enxofre ou um composto de enxofre, tais como ácido sulfúrico ou sulfato de amônio e reaquecidos dentro da faixa de temperatura de recozimento, em torno de 550 °C ou mais. Com o tratamento de SO₂, a reação global que ocorre é a seguinte:



Íons de hidrogênio, provavelmente da umidade ambiente, têm um papel importante. Primeiro, ocorre a formação de ácido sulfúrico na superfície do vidro seguida pela troca de íons hidrogênio com íons sódio do vidro



O produto final é a troca iônica e difusão dos íons H^+ dentro do vidro, produzindo o efeito na rede representado na equação (1). A intensidade de alcalinização é indicada pela quantidade de sulfato de sódio produzida na superfície do vidro. A quantidade de sódio no depósito de sulfato é igual aquele na superfície do vidro, de alguns décimos de micrômetro de espessura. Os frascos são comercializados com uma “névoa” de sulfato de sódio presente. A nevoa é retirada quando eles são lavados antes do envase, aumentando a eficiência da limpeza. Este processo não somente reduz a abundância de íons sódio disponíveis na superfície para a reação com o produto líquido, mas também, reduz a estabilidade da superfície alterada e grandemente aumentada, e a extração de todos os componentes do vidro pelo conteúdo do frasco é reduzida.

A dealcalinização pode também, ser feita com outros gases ácidos. HCl, por exemplo, conduz a formação de cloreto de sódio em vez de sulfato de sódio, porém esses gases não são comumente usados para frascos de soluções parenterais. Em geral, são próprios para preparações aquosas para uso parenteral com pH menor que 7, sendo, o seu necessário para verificar a estabilidade de cada preparação nesse tipo de recipiente [AVIS *et al.*, 1986].

Tipo III: são vidros sodo-cálcicos não tratados. Possuem resistência hidrolítica moderada e são apropriados para soluções não aquosas e sólidas para uso parenteral e não parenteral, além de alimentos, vinhos, cervejas, águas e cosméticos.

Tipo IV: são vidros sodo-cálcicos, também denominados não parenterais. Possuem baixa resistência hidrolítica e são utilizados para preparações sólidas, líquidas ou semi-sólidas que não são empregadas por via parenteral [USP, 1781; British Pharmacopeia, 2003].

Segundo a Farmacopéia Britânica, as embalagens de vidro que são utilizadas para armazenar soluções parenterais devem ser testadas para garantir qualidade para o conteúdo, são realizados testes de pH, metais pesados (qualitativo), cálcio, amônio, cloreto e sulfato, resíduos de evaporação, substâncias oxidáveis, endotoxinas e contagem de microorganismos [British Pharmacopeia, 2003].

2.4 – Procedimentos de esterilização das soluções parenterais

Os medicamentos de uso parenteral devem ser esterilizados antes de serem comercializados. Apesar do conceito de esterilização não ser novo, a responsabilidade da indústria farmacêutica para esta questão é recente e tem ocorrido simultaneamente com o aumento da produção em grande escala de produtos pré-preparados. Para produzir um medicamento estéril, os fabricantes devem levar em conta uma série de fatores, sistemas e informações técnicas. Os profissionais envolvidos no preparo dos medicamentos devem estar bem treinados e preparados para a realização do processo para evitar contaminações dos medicamentos.

Esterilidade é definida com a ausência total de microorganismos viáveis. O processo de esterilização pode ser explicado como uma função probabilística, devido à ordem logarítmica de destruição microbiana e da falta de métodos absolutos para confirmar a esterilidade. Visto que a esterilização é vulnerável a erros e limitações nos sistemas usados para a confirmação, esterilidade é melhor definida como a ausência total de microorganismos viáveis dentro dos limites especificados de probabilidade [AVIS *et al.*,1986].

Existem basicamente quatro maneiras de esterilização diferentes: o calor seco, o calor úmido, a irradiação e os agentes químicos (por exemplo, óxido de etileno, formaldeído e peróxido de hidrogênio). Entretanto, deve-se reconhecer que cada processo de esterilização tem suas limitações específicas. Não existe método universal que englobe todos os produtos, todos os materiais e todas as substâncias. Os fatores determinantes na escolha do método de esterilização são a sua compatibilidade com o produto a ser esterilizado, a aceitabilidade da embalagem, a penetração do agente às áreas remotas que podem conter microorganismo viáveis, um alto nível de atividade letal resultando na necessidade de pequenas quantidades do agente esterilizante, baixo custo, alto grau de segurança e baixa toxicidade, simplicidade e tempo de execução do processo [AVIS *et al.*,1986].

O calor úmido ou vapor saturado pode ser classificado como um agente físico de esterilização. O calor úmido tem um alto nível de atividade letal e destrói todos os tipos de microorganismo, incluindo esporos altamente resistentes em 30 minutos a

121°C, ou a 100°C por 2 horas, é relativamente barato se comparado com outros tipos de agentes esterilizantes. A esterilização com vapor saturado é simples (requer monitoramento de tempo, temperatura e pressão) e é rápido. Porém, uma das maiores desvantagens é a sua incompatibilidade com muitos materiais sensíveis ao calor e/ou ao calor úmido [AVIS *et al.*,1986]

A esterilização por vapor saturado tem sido muito usada para soluções de nutrição parenteral aquosa, meios bacteriológicos, luvas cirúrgicas, tanques de fermentação, materiais de vidro e instrumentos de aço inoxidável. A esterilização é feita em autoclave.

Normalmente, o calor seco é aplicado a materiais resistentes ao calor (metal, vidro, gorduras e óleos). É considerado um dos métodos de esterilização mais seguros. A temperatura usual é de 160°C por 60 minutos, sendo um método relativamente simples, necessitando apenas que a circulação do calor sobre o produto seja adequada.

Outro método de esterilização é o uso de radiação. Existem muitos tipos de radiação, sendo que ^{60}Co e elétrons acelerados são os mais utilizados. Este tipo de esterilização pode causar danos ao produto (rompimento de ligações químicas) tornando-se um procedimento de alto custo. Este método tem excelente atividade letal e alto nível de penetração na maioria dos materiais, sendo esta dependente da fonte de energia e do tipo de material. Apesar de não ser um método muito aceito, tem sido utilizado para a esterilização de alimentos, medicamentos, itens médicos, seringas plásticas e cosméticos.

O agente químico mais utilizado para a esterilização é o óxido de etileno, que é altamente reativo, alquilante, tóxico, inflamável e explosivo. É utilizado para esterilizar dispositivos médicos. Comparado aos outros métodos, o uso deste agente é complexo. A destruição dos microorganismos é diretamente dependente da umidade relativa, concentração, temperatura e tempo de exposição.

O método mais comum para esterilização de soluções parenterais em embalagens plásticas é a esterilização úmida pressurizada a 121°C. Alguns países da Europa estão usando baixas temperaturas e longos períodos de tempo para alcançar os mesmos graus de destruição microbiana. As temperaturas de esterilização mais baixas possibilitam a utilização de plásticos tais como HDPE (polietileno de alta densidade) e PE (polietileno), os quais geralmente não suportam 121°C [AVIS *et al.*, 1986].

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Instrumentação

- Espectrômetro:

- Espectrômetro de absorção atômica (Varian SPECTRAA 200) com atomizador eletrotérmico (Varian GTA 100) com forno de grafite com plataforma de L'vov e amostrador automático.

- Espectrômetro de absorção atômica Analítica Jena Zenit 700 equipado com forno de grafite com aquecimento longitudinal, amostrador automático, corretor Zeeman e lâmpada de deutério.

- Espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado, com quadrupolo, Perkin Elmer Elan DRC-e

- Outros:

- Câmara de fluxo laminar Trox do Brasil, Classe 100

- Sistema de purificação de água Milli-Q Millipore (resistividade 18,2 M Ω .cm)

- Balança analítica Sartorius com 4 casas de precisão

- Mufla elétrica Heraeus, MR-170E

- Forno microondas doméstico Philco

3.2 – Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas com água ultra pura (Milli-Q) e foram armazenadas em recipientes plásticos previamente descontaminados, conforme descrito no item 3.3 – Prevenção da contaminação, no preparo das soluções. As soluções dos aminoácidos, sais, glicose e vitaminas foram preparadas pela dissolução de quantidades apropriadas do reagente em água pura e armazenadas sob refrigeração. As concentrações das soluções estão mostradas no Apêndice 1.

O HNO_3 foi destilado, em um destilador de ácidos, para reduzir a sua contaminação por metais e impurezas.

Os reagentes utilizados neste trabalho estão listados no Apêndice 1.

3.3 – Prevenção da contaminação

Para armazenar as soluções preparadas no presente estudo, utilizou-se apenas materiais plásticos (polietileno, polipropileno), para garantir uma superfície livre de contaminação dos metais de interesse do estudo. Estes recipientes foram deixados por, pelo menos, 48 horas em uma solução 10% de HNO_3 em etanol (v/v) e lavados abundantemente com água pura imediatamente antes do uso [BINOTTO, 2001]

Os recipientes de vidro foram deixados em contato com uma solução de extran 2% por, no mínimo, 24 horas e lavados com água ultra pura em abundância [MERCK INDÚSTRIAS QUÍMICAS].

Todo o preparo das amostras foi realizado em uma câmara de fluxo laminar classe 100, para evitar a contaminação de alumínio e outros metais pelo ar.

3.4 – Composição das soluções comerciais utilizadas

As formulações comerciais de aminoácidos utilizadas no trabalho, bem como suas composições estão listadas na tabela 2, na tabela 3 está listada a composição das emulsões lipídicas, na tabela 4 a composição de algumas soluções injetáveis. E na tabela 5 está listada a composição das soluções das vitaminas.

Tabela 2: Concentração em g/L dos aminoácidos em formulações comerciais

| Aminoácidos | Aminosteril 10% | Aminoped 10% | Aminosteril Nefro | Hepatopatas 8% | Aminoplasma 10% | Nefroamino AEH | Primene |
|-----------------|--------------------|-----------------|----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|---------|
| L-isoleucina | 5,00 | 6,40 | 7,52 | 10,40 | 5,10 | 7,00 | 6,00 |
| L-leucina | 7,40 | 10,75 | 11,38 | 13,09 | 8,90 | 11,00 | 7,30 |
| L-lisina | 6,60 | 7,09 | 9,63 | 6,88 | 7,90 | 11,29 | 5,80 |
| L-metionina | 4,30 | 4,62 | 6,59 | 1,10 | 3,80 | 11,00 | 4,00 |
| L-cisteína | - | 0,38 | - | 0,52 | 0,65 | - | - |
| L-fenilalanina | 5,10 | 4,57 | 7,75 | 0,88 | 5,10 | 11,00 | 5,60 |
| L-treonina | 4,40 | 5,15 | 6,78 | 4,40 | 4,10 | 5,00 | 4,20 |
| L-triptofano | 2,00 | 1,83 | 2,90 | 0,70 | 1,80 | 2,50 | 1,80 |
| L-valina | 6,20 | 7,09 | 9,53 | 10,08 | 4,80 | 8,00 | 5,80 |
| L-arginina | 12,00 | 6,40 | - | 10,72 | 9,20 | - | 11,00 |
| L-histidina | 3,00 | 4,14 | 4,90 | 2,80 | 5,20 | 5,50 | 4,80 |
| L-alanina | 15,00 | 7,16 | - | 4,64 | 13,70 | - | 20,70 |
| L-serina | - | 9,03 | - | 2,24 | 2,40 | - | 5,00 |
| L-prolina | 15,00 | 16,19 | - | 5,73 | 8,90 | - | 6,80 |
| L-tirosina | - | 5,49 | - | - | - | - | 0,40 |
| L-ornitina | - | - | - | - | 3,20 | - | - |
| L-asparagina | - | - | - | - | 1,30 | - | - |
| L-ác. Aspártico | - | - | - | - | 8,90 | - | - |
| L-ác. Glutâmico | - | - | - | - | 4,60 | - | - |
| Glicina | 14,00 | 4,14 | - | 5,82 | 7,90 | - | 10,30 |

Fonte: Bulas da fabricante das soluções Fresenius Kabi do Brasil

Tabela 3 – Composição das emulsões lipídicas em formulações comerciais usadas na nutrição parenteral, em gramas

| Substância | Lipofundin 10% | Lipofundin 20% |
|-------------------------------|----------------|----------------|
| Óleo de soja | 5,0 | 10,0 |
| Triglicerídeo de cadeia média | 5,0 | 10,0 |
| Lecitina de ovo | 0,8 | 1,2 |
| Glicerol | 2,5 | 2,5 |
| Oleato de sódio | 0,03 | 0,03 |
| α -tocoferol | 10,0 | 20,0 |
| Água para injeção q.s.p. | 100,0 mL | 100,0 mL |

| Substância | Lipovenos 10% | Lipovenos 20% |
|--------------------------|---------------|---------------|
| Óleo de soja | 10,0 | 20,0 |
| Glicerol | 2,5 | 2,5 |
| Fosfolipídeo de ovo | 1,2 | 1,2 |
| Oleato de sódio | 0,03 | 0,03 |
| Água para injeção q.s.p. | 100,0 mL | 100,0 mL |

| Substância | Kabiven 900 e 1000 kcal |
|-------------------------|-------------------------|
| Óleo de soja purificado | 35,0 |
| Glicose anidra | 67,0 |
| Alanina | 3,30 |
| Arginina | 2,40 |
| Ácido Aspártico | 0,69 |
| Ácido Glutâmico | 1,20 |
| Glicina | 1,70 |
| Histidina | 1,40 |
| Isoleucina | 1,20 |
| Leucina | 1,70 |
| Lisina | 1,90 |
| Metionina | 1,20 |
| Fenilalanina | 1,70 |

| | |
|---------------------------------------|---------|
| Prolina | 1,40 |
| Serina | 0,97 |
| Treonina | 1,20 |
| Triptofano | 0,40 |
| Tirosina | 0,05 |
| Valina | 1,50 |
| Cloreto de cálcio 2H ₂ O | 0,15 |
| Glicerofosfato Na (anidro) | 1,00 |
| Sulfato de magnésio 7H ₂ O | 0,33 |
| Cloreto de potássio | 1,30 |
| Acetato de sódio 3H ₂ O | 1,00 |
| Excipiente q.s.p.* | 1000 mL |

* Excipientes: fosfolipídios purificados de ovo, glicerol, hidróxido de sódio, ácido acético glacial e água para injeção

Tabela 4 – Composição de medicamentos injetáveis comerciais, em gramas

| Substância | Voluven 6% | Haes Steril 10% |
|--------------------------|------------|-----------------|
| Hidroxietilamino | 60,0 | 100,0 |
| Cloreto de sódio | 9,0 | 9,0 |
| Água para injeção q.s.p. | 1000 mL | 1000 mL |

| Substância | Hisocel 3,5% |
|--------------------------|--------------|
| Gelatina | 3,50 |
| Cloreto de sódio | 0,85 |
| Cloreto de potássio | 0,04 |
| Cloreto de cálcio | 0,07 |
| Água para injeção q.s.p. | 100 mL |

| Substância | Ped element (mg) |
|--|------------------|
| ZnSO ₄ . 7 H ₂ O | 8,80 |
| CuSO ₄ . 5 H ₂ O | 1,60 |
| MnSO ₄ . H ₂ O | 0,04 µg |
| CrCl ₃ . 6 H ₂ O | 0,07 µg |
| Água q.s.p. | 5,0 mL |
| Zn | 500,0 µg |
| Cu | 100,0 µg |
| Mn | 10,0 µg |
| Cr | 1,0 µg |

Tabela 5: Composição das vitaminas em formulações comerciais em mg/10 mL de água

| Substância | Frutovena ¹ | Dextrovitase ² | Complexo B ³ | Cernevit ⁴ | Citoneurin ⁵ | Opoplex ⁶ |
|------------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|
| Glicose | - | 1,0 | - | - | - | |
| Ácido Ascórbico | 1,0 | 0,5 | - | 125,0 | - | 100 |
| Ácido Fólico | - | - | - | 0,41 | - | 0,4 |
| Cloridrato de tiamina | - | - | 50,0 | 3,51 | 300,0 | 3,0 |
| Riboflavina fosfato de sódio | 2,0 | 2,0 | 20,0 | 5,67 | - | 3,6 |
| Cloridrato de piridoxina | 10,0 | 10,0 | 25,0 | 4,53 | 300,0 | 4,0 |
| Nicotinamida | 15,0 | - | 200,0 | 46,0 | - | 40,0 |
| Pantotenato de cálcio | - | 5,0 | 25,0 | 17,3 | - | 15,0 |
| Biotina | - | - | | 0,06 | - | 0,06 |
| Cianocobalamina B12 | - | - | 0,03 | 0,01 | 3,0 | 0,01 |

Fonte: Bulas dos fabricantes 1- Farmalab, 2- Ache, 3- Ariston, 4- Baxter, 5- Merck, 6- ICN Farmacêutica

3.5 – Condições utilizadas na determinação dos metais

3.5.1 – Espectrometria de Absorção Atômica Forno de Grafite – GF AAS

Para a determinação dos metais por GF AAS otimizou-se as curvas de pirólise e atomização para os metais selecionados no estudo. Devido às possíveis interferências nas medidas de alguns metais, utilizou-se modificadores adequados.

As soluções padrão estoque individuais de Al(III), Ba(II), Cd (II), Cr (III), Fe (III), Mn (II), Pb (II), e Zn (II) de concentração 10 mg L^{-1} , foram preparadas pela diluição de quantidades apropriadas de soluções padrão de 1000 mg L^{-1} para a realização das medidas por GF AAS.

Os modificadores nitrato de amônio (NH_4NO_3) e nitrato de magnésio (MgNO_3) foram preparados pesando-se quantidades suficientes para preparar soluções 1% (m/v). O volume utilizado de modificador nas medidas foi de $20 \mu\text{L}$ para cada medida.

Na tabela 6 encontra-se a descrição dos programas de temperatura, bem como o uso de modificadores, comprimento de onda, fenda e corrente da lâmpada, específicos para cada elemento. O gás inerte utilizado para as medidas foi o argônio ultra puro. Os corretores de fundo foram a lâmpada de D_2 e corretor Zeeman.

Tabela 6 – Descrição dos programas de temperatura para os metais determinados por GF AAS

| Elemento | Comprimento de onda (λ -nm) | Fenda (nm) | Corrente da lâmpada (mA) | Modificador |
|-----------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|-------------|
| Alumínio | 309.3 | 0.8 | 6.0 | -- |

Programa de temperatura

| T ($^{\circ}$ C) | Tempo (s) | Fluxo de gás (L/min) | Etapa |
|-------------------|-----------|----------------------|------------|
| 90 | 34,0 | 3,0 | Secagem |
| 105 | 25,0 | 3,0 | Secagem |
| 110 | 12,5 | 3,0 | Secagem |
| 1300 | 14,8 | 3,0 | Pirólise |
| 1300 | 5,0 | 0,0 | Auto zero |
| 2450 | 4,0 | 0,0 | Atomização |
| 2550 | 4,2 | 3,0 | Limpeza |

| Elemento | Comprimento de onda (λ -nm) | Fenda (nm) | Corrente da lâmpada (mA) | Modificador |
|--------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|---------------------------------|
| Bário | 553.6 | 0.2 | 6.0 | NH ₄ NO ₃ |

Programa de temperatura

| T ($^{\circ}$ C) | Tempo (s) | Fluxo de gás (L/min) | Etapa |
|-------------------|-----------|----------------------|------------|
| 90 | 34,0 | 3,0 | Secagem |
| 105 | 25,0 | 3,0 | Secagem |
| 110 | 12,5 | 3,0 | Secagem |
| 1150 | 14,2 | 3,0 | Pirólise |
| 1150 | 6,0 | 0,0 | Auto zero |
| 2450 | 15,1 | 0,0 | Atomização |
| 2500 | 4,1 | 3,0 | Limpeza |

| Elemento | Comprimento de onda (λ -nm) | Fenda (nm) | Corrente da lâmpada (mA) | Modificador |
|---------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|--|
| Cádmio | 228.8 | 1.2 | 3.0 | NH ₄ NO ₃ + MgHPO ₄ |

Programa de temperatura

| T (°C) | Tempo (s) | Fluxo de gás (L/min) | Etapa |
|--------|-----------|----------------------|------------|
| 90 | 34,0 | 3,0 | Secagem |
| 105 | 25,0 | 3,0 | Secagem |
| 110 | 12,5 | 3,0 | Secagem |
| 800 | 12,8 | 3,0 | Pirólise |
| 800 | 5,0 | 0,0 | Auto zero |
| 1300 | 3,3 | 0,0 | Atomização |
| 2300 | 6,0 | 3,0 | Limpeza |

| Elemento | Comprimento de onda (λ -nm) | Fenda (nm) | Corrente da lâmpada (mA) | Modificador |
|--------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|-------------|
| Cromo | 357.9 | 0.8 | 4.0 | -- |

Programa de temperatura

| T (°C) | Tempo (s) | Fluxo de gás (L/min) | Etapa |
|--------|-----------|----------------------|------------|
| 90 | 34,0 | 3,0 | Secagem |
| 105 | 25,0 | 3,0 | Secagem |
| 110 | 12,5 | 3,0 | Secagem |
| 950 | 13,4 | 3,0 | Pirólise |
| 950 | 6,0 | 0,0 | Auto zero |
| 2450 | 5,0 | 0,0 | Atomização |
| 2700 | 4,5 | 3,0 | Limpeza |

| Elemento | Comprimento de onda (λ -nm) | Fenda (nm) | Corrente da lâmpada (mA) | Modificador |
|---------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|-------------|
| Chumbo | 283,3 | 0,8 | 4,0 | -- |

Programa de temperatura

| T ($^{\circ}$ C) | Tempo (s) | Fluxo de gás (L/min) | Etapa |
|-------------------|-----------|----------------------|------------|
| 90 | 34,0 | 3,0 | Secagem |
| 105 | 25,0 | 3,0 | Secagem |
| 110 | 12,5 | 3,0 | Secagem |
| 900 | 13,2 | 3,0 | Pirólise |
| 900 | 4,0 | 0,0 | Auto zero |
| 1200 | 4,4 | 0,0 | Atomização |
| 1500 | 5,6 | 3,0 | Limpeza |

| Elemento | Comprimento de onda (λ -nm) | Fenda (nm) | Corrente da lâmpada (mA) | Modificadores |
|--------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|---|
| Ferro | 248,3 | 0,2 | 6,0 | NH ₄ NO ₃ + Mg(NO ₃) ₂ |

Programa de temperatura

| T ($^{\circ}$ C) | Tempo (s) | Fluxo de gás (L/min) | Etapa |
|-------------------|-----------|----------------------|------------|
| 90 | 24,0 | 3,0 | Secagem |
| 105 | 20,0 | 3,0 | Secagem |
| 110 | 12,5 | 3,0 | Secagem |
| 1200 | 14,4 | 3,0 | Pirólise |
| 1200 | 5,0 | 0,0 | Auto zero |
| 2600 | 4,0 | 0,0 | Atomização |
| 2600 | 4,0 | 3,0 | Limpeza |

| Elemento | Comprimento de onda (λ -nm) | Fenda (nm) | Corrente da lâmpada (mA) | Modificador |
|-----------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|-------------|
| Manganês | 279.5 | 1.2 | 7.0 | -- |

Programa de temperatura

| T (°C) | Tempo (s) | Fluxo de gás (L/min) | Etapa |
|--------|-----------|----------------------|------------|
| 90 | 34,0 | 3,0 | Secagem |
| 105 | 25,0 | 3,0 | Secagem |
| 110 | 12,5 | 3,0 | Secagem |
| 900 | 13,2 | 3,0 | Pirólise |
| 900 | 4,0 | 0,0 | Auto zero |
| 1900 | 3,7 | 0,0 | Atomização |
| 2300 | 3,8 | 3,0 | Limpeza |

| Elemento | Comprimento de onda (λ -nm) | Fenda (nm) | Corrente da lâmpada (mA) | Modificadores |
|--------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|-----------------------------------|
| Zinco | 213.9 | 0.8 | 4.0 | Mg(NO ₃) ₂ |

Programa de temperatura

| T (°C) | Tempo (s) | Fluxo de gás (L/min) | Etapa |
|--------|-----------|----------------------|------------|
| 90 | 34,0 | 3,0 | Secagem |
| 105 | 25,0 | 3,0 | Secagem |
| 110 | 12,5 | 3,0 | Secagem |
| 650 | 12,2 | 3,0 | Pirólise |
| 650 | 4,0 | 0,0 | Auto zero |
| 1800 | 3,8 | 0,0 | Atomização |
| 2300 | 5,0 | 3,0 | Limpeza |

3.5.2 – Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, ICP – MS

As determinações dos metais por ICP-MS requerem uma série de calibrações e otimizações do equipamento e do método antes da medida. A tabela 7 mostra a calibração diária, necessária para verificar a intensidade que alguns elementos, previamente selecionados apresentam. Os valores encontrados são comparados com valores teóricos do manual do equipamento. Deve-se otimizar o fluxo do plasma, do gás nebulizador e do gás auxiliar, utilizou-se argônio ultra puro.

Tabela 7 – Calibração diária do equipamento ICP-MS

| Analito | Massa Atômica | Intensidade (cps) |
|------------------|---------------|-------------------|
| Mg | 24.0 | 44218.8 |
| In | 114.9 | 156412.0 |
| U | 238.1 | 144344.5 |
| Ce | 139.9 | 138078.0 |
| CeO | 155.9 | 4370 |
| Ba | 137.9 | 107498.7 |
| Ba ⁺⁺ | 69.0 | 2473.3 |

| Analito | Massa Atômica | Intensidade máxima (cps) |
|---------|---------------|--------------------------|
| Be | 9,0 | 3692.7 |
| Co | 59,0 | 97803.3 |
| In | 115,0 | 195808.3 |
| U | 238,0 | 194962.4 |

Após a calibração do equipamento, deve-se selecionar os metais de interesse juntamente com os seus possíveis isótopos. A curva de calibração é construída a partir de padrões multielementares preparados diariamente.

Os padrões devem ser preparados com a mesma matriz das amostras, para evitar erros. Para evitar o efeito memória durante as medidas, alternadamente às amostras mede-se brancos (sem a presença dos analitos) e controles de concentrações conhecidas. Para a determinação dos metais por ICP-MS, foram preparados 3 padrões de concentrações diferentes, colocando em cada padrão todas as espécies de interesse. Os padrões foram preparados diariamente com um volume de 50 mL.

Os padrões internos de Bi (III), Re (IV) e Ru (III) utilizados nas medidas de ICP-MS, foram preparados pipetando-se quantidades apropriadas do padrão 1000 mg.L⁻¹ para o volume final de 50 mL.

A tabela 8 mostra a concentração dos padrões utilizadas para a construção da curva de calibração. Os padrões internos usados foram o bismuto, rênio e rutênio na concentração de 10 µg/L.

Tabela 8 – Soluções padrões utilizadas em (µg/L) para o método ICP-MS

| Analito | Padrão 1 | Padrão 2 | Padrão 3 | Controle |
|---------|----------|----------|----------|----------|
| Al | 1,0 | 2,0 | 10,0 | 5,0 |
| BA | 1,0 | 2,0 | 10,0 | 5,0 |
| Bi* | 10,0 | 10 | 10,0 | 10,0 |
| Cd | 0,1 | 0,2 | 1,0 | 0,5 |
| Co | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 2,5 |
| Cr | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 1,0 |
| Fé | 5,0 | 10,0 | 50,0 | 25,0 |
| Mn | 5,0 | 10,0 | 50,0 | 25,0 |
| PB | 0,05 | 1,0 | 5,0 | 2,5 |
| Sb | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 1,0 |
| Sn | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 1,0 |
| Re* | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Ru* | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| Ti | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 1,0 |
| V | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 2,5 |
| Zn | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 2,5 |

*: padrão interno

3.6 – Determinação de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn na matéria-prima utilizada no preparo das soluções

Antes do envase das soluções nas respectivas embalagens (plásticas ou de vidro), fez-se a determinação dos metais existentes na matéria-prima para o preparo das soluções utilizadas no trabalho. As substâncias utilizadas foram de grau para análise (p.a.) de alguns fornecedores, conforme listado no Apêndice 1.

Foram preparadas soluções das substâncias nas concentrações listadas no Apêndice 1 e a determinação do teor dos metais em estudo foi feita por GF AAS. As condições das determinações para cada elemento, estão descritas no item 3.5.1. A partir dos resultados encontrados, os valores foram calculados em μg do metal por g de substância.

3.7 – Determinação de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn em soluções comerciais

Analisou-se algumas soluções de nutrição parenteral comerciais armazenadas em embalagens plásticas, a fim de determinar a concentração dos metais em estudo. Dependendo do metal e da formulação da amostra, houve a necessidade de diluição devido a matriz conter uma grande quantidade de matéria orgânica ou até mesmo possuir grande quantidade do metal, apresentando resultados acima da curva de calibração. Os resultados estão expressos em $\mu\text{g/L}$ e mostram a média de 3 replicatas destas determinações e o desvio médio padrão.

3.8 – Embalagens Plásticas

3.8.1 – Validação do método de decomposição das embalagens plásticas

As embalagens plásticas deste estudo são aquelas utilizadas para armazenar as soluções de nutrição parenteral. Os polímeros que compõem estas embalagens são: polivinilcloreto (PVC), polipropileno (PP), polietileno-acetato de vinila (EVA) e Polietileno-tereftalato (PET).

Como as embalagens de PET não são utilizadas para armazenar soluções de nutrição parenteral, não foi realizado o ensaio de contato com as substâncias de nutrição parenteral ao longo do tempo com este polímero.

Para a determinação de metais nas embalagens plásticas de diferentes tipos, houve a necessidade da realização de uma decomposição. A maioria dos artigos encontrados utiliza como procedimento de decomposição de polímeros, a pirólise, utilizando temperaturas de 300 a 750 °C.

Neste trabalho utilizou-se uma degradação térmica das embalagens em mufla. Na temperatura de 300 a 350 °C evaporou-se as substâncias voláteis que constituem o plástico, como o ácido acético no caso do EVA. Como os polímeros contém muita matéria orgânica, a temperatura foi aumentada a 500 °C para todo o carbono tornar-se cinza possibilitando a completa degradação do polímero. Utilizou-se nitrato de sódio (NaNO₃) como agente estabilizador da temperatura. Porém na literatura não se encontrou procedimentos de abertura para todos os polímeros envolvidos no estudo. Assim, primeiramente otimizou-se o método proposto, adequando-se aos tipos de polímeros do estudo [FREY, O. R. & MAYER, L., 2000].

Para verificar se o método era eficiente, realizou-se a abertura das embalagens sem a adição de metais e, em um ensaio paralelo, adicionou-se quantidades conhecidas de cada metal nas amostras de embalagens, realizou-se a abertura e ainda, determinou-se os metais nas amostras sem a fortificação, por GF AAS e por ICP-MS.

3.8.2 – Decomposição das embalagens plásticas

Na determinação do teor dos metais, as embalagens plásticas foram cortadas em pequenos pedaços de cerca de 1mm^2 , lavadas com água ultra pura e após colocadas na câmara de fluxo laminar para secar. Pesou-se, em uma balança analítica, aproximadamente 1g de cada embalagem, transferiu-se para cadinhos de porcelana, previamente descontaminados, e adicionou-se 1g de nitrato de sódio (NaNO_3). Colocou-se os cadinhos em uma mufla por 4 horas a $500\text{ }^\circ\text{C}$. Retirou-se da mufla, esfriou-se e adicionou-se 2 mL de ácido sulfúrico concentrado ($\text{H}_2\text{SO}_4\text{conc.}$). Transferiu-se essa solução para frascos de polietileno descontaminados e limpos e completou-se o volume a 50 mL com água pura.

Para a determinação dos metais, a maneira mais adequada seria a comparação dos resultados obtidos com a utilização de materiais de referência. Porém existem materiais de referência apenas para alguns tipos de polímeros, como PVC, polietileno (PE) e poliestireno (PS).

Com o intuito de obter-se resultados precisos, as amostras foram analisadas por espectrometria de absorção atômica forno de grafite (GF AAS) e por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), possibilitando uma comparação e maior confiança nos resultados obtidos. Otimizou-se os programas de medida dos equipamentos e, após, determinou-se o teor de metais nas amostras de embalagens plásticas.

Determinou-se o teor de Al, Ba, Cd, Cr, Mn, Pb Fe e Zn nas embalagens por GF AAS. Como as determinações por ICP-MS são simultâneas, tentou-se realizar a medida do maior número de metais citados na bibliografia como possíveis contaminantes das soluções de nutrição parenteral. Determinou-se Al, Ba, Cd, Co, Cr, Fe, Mn, Pb, Sb, Sn, Ti, V e Zn. Os resultados das medidas estão expressos em μg do metal/g de embalagem.

3.8.3 – Preparo das embalagens plásticas

Como as bolsas de PVC e frascos de PP são comercializadas somente para hospitais, neste trabalho reutilizou-se bolsas de PVC (Baxter) e CAPD (bolsas de PVC utilizadas por pacientes que realizam diálise peritoneal) de 250 mL e frascos de PP de 100 mL fornecidas pelo Hospital Universitário (HUSM).

Para uma melhor padronização, selecionou-se bolsas e frascos que continham soluções de glicose ou cloreto de sódio evitando, assim possíveis erros devido a reutilização das embalagens. As bolsas de EVA de 250 mL utilizadas foram novas, do fabricante Ribral.

As embalagens foram lavadas com água ultra pura e após foram colocadas na câmara de fluxo laminar para secar. As soluções foram envasadas individualmente nas embalagens, e armazenadas à temperatura ambiente (18 à 20 °C).

3.8.4 – Influência do processo de esterilização na extração de Al, Ba, Cd, Cr, Mn, Pb e Zn das embalagens plásticas por ação das substâncias usadas nas soluções de nutrição parenteral

Preparou-se soluções de 20 aminoácidos (ácido aspártico, ácido glutâmico, arginina, asparagina, cisteína, cistina, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, n-acetil tirosina, ornitina, prolina, serina, tirosina, treonina e triptofano) e armazenou-se individualmente cada uma em bolsas plásticas de PVC. Nas bolsas de EVA, além das soluções dos aminoácidos citados acima, armazenou-se também as soluções de cloreto de sódio, de cloreto de potássio e de glicose. No Apêndice 1 encontram-se as concentrações das soluções preparadas.

Para os frascos de PP foram preparadas soluções de cloreto de sódio, cloreto de potássio, sulfato de magnésio, bicarbonato de sódio, glicose, manitol e sorbitol, armazenadas individualmente.

As embalagens foram fechadas e colocadas na estufa por 3 horas a 100^oC para simular o processo de esterilização. Segundo a literatura, o processo de esterilização convencional, utilizando autoclave, pode ser substituído pelo processo citado acima [British Pharmacopeia, 2003].

Após a esterilização, retirou-se uma alíquota das soluções envasadas e determinou-se os metais por GF AAS.

3.8.5 – Determinação de Al, Ba, Cd, Cr, Mn, Pb e Zn extraído das embalagens plásticas por ação das substâncias usadas nas soluções de nutrição parenteral em função do tempo de contato

As soluções de aminoácidos, glicose e sais foram armazenadas nas embalagens de PVC e/ou EVA e/ou PP e nas concentrações escolhidas, devido as soluções de NP serem comercializadas mais comumente desta forma.

Após o processo de esterilização as soluções de aminoácidos envasadas nas embalagens plásticas foram mantidas à temperatura ambiente (18 a 20 °C) durante o período de realização do estudo. As soluções não foram mantidas em uma sala climatizada para reproduzir a situação real, onde as embalagens ficam em prateleiras sem o controle rigoroso da temperatura.

As soluções cloreto de sódio, cloreto de potássio, sulfato de magnésio, bicarbonato de sódio, glicose, manitol e sorbitol, foram previamente armazenados nas embalagens plásticas, conforme descrito no item 3.8.3.

Para verificar a interação das substâncias com as embalagens, retirou-se alíquotas durante um período selecionado. As alíquotas das embalagens de PVC e EVA foram recolhidas após 15, 45, 90, 135, 180 e 225 dias de armazenamento e alíquotas das embalagens de PP foram recolhidas em 30, 90, 180 e 225 dias. O teor dos metais Al, Ba, Cd, Cr, Mn, Pb e Zn foi determinado por GF AAS.

3.9 – Embalagens de vidro

3.9.1 – Validação do método de decomposição das embalagens de vidro

Na realização do estudo reutilizou-se recipientes de vidro que continham soluções de nutrição parenteral (fornecidos pelo Hospital Universitário de Santa Maria) e ampolas de vidro novas. As embalagens utilizadas foram:

- Frasco de grande volume (500 mL)
- Frasco de pequeno volume (75 mL)
- Ampola transparente (10 mL)
- Ampola âmbar (10 mL)

Para limpar os frascos de vidro, colocou-se dentro dos frascos e ampolas solução de Extran 2% e após lavou-se as embalagens com água ultra pura e as mesmas foram deixadas na câmara de fluxo laminar para secar.

As embalagens de vidro de pequeno volume, grande volume e ampolas transparentes e âmbar foram decompostas para a determinação de metais. Comumente as amostras de vidro são decompostas utilizando ácido fluorídrico (HF).

Realizou-se ensaios de recuperação para os diferentes tipos de embalagens de vidro. Primeiramente realizou-se a decomposição das embalagens sem a adição de metais para escolher a quantidade do analito que deveria ser adicionado. Após adicionou-se quantidades conhecidas de cada metal nas amostras e realizou-se a decomposição.

Os metais Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb, Zn foram determinados por GF AAS nas amostras de vidro sem e com fortificação. Também determinou-se os metais nas amostras, sem a fortificação por ICP-MS para comparar com os resultados obtidos por GF AAS, já que não foram encontrados materiais de referência de embalagens de vidro para soluções de NP.

Determinou-se por ICP-MS o teor de Al, Ba, Cd, Co, Cr, Fe, Mn, Pb, Sb, Sn, Ti, V, Zn.

3.9.2 – Decomposição das embalagens de vidro

Para a determinação do teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn nas embalagens de vidro, realizou-se dois tipos de abertura com e sem o uso de microondas.

Os frascos foram quebrados e triturados até fragmentos de 1mm e após lavados com água.

No primeiro procedimento (Microondas) pesou-se aproximadamente 0,1 g de cada vidro, transferiu-se para frascos de Politetrafluoretileno (PTFE – Teflon) e adicionou-se 5 mL de HF (48% m/m) e 5 mL de água ultra pura. Após 24 horas em repouso, aqueceu-se em forno microondas doméstico por 10 minutos na potência mínima 174W, repetindo-se esse processo por mais 2 vezes [BECKER, 2002].

Com a dissolução total do vidro, completou-se o volume a 100 mL, determinando-se os metais por GF AAS. Para a determinação por GF AAS, diluiu-se as amostras 50 vezes e por ICP-MS diluiu-se as amostras primeiramente 1000 e após 500 vezes para evitar que a tocha ficasse supersaturada de íons. As condições de determinação das espécies estão descritas no item 3.5.1 (GF AAS) e 3.52 (ICP-MS).

No segundo procedimento, transferiu-se aproximadamente 0,1 g de cada vidro para um frasco de PTFE e adicionou-se 5 mL de HF (48% m/m) e 5 mL de água ultra pura. Após 48 horas, filtrou-se a amostra e completou-se o volume a 100 mL. Como não houve a completa abertura do vidro, o resíduo restante foi seco em estufa por 40 minutos a 90 °C e posteriormente pesado para a realização do cálculo da quantidade de metais contidos nas amostras [BECKER, 2002].

Para determinar as espécies presentes nas embalagens, as amostras foram diluídas da mesma maneira que no primeiro procedimento.

Para verificar se os procedimentos de decomposição eram eficientes, realizou-se ensaios de recuperação, fortificando as amostras com quantidades conhecidas dos metais em estudo. As espécies foram determinadas por GF AAS e os resultados estão expressos em µg do metal/g de embalagem.

3.9.3 – Preparo das embalagens de vidro

Para a realização do ensaio de armazenagem das substâncias usadas na nutrição parenteral em embalagens de vidro utilizou-se recipientes de grande volume (500 mL), pequeno volume (75 mL), ampolas claras e escuras de 10 mL.

Como as embalagens já apresentavam uso anterior, colocou-se Extran 2% nas embalagens, lavou-se com água ultra pura. Após, as embalagens foram colocadas na mufla por 12 horas a 560 °C para retirar da superfície do vidro qualquer substância adsorvida. Preparou-se os frascos com rótulos para armazenar as soluções de cada substância. Os frascos foram fechados e as ampolas foram vedadas para posterior esterilização e ensaio de longo prazo de armazenagem.

3.9.4 – Influência do processo de esterilização na extração de Al, Cd, Cr, Fe, Pb e Zn das embalagens de vidro por ação das substâncias usadas nas soluções de nutrição parenteral

Preparou-se as soluções dos aminoácidos, cloreto de sódio, potássio e cálcio, glicose, bicarbonato de sódio, acetato de sódio, ácido caprílico e capróico. As concentrações das soluções encontram-se no Apêndice 1.

As soluções foram armazenadas em embalagens de vidro e ampolas, fechou-se os frascos e estes foram levados à estufa por 3 horas a 100 °C, para simular o processo de esterilização. Após retirou-se uma alíquota das soluções envasadas e esterilizadas e determinou-se os metais por GF AAS.

3.9.5 – Determinação de Al, Cd, Cr, Fe, Pb e Zn extraído das embalagens de vidro por ação das substâncias usadas em nutrição parenteral em função do tempo de contato

As soluções de seis aminoácidos (ácido glutâmico, serina, glicina, arginina, metionina e cisteína), soluções de cloreto de sódio, potássio e cálcio, bicarbonato de sódio, e glicose, acetato de sódio, ácido caprílico e ácido capróico, foram armazenadas individualmente em embalagens de vidro de soluções de NP. As concentrações das soluções preparadas para este ensaio encontram-se no Apêndice 1.

Os frascos foram fechados e as ampolas seladas e deixados a temperatura ambiente (18 a 20 °C) durante o período que realizou-se o experimento. O teor dos metais em estudo foi determinado nas soluções retirando-se alíquotas após 30, 60 e 90 dias de armazenamento. O teor dos metais das alíquotas foi determinado por GF AAS em triplicata.

4 RESULTADOS

Na primeira parte deste trabalho investigou-se o grau de contaminação das soluções de nutrição parenteral comerciais pelos metais selecionados para o estudo.

Como já mencionado na introdução, além do alumínio, que tem sido amplamente estudado em nosso laboratório, outros metais encontrados em soluções de nutrição parenteral são cromo, chumbo, arsênio, bário, germânio e manganês entre outros, também têm sido estudados [HARRARI *et al.*, 1995; BUCHMAN *et al.*, 2001].

Já ficou demonstrado, em trabalhos anteriores, que a principal fonte de metais contaminantes em soluções para nutrição parenteral são as embalagens, ou seja, o contato com a superfície do vidro e dos materiais plásticos pode promover a migração dos metais da embalagem para o medicamento [BINOTTO, 2001].

A tabela 9 mostra a composição das embalagens de vidro utilizadas em medicamentos.

Tabela 9 – Composição percentual (m/m), das embalagens de vidro tipo I (borossilicato), utilizadas em soluções de nutrição parenteral

| Componente | Embalagens Gerais | Ampola transparente | Ampola âmbar | Pequeno Volume |
|--------------------------------|-------------------|---------------------|--------------|----------------|
| SiO ₂ | 70,0 | 75,0 | 70,0 | 67,0 |
| B ₂ O ₃ | 10,0 | 10,5 | 7,0 | 5,0 |
| Na ₂ O | 9,0 | 7,0 | 7,0 | 12,0 |
| K ₂ O | 1,0 | -- | 1,0 | 1,0 |
| Al ₂ O ₃ | 6,0 | 5,0 | 6,0 | 7,0 |
| Fe ₂ O ₃ | -- | -- | 1,0 | 2,0 |
| BaO | 2,0 | <<1 | 2,0 | <0,5 |
| CaO | 1,0 | 1,5 | <<1,0 | 1,0 |
| MgO | 0,5 | -- | -- | -- |
| MnO ₂ | -- | -- | -- | 5,0 |
| TiO ₂ | -- | -- | 5,0 | -- |
| ZnO | 0,5 | -- | -- | -- |

Fonte: Boletins técnicos Schott do Brasil

Pode-se observar na tabela 9 que além de sílica e óxido de sódio, vários outros óxidos metálicos compõem o vidro. Desta forma, o alumínio, bário, ferro e manganês foram selecionados para o estudo em função da sua presença como constituintes do vidro.

Evidentemente plásticos não são constituídos de diferentes componentes, mas de repetições dos monômeros específicos. Entretanto, além dos catalisadores utilizados na polimerização dos monômeros para a obtenção da matéria-prima “plástico”, vários aditivos são utilizados para tornar os plásticos utilizáveis como embalagens. A tabela 10 mostra os principais plásticos utilizados como embalagens na indústria farmacêutica e os catalisadores aditivos utilizados para cada um.

Devido à presença de alumínio e cromo nos catalisadores e do uso de sabões de zinco, de bário, de cádmio e de chumbo como estabilizadores de PVC e PP, há risco da migração destes metais para formulações armazenadas em embalagens plásticas. Desta forma, zinco, cádmio, chumbo e cromo foram também incluídos na investigação.

Após a seleção dos metais, analisou-se diferentes amostras de formulações parenterais, armazenadas tanto em embalagens plásticas quanto de vidro para verificar o grau de contaminação pelos metais selecionados.

Tabela 10 – Material polimérico, sua unidade estrutural, usos farmacêuticos e catalisadores utilizados na reação de polimerização e aditivos

| Polímero | Monômero | Usos em produtos | Catalisadores | Aditivos |
|---------------------------------|---|--|---|--|
| Polietileno (PE) | Etileno | Formas orais sólidas Soluções aquosas não injetáveis Infusões aquosas intravenosas | TiCl ₄ + Al(C ₂ H ₅) ₃ , CrO ₃ /SiO ₂ , MoO ₃ /Al ₂ O ₃ | |
| Polipropileno (PP) | Propileno | Formas orais sólidas Soluções aquosas não injetáveis Infusões aquosas intravenosas | α-TiCl ₄ + Al(C ₂ H ₅) ₃ | Benzoato de sódio, fosfato trisódico, óxido de zinco, talco, óxido de magnésio, estearato de cálcio/zinco. |
| Polivinil cloreto (PVC) | Vinil cloreto | Formas orais sólidas Soluções aquosas não injetáveis Infusões aquosas intravenosas | | Estearato de cálcio ou estearato de zinco. |
| Polietileno vinil acetato (EVA) | Etileno e vinil acetato | Infusões aquosas intravenosas Preparações de nutrição parenteral | | Oleamida, estearato de cálcio ou de zinco, carbonato de cálcio, hidróxido de potássio, sílica. |
| Polietileno tereftalato (PET) | Ácido tereftálico ou dimetil tereftalato e etileno glicol | Formas orais sólidas Formas orais líquidas | | Sais e sabões de bário/zinco e cálcio/zinco |

Fontes: BP, FDA e DAB

As tabelas 11 e 12 mostram os resultados obtidos na determinação dos metais em soluções comerciais armazenadas em embalagens plásticas e as tabelas 13, 14 e 15 mostram os resultados das soluções comerciais armazenadas em embalagens de vidro.

Para alguns produtos foram analisadas soluções com diferentes concentrações. Os resultados são expressos em $\mu\text{g/L}$ com seu desvio padrão, pois estes correspondem à análise de 3 amostras do mesmo lote ($n=3$)

Apesar de determinados produtos serem preferencialmente armazenados em embalagens de vidro e plástico, e alguns metais terem sido selecionados devido à sua presença no vidro ou no plástico, nesta análise inicial, dos produtos comerciais, todos os metais selecionados foram medidos em todas as amostras, independentemente do tipo de embalagem. No Apêndice 4, está os tipos de polímeros que constituem as embalagens que armazenam as soluções comerciais e no Apêndice 5 está os tipos de embalagens de vidro que armazenam as soluções parenterais analisadas neste trabalho.

Tabela 11 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presentes em soluções comerciais armazenadas em embalagens plásticas, determinado por GF AAS

| Produto | Al ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Ba ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Cd ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Cr ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Fe ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Mn ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Pb ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Zn ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* |
|--------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Água para injeção ¹ | 52,0 \pm 1,9 | n.d. | 84,2 \pm 3,9 | 16,0 \pm 2,2 | 65,6 \pm 8,2 | 185,3 \pm 8,1 | 92,8 \pm 15,8 | 270,2 \pm 6,8 |
| NaHCO ₃ 8,4% ² | 192,2 \pm 2,0 | 74,8 \pm 5,7 | 0,8 \pm 3,4 | 28,6 \pm 1,2 | 72,0 \pm 7,1 | 72,1 \pm 2,2 | 36,5 \pm 6,1 | 305,1 \pm 4,2 |
| KCl 10% ³ | 145,9 \pm 2,5 | 65,1 \pm 6,0 | 11,5 \pm 2,5 | 7,9 \pm 3,4 | 11,5 \pm 4,2 | n.d. | 75,8 \pm 9,2 | 52,7 \pm 1,5 |
| NaCl 0,9% ⁴ | 98,5 \pm 3,1 | 62,8 \pm 3,4 | 9,7 \pm 2,0 | 12,6 \pm 2,1 | 5,0 \pm 0,8 | n.d. | 73,5 \pm 1,1 | 180,2 \pm 6,6 |
| NaCl 20% ⁵ | 101,3 \pm 4,2 | 58,7 \pm 5,2 | 8,3 \pm 2,4 | 25,8 \pm 0,9 | 8,9 \pm 0,6 | n.d. | 84,9 \pm 5,8 | 47,4 \pm 3,8 |
| NaCl 20% ⁶ | 118,6 \pm 4,6 | 45,1 \pm 3,4 | 8,4 \pm 1,3 | 10,4 \pm 1,6 | 20,5 \pm 2,4 | 20,5 \pm 3,3 | 150,6 \pm 4,5 | 354,7 \pm 9,6 |
| Fosfato de K ⁷ | 361,4 \pm 2,7 | 24,6 \pm 2,5 | 44,3 \pm 4,2 | 270,1 \pm 3,4 | 297,3 \pm 3,4 | 16,7 \pm 2,2 | 14,9 \pm 2,3 | 135,6 \pm 4,2 |
| Glicose 5% ⁸ | 34,1 \pm 3,4 | 22,3 \pm 2,0 | 5,0 \pm 3,1 | 13,2 \pm 4,3 | 75,7 \pm 5,5 | 12,5 \pm 2,5 | 14,6 \pm 3,5 | 106,9 \pm 2,4 |
| Glicose 10% ¹ | 79,3 \pm 4,6 | 18,4 \pm 4,7 | 7,3 \pm 2,6 | 12,0 \pm 3,8 | 80,7 \pm 4,8 | 16,1 \pm 4,0 | 12,8 \pm 2,9 | 104,8 \pm 4,9 |
| Glicose 25% ⁹ | 56,3 \pm 1,7 | 15,2 \pm 3,4 | 1,0 \pm 1,5 | 16,8 \pm 1,3 | 89,7 \pm 8,6 | 9,5 \pm 2,6 | 12,0 \pm 6,1 | 151,3 \pm 7,4 |
| Glicose 50% ⁴ | 206,1 \pm 4,3 | 12,1 \pm 2,8 | 9,6 \pm 1,2 | 13,9 \pm 1,5 | 91,2 \pm 3,8 | 10,0 \pm 1,6 | 11,6 \pm 1,5 | 275,0 \pm 4,2 |
| Glicose 50% ⁹ | 344,5 \pm 3,0 | 14,6 \pm 3,1 | 26,1 \pm 2,0 | 20,5 \pm 2,4 | 85,7 \pm 7,3 | 21,6 \pm 2,5 | 12,2 \pm 1,4 | 142,4 \pm 3,3 |
| Kabiven 900 Kcal ¹ | 81,5 \pm 3,7 | n.d. | 8,6 \pm 2,5 | 21,6 \pm 3,2 | 32,3 \pm 4,6 | 22,4 \pm 3,1 | n.d. | 89,7 \pm 5,1 |
| Kabiven 1000 Kcal ¹ | 78,7 \pm 3,8 | n.d. | 9,5 \pm 1,9 | 18,0 \pm 4,0 | 31,6 \pm 3,3 | 19,5 \pm 4,2 | n.d. | 92,4 \pm 3,4 |

1- Fresenius, 2- Ariston, 3- Equiplex, 4- B. Braun, 5- Isofarma, 6- Hipofarma, 7- Aster, 8- Endomed, 9- HalexIstar

n.d.: não detectado

DPR= Desvio padrão relativo

* n=3

Tabela 12 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presentes em soluções comerciais (injetáveis) armazenadas em embalagens plásticas, determinado por GF AAS

| Produto | Al ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Ba ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Cd ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Cr ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Fe ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Mn ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Pb ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* | Zn ($\mu\text{g/L}$) \pm DPR* |
|-------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Endonidazol ¹ | 459,3 \pm 2,1 | 6,3 \pm 1,8 | 8,0 \pm 2,1 | 26,9 \pm 2,8 | 63,3 \pm 3,6 | 21,3 \pm 4,6 | 39,2 \pm 3,7 | 60,2 \pm 3,3 |
| Haes Steril 10 % ¹ | 15,8 \pm 2,4 | n.d. | n.d. | 18,9 \pm 1,9 | 9,3 \pm 1,2 | 9,8 \pm 0,6 | 14,1 \pm 2,0 | 124,5 \pm 2,6 |
| Hisocel 3,5% ¹ | 10,2 \pm 1,5 | n.d. | 6,4 \pm 1,1 | 20,2 \pm 1,5 | 8,5 \pm 0,8 | 79,3 \pm 1,6 | 13,9 \pm 2,8 | 379,5 \pm 3,0 |
| Voluven 6% ¹ | n.d. | n.d. | n.d. | 13,5 \pm 2,8 | n.d. | 33,9 \pm 2,2 | n.d. | 186,8 \pm 4,2 |
| Manitol 20% ² | 121,5 \pm 1,2 | n.d. | 1,1 \pm 2,3 | 14,2 \pm 1,4 | 9,1 \pm 3,3 | 8,1 \pm 0,7 | 18,4 \pm 2,1 | 69,2 \pm 8,9 |

1- Fresenius, 2- Endomed

n.d.: não detectado

DPR= Desvio padrão relativo

* n=3

Tabela 13 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presente em soluções comerciais (aminoácidos, elementos essenciais e emulsões lipídicas) armazenadas em embalagens de vidro, determinado por GF AAS

| Produto | Al (µg/L) ± DPR* | Ba (µg/L) ± DPR* | Cd (µg/L) ± DPR* | Cr (µg/L) ± DPR* | Fe (µg/L) ± DPR* | Mn (µg/L) ± DPR* | Pb (µg/L) ± DPR* | Zn (µg/L) ± DPR* |
|------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|---------------------------|
| Aminoped 10% ¹ | 144,7 ± 3,6 | 99,2 ± 4,3 | 34,2 ± 3,4 | 48,7 ± 4,3 | 73,0 ± 3,2 | 24,0 ± 3,4 | 98,7 ± 3,4 | 767,6 ± 8,1 |
| Aminoplasma 10% ¹ | 163,7 ± 8,2 | 81,2 ± 6,1 | 42,3 ± 5,3 | 34,5 ± 1,9 | 31,7 ± 2,6 | 20,3 ± 5,0 | 145,5 ± 5,3 | 666,8 ± 9,6 |
| Aminosteril 10% ¹ | 161,1 ± 5,4 | 98,7 ± 3,6 | 109,9 ± 9,1 | 27,4 ± 3,7 | 10,8 ± 1,9 | 18,8 ± 3,6 | 92,9 ± 3,2 | 90,0 ± 4,2 |
| Aminosteril Hepat. 8% ¹ | 243,3 ± 3,3 | 105,3 ± 8,4 | 58,8 ± 3,8 | 32,7 ± 2,8 | 50,8 ± 4,2 | 37,7 ± 4,2 | 149,7 ± 8,1 | 123,1 ± 3,8 |
| Lipofundin ² | 90,9 ± 6,4 | 47,2 ± 5,4 | 9,1 ± 2,9 | 18,2 ± 5,0 | 94,6 ± 7,6 | 29,7 ± 6,1 | 117,7 ± 8,1 | 398,6 ± 9,2 |
| Lipovenos ² | 54,1 ± 3,9 | 92,4 ± 3,8 | 12,5 ± 2,5 | 15,3 ± 3,1 | 89,5 ± 6,3 | 24,2 ± 7,2 | 98,0 ± 4,8 | 485,5 ± 7,6 |
| N-acetil cisteína ³ | 2566,0 ± 21,9 | 102,5 ± 8,3 | 13,5 ± 3,3 | 68,6 ± 4,2 | 235,6 ± 8,2 | 3,1 ± 9,1 | 294,8 ± 0,9 | 430,2 ± 6,4 |
| Nefroamino ¹ | 257,9 ± 5,1 | 116,6 ± 3,3 | 43,2 ± 2,7 | 29,8 ± 2,1 | 31,5 ± 7,6 | 34,3 ± 4,2 | 169,4 ± 6,2 | 51,7 ± 7,2 |
| Ped element ³ | 3029,0 ± 18,7 | 50,2 ± 5,1 | 22,9 ± 1,9 | 1540 ± 21,3 [*] | 54,9 ± 8,6 | 33,6 ± 3,6 [*] | 1351,6 ± 4,8 | 4146,0 ± 9,6 [*] |

Fresenius, 2- B. Braun, 3- Darrow

*: elementos que compõem a solução do Ped element

DPR= Desvio padrão relativo

* n=3

Tabela 14 – Teor de Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn presentes em soluções comerciais armazenadas em embalagens de vidro, determinado por GF AAS

| Produto | Al (µg/L) ± DPR* | Ba (µg/L) ± DPR* | Cd (µg/L) ± DPR* | Cr (µg/L) ± DPR* | Fe (µg/L) ± DPR* | Mn (µg/L) ± DPR* | Pb (µg/L) ± DPR* | Zn (µg/L) ± DPR* |
|--------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Acetato Zn 4,6% ¹ | 1294,0 ± 9,6 | 11,7 ± 1,3 | 1464,8 ± 10,9 | 5,2 ± 0,9 | 176,5 ± 3,7 | 293,0 ± 9,8 | 2494,6 ± 4,8 | 46.142 ± 9,7 |
| Água injetável ² | 88,7 ± 2,8 | 11,9 ± 2,4 | 10,7 ± 1,6 | n.d. | 6,6 ± 2,1 | 12,9 ± 2,2 | 29,4 ± 6,1 | 286,5 ± 5,6 |
| Gluconato de Ca 10% ³ | 68,4 ± 4,1 | 144,2 ± 11,2 | 121,6 ± 5,6 | 6,4 ± 2,3 | 514,6 ± 9,7 | 35,1 ± 6,0 | n.d. | 138,0 ± 9,1 |
| NaHCO ₃ 8,4% ⁴ | 2400,0 ± 16,9 | 107,9 ± 6,7 | 818,5 ± 12,3 | 5,7 ± 3,0 | 243,2 ± 9,5 | 236,8 ± 6,3 | 42,8 ± 3,3 | 301,2 ± 10,4 |
| MgSO ₄ 10% ³ | 37,5 ± 3,2 | 27,9 ± 6,2 | 49,3 ± 5,1 | 91,6 ± 3,6 | 9,5 ± 3,7 | 66,3 ± 3,3 | n.d. | 183,0 ± 4,3 |

1- B. Braun, 2- EMS, 3- Hipofarma, 4- HalexIstar

n.d.: não detectado

DPR= Desvio padrão relativo

* n=3

Pode-se observar, que em maior ou menor extensão, todos os metais (Al, Ba, Cd, Cr, Fe, Mn, Pb e Zn) estão presentes em praticamente todas as formulações analisadas. O zinco destaca-se como o elemento presente em todas as amostras e em maior quantidade, tanto nas soluções em embalagens de plástico como de vidro.

Das amostras comerciais analisadas, apenas a água injetável e a solução de bicarbonato de sódio 8,4 % encontravam-se armazenadas tanto na embalagem de plástico como na de vidro. Assim, comparando-se os resultados, observou-se que em geral, a amostra de água armazenada na embalagem de plástico e a amostra de bicarbonato armazenada na embalagem de vidro apresentaram as maiores contaminações, destacando-se alumínio, cádmio, chumbo e zinco.

Ao comparar os resultados obtidos nas amostras de emulsões lipídicas, de kabiven 900 Kcal e 1000 Kcal com as amostras de lipovenos e lipofundin observou-se que as emulsões apresentaram, para todos os metais, quantidades maiores de contaminação, destacando-se o zinco.

Assim, como segunda etapa deste trabalho, analisou-se a matéria-prima para determinar o seu grau de contaminação e a sua contribuição na presença dos metais no produto final.

4.1 – Investigação do teor dos metais presentes na matéria-prima utilizada na preparação de soluções parenterais

Substâncias químicas não são isentas de impurezas e os próprios fabricantes fornecem boletins garantindo a qualidade do produto, apresentando quantidades máximas de espécies que podem estar presentes como impurezas.

A matéria-prima empregada na indústria farmacêutica pode ter duas origens diferentes. As substâncias podem ser encontradas naturalmente ou sintetizadas. Entre os produtos naturais há os oriundos de plantas ou animais, substâncias químicas e produtos biotecnológicos. Assim como há uma grande quantidade de diferentes matérias-primas, há uma variedade de impurezas [FDA, 1999].

A água é amplamente utilizada em formulações farmacêuticas. Assim deve ser investigada como uma possível fonte de contaminação dos medicamentos, já que em alguns casos a água é utilizada como veículo e, em alguns casos, como o componente majoritário da formulação. Porém, com a utilização de técnicas de purificação como a osmose reversa e a filtração por membranas, a água não é mais uma fonte significativa de compostos químicos.

Padrões para a qualidade da água são similares entre as Farmacopéias (U.S.P) (Farmacopéia Americana), B.P. (Farmacopéia Britânica), DAB (Farmacopéia Alemã) com pequenas diferenças para contaminantes químicos.

Em produtos como sais, as impurezas são cátions e ânions e, geralmente, quanto maior a semelhança química maior a porcentagem na qual a espécie pode aparecer como impureza.

As substâncias químicas são encontradas com diferentes graus de pureza: grau técnico, para análise (p.a.) e ultra puro, crescendo em qualidade nesta ordem. Alguns fabricantes fornecem substâncias com graus de pureza ainda mais elevados, como produtos suprapur da Merck e SigmaUltra da Sigma, mas nem mesmo estes são isentos de impurezas.

Substâncias químicas que encontram uso farmacêutico ou alimentar são comercializadas especialmente para esse fim, tendo como referência o grau farmacopéico (USP, DAB) ou puríssimo. Essas substâncias possuem talvez um maior controle com relação à contaminação microbiológica, porque do ponto de vista químico podem conter até mais impurezas do que os produtos p.a.

Como exemplo, na tabela 16 estão relacionados os limites toleráveis de metais pesados em algumas substâncias de diferentes graus de qualidade.

Tabela 16 – Limites de metais em algumas matérias-primas em µg/g

| Substância | Al | As | Pb | Fe | Metais pesados | Ni |
|---------------------------------|------|-----|-----|------|----------------|-----|
| KCl ¹ | 5,0 | -- | -- | -- | -- | -- |
| KCl ² | 0,01 | 3,0 | -- | 20,0 | -- | -- |
| NaHCO ₃ ¹ | 10,0 | 2,0 | -- | -- | -- | -- |
| NaHCO ₃ ² | | 2,0 | -- | 20,0 | 5,0 | -- |
| CaCl ₂ ¹ | 0,01 | 3,0 | -- | -- | -- | -- |
| CaCl ₂ ² | 1,0 | -- | -- | 10,0 | -- | -- |
| NaCl ¹ | 0,2 | 1,0 | -- | 2,0 | -- | -- |
| NaCl ² | 5,0 | 3,0 | -- | 2,0 | 5,0 | -- |
| Acetato de sódio ¹ | 0,01 | 3,0 | -- | -- | -- | -- |
| Acetato de sódio ² | 0,2 | 2,0 | -- | -- | -- | -- |
| Manitol ¹ | -- | 2,0 | -- | -- | -- | -- |
| Manitol ² | -- | 2,0 | 0,5 | -- | -- | 1,0 |
| Sorbitol ¹ | -- | 3,0 | -- | -- | -- | -- |
| Sorbitol ² | -- | -- | 0,5 | -- | -- | 1,0 |

Fonte: 1 – USP, 2 – BP

Pode-se perceber que nem todas as substâncias têm limites especificados para metais pesados e elementos tóxicos como alumínio, cádmio, chumbo entre outros. Os limites estipulados para as substâncias são muito elevados, se considerarmos que algumas soluções parenterais contêm até 50 % de cada substância.

Entre os aminoácidos a preocupação é ainda maior, pois na USP e BP aparecem limites para metais pesados em geral, não sendo especificados limites para alumínio, cromo, cádmio, chumbo, zinco, etc.

No boletim de garantia da firma Ajinomoto, que fornece aminoácidos para indústrias que produzem formulações parenterais, está descrito como limite máximo 10 µg/g de metais pesados para todos os aminoácidos. Com isso, pode-se concluir

que nenhuma substância é totalmente isenta de impurezas, mesmo que apresentem um alto grau de pureza.

As tabelas 17 e 18 mostram os resultados da análise das substâncias utilizadas em NP investigadas neste trabalho, respectivamente a quantidade de metais presentes nos aminoácidos, sais e outras substâncias fornecidas por diferentes fabricantes.

Tabela 17 – Quantidade de metais presentes nos aminoácidos como impureza, em µg/g de substância, determinado por GF AAS

| Substância | Al (µg/g) ± DPR* | Ba (µg/g) ± DPR* | Cd (µg/g) ± DPR* | Cr (µg/g) ± DPR* | Fe (µg/g) ± DPR* | Mn (µg/g) ± DPR* | Pb (µg/g) ± DPR* | Zn (µg/g) ± DPR* |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Ác. Aspártico | 0,2 ± 0,1 | 1,3 ± 0,2 | 0,25 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | 2,6 ± 0,1 | 0,2 ± 0,2 |
| Ac. Glutâmico | 0,3 ± 0,1 | 4,3 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 2,8 ± 0,3 | 0,3 ± 0,1 |
| Arginina | 0,3 ± 0,1 | 2,3 ± 0,1 | 1,1 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| Asparagina | 0,3 ± 0,1 | 1,1 ± 0,1 | 1,7 ± 0,2 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,2 ± 0,1 |
| Cisteína | 0,1 ± 0,2 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| Cistina | 0,1 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,9 ± 0,2 |
| Fenilalanina | 0,2 ± 0,1 | 1,5 ± 0,4 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,5 ± 0,1 |
| Glicina | 0,2 ± 0,1 | 1,6 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,4 ± 0,3 |
| Histidina | 0,4 ± 0,2 | 2,2 ± 0,2 | 0,5 ± 0,1 | 0,2 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | 0,5 ± 0,3 |
| Isoleucina | 0,3 ± 0,1 | 2,3 ± 0,2 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| Leucina | 0,3 ± 0,3 | 1,2 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| Lisina | 0,1 ± 0,2 | 3,7 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| Metionina | n.d. | 2,5 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,3 ± 0,2 |
| N-acetil tir. | 0,7 ± 0,2 | 2,1 ± 0,1 | 1,2 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,6 ± 0,2 |
| Ornitina | 0,4 ± 0,1 | 2,0 ± 0,1 | n.d. | 0,3 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | 0,5 ± 0,1 |
| Prolina | 0,1 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,7 ± 0,1 |
| Serina | 0,2 ± 0,1 | 1,5 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,3 ± 0,2 |
| Tirosina | 0,4 ± 0,2 | 2,6 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,3 ± |
| Treonina | 0,2 ± 0,1 | 0,9 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,5 ± 0,2 |
| Triptofano | 0,2 ± 0,2 | 1,4 ± 0,1 | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,2 ± 0,1 |

n.d.: não detectado

DPR= Desvio padrão relativo

*: n=3

Tabela 18 – Quantidade de metais presentes nos sais, glicose e outras substâncias em $\mu\text{g/g}$ de substância, determinado por GF AAS

| Substância | Al ($\mu\text{g/g}$) \pm DPR* | Ba ($\mu\text{g/g}$) \pm DPR* | Cd ($\mu\text{g/g}$) \pm DPR* | Cr ($\mu\text{g/g}$) \pm DPR* | Fe ($\mu\text{g/g}$) \pm DPR* | Mn ($\mu\text{g/g}$) \pm DPR* | Pb ($\mu\text{g/g}$) \pm DPR* | Zn ($\mu\text{g/g}$) \pm DPR* |
|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Ácido Caprílico | 0,2 \pm 0,1 | 1,6 \pm 0,1 | 0,8 \pm 0,4 | 1,8 \pm 0,2 | 0,7 \pm 0,1 | 0,7 \pm 0,1 | 0,4 \pm 0,2 | 2,1 \pm 0,2 |
| Ácido Capróico | 0,2 \pm 0,3 | 2,0 \pm 0,1 | 0,3 \pm 0,2 | 2,1 \pm 0,2 | 0,2 \pm 0,2 | 0,3 \pm 0,1 | 0,3 \pm 0,1 | 3,1 \pm 0,3 |
| CaCl ₂ | 0,3 \pm 0,2 | 1,2 \pm 0,2 | 1,4 \pm 0,3 | 1,0 \pm 0,2 | 0,5 \pm 0,2 | 0,7 \pm 0,4 | 2,4 \pm 0,2 | 2,9 \pm 0,1 |
| KCl | 4,0 \pm 0,2 | n.d. | 1,8 \pm 0,3 | 1,6 \pm 0,3 | 1,8 \pm 0,3 | n.d. | 1,4 \pm 0,3 | 3,5 \pm 0,2 |
| NaCl | 5,5 \pm 0,1 | 3,3 \pm 0,2 | 0,9 \pm 0,2 | 1,1 \pm 0,3 | 1,3 \pm 0,3 | n.d. | 1,9 \pm 0,3 | 2,9 \pm 0,3 |
| Glicose | 0,6 \pm 0,1 | n.d. | 0,2 \pm 0,1 | 0,2 \pm 0,1 | 1,9 \pm 0,2 | n.d. | 1,0 \pm 0,2 | 3,8 \pm 0,2 |
| NaHCO ₃ | 0,8 \pm 0,1 | 2,7 \pm 1,5 | 1,6 \pm 0,2 | 2,0 \pm 0,2 | 0,2 \pm 0,3 | n.d. | 1,4 \pm 0,1 | 1,9 \pm 0,5 |
| Sorbitol | 1,9 \pm 0,2 | n.d. | n.d. | 2,9 \pm 0,1 | 2,2 \pm 0,4 | n.d. | 1,2 \pm 0,2 | n.d. |
| Lecitina de soja | 13,6 \pm 2,5 | n.d. | n.d. | 0,4 \pm 0,2 | n.d. | n.d. | 1,3 \pm 0,1 | 1,3 \pm 0,6 |
| Manitol | n.d. | n.d. | 1,7 \pm 0,1 | n.d. | 1,5 \pm 0,1 | n.d. | 0,9 \pm 0,3 | n.d. |
| MgSO ₄ | 3,5 \pm 1,2 | 2,7 \pm 1,2 | 1,1 \pm 0,1 | 0,6 \pm 2,2 | 1,3 \pm 0,2 | n.d. | 1,5 \pm 0,1 | 3,9 \pm 0,4 |

n.d.: não detectado

DPR= Desvio padrão relativo

*: n=3

Ao observar-se as tabelas 17 e 18 pode-se concluir que a maioria dos aminoácidos apresentam como impurezas Al, Ba e Zn, já as outras matérias-primas, sais e outras substâncias apresentam, mesmo que em pequenas quantidades, impurezas de todos os metais em estudo.

Sendo assim, evidencia-se que a matéria-prima, mesmo apresentando um grau de pureza adequado não está isenta de contaminações.

4.2 – Contribuição das embalagens plásticas na contaminação por metais de soluções de uso parenteral

Neste trabalho investigou-se embalagens de PVC, PP, EVA e PET como uma das origens da contaminação das soluções parenterais. Apesar do PET não ser utilizado para soluções parenterais, ele foi incluído no estudo, pois assim todos os tipos de plásticos utilizados em medicamentos estariam sendo analisados para determinar o quanto dos metais selecionados eles apresentam.

Primeiramente as embalagens plásticas foram digeridas, a fim de determinar quais e a quantidade de metais presentes nas mesmas. As determinações dos metais foram feitas por GF AAS e por ICP-MS, e os resultados encontrados pelas duas técnicas foram comparados.

4.2.1 – Decomposição das embalagens plásticas e determinação dos metais

Existem métodos específicos para degradar em parte ou completamente os polímeros. Estes métodos, porém, requerem equipamentos de alto custo [HULL *et al.*, 2003; ITO *et al.*, 2006]. Sendo assim utilizou-se um método alternativo para a

abertura das embalagens, já empregado com êxito em trabalhos anteriores na determinação de alumínio em polietileno [BINOTTO, 2001].

Como não há materiais de referência para todos os polímeros do estudo, optou-se por determinar os metais por duas técnicas diferentes, AAS-GF e ICP-MS, e avaliar os resultados através de teste de recuperação.

O procedimento foi testado para todos os polímeros realizando-se teste de recuperação, para verificar a possibilidade de perdas ou contaminação das amostras. As amostras foram fortificadas de acordo com os níveis de contaminação encontrados nas amostras abertas sem a presença dos metais. Fortificou-se as amostras com 200 ppb de Al, Ba, Cd, Pb e Zn e com 100 ppb de Cr e Mn. Para a determinação do teor de metais as amostras foram diluídas devido à maior quantidade de alguns metais nas mesmas. A tabela 19 mostra os resultados encontrados para a recuperação.

Para a determinação dos metais por GF AAS, otimizou-se as temperaturas de pirólise e atomização para garantir resultados confiáveis. Para a determinação por ICP-MS primeiramente otimizou-se o equipamento utilizando apenas uma solução de ácido sulfúrico e nitrato de sódio (usados na decomposição das amostras), pois a resposta do equipamento é dada em função dos diferentes isótopos de cada elemento e o enxofre (oriundo do ácido sulfúrico) poderia ser um interferente para alguns dos metais.

Após a otimização selecionou-se os isótopos dos elementos com maior sensibilidade. As curvas de calibração para cada elemento apresentaram coeficientes de linearidade próximos a 1. Durante as determinações foram realizadas medidas de padrões de ICP certificados, conferindo maior confiança aos resultados obtidos.

Para evitar que houvesse uma saturação da tocha, as amostras foram diluídas de 1000 e 500 vezes. Os valores encontrados representam a média de três replicatas e os valores estão expressos em μg do metal/g de embalagem plástica. Os resultados estão mostrados nas tabelas 20 e 21.

Tabela 19 – Recuperação das espécies metálicas em diferentes embalagens após a decomposição por calcinação e dissolução em H₂SO₄, determinada por GF AAS

| Amostra | Recuperação | | | | | | | | | | | | | |
|--------------|-------------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| | Al | | Ba | | Cd | | Cr | | Mn | | Pb | | Zn | |
| | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR |
| PVC (Baxter) | 107,5 | 1,3 | 96,6 | 2,1 | 99,2 | 4,0 | 89,4 | 0,8 | 97,2 | 6,0 | 92,3 | 8,0 | 102,8 | 2,5 |
| PVC (CAPD) | 106,6 | 0,7 | 91,8 | 3,0 | 101,6 | 2,5 | 96,2 | 1,3 | 96,4 | 1,0 | 94,1 | 2,1 | 115,6 | 3,3 |
| PP | 102,3 | 3,2 | 98,0 | 0,6 | 105,8 | 3,3 | 105,7 | 0,5 | 99,1 | 3,1 | 89,6 | 5,6 | 103,7 | 1,0 |
| EVA | 98,7 | 5,0 | 92,5 | 1,0 | 118,4 | 4,6 | 116,3 | 1,9 | 102,3 | 1,2 | 95,3 | 5,0 | 116,9 | 0,8 |
| PET azul | 105,1 | 1,9 | 101,3 | 2,5 | 110,5 | 4,0 | 98,6 | 3,4 | 105,9 | 2,5 | 102,9 | 6,8 | 118,3 | 2,7 |
| PET âmbar | 112,8 | 3,4 | 97,6 | 6,0 | 98,3 | 2,0 | 97,2 | 8,0 | 112,3 | 2,7 | 107,4 | 4,3 | 98,5 | 0,9 |
| PET incolor | 114,2 | 2,6 | 95,2 | 2,3 | 96,5 | 2,1 | 102,5 | 2,9 | 102,1 | 0,8 | 99,5 | 2,6 | 106,1 | 1,1 |
| PET verde | 99,6 | 3,0 | 103,4 | 4,7 | 99,1 | 1,6 | 103,3 | 2,0 | 106,8 | 1,3 | 97,3 | 6,0 | 96,5 | 4,6 |

% DPR: desvio padrão relativo

Ao observar-se a tabela 19, percebe-se que as recuperações variaram, entre 89,4 % de cromo para a embalagem de PVC e 116,9 % de zinco para a embalagem de EVA. As menores recuperações encontradas foram para o bário variando entre 91,8 a 98,0 % de recuperação. Para os demais metais encontrou-se, em média, 100 % de recuperação. Os resultados indicam que o método proposto é satisfatório.

Apesar das embalagens de PET não serem utilizadas para o armazenamento das soluções parenterais, apresentaram bons valores de recuperação, variando de 95,2 % para o bário na embalagem de PET incolor a 118,3 % para o zinco na embalagem de PET azul.

Pode-se perceber que o método de decomposição proposto para todas as embalagens é adequado, possibilitando a utilização do mesmo na decomposição de todas as embalagens plásticas analisadas.

Tabela 20: Teores dos metais presentes nas embalagens plásticas em µg do metal/g de embalagem

| Elemento | PVC (Baxter) | PVC (Baxter) | PP | PP | PVC (CAPD) | PVC (CAPD) | EVA | EVA |
|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| | ± DPR* | ± DPR* | ± DPR* | ± DPR* | ± DPR* | ± DPR* | ± DPR* | ± DPR* |
| | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF |
| Alumínio | 164,2 ± 6,3 | 194,5 ± 7,9 | 493,1 ± 11,6 | 486,5 ± 14,3 | 245,0 ± 10,3 | 174,0 ± 8,9 | 168,4 ± 6,2 | 183,0 ± 5,3 |
| Antimônio | 7,6 ± 0,9 | -- | 3,3 ± 0,4 | -- | 6,0 ± 1,2 | -- | 14,7 ± 1,3 | -- |
| Bário | 184,5 ± 12,3 | 154,9 ± 3,3 | 49,6 ± 2,6 | 54,2 ± 3,4 | 49,0 ± 2,8 | 59,4 ± 6,8 | 37,7 ± 6,5 | 41,4 ± 5,9 |
| Cádmio | 31,2 ± 4,6 | 32,8 ± 4,9 | 32,3 ± 2,0 | 33,6 ± 6,8 | 30,7 ± 6,4 | 26,3 ± 4,6 | 28,7 ± 2,9 | 29,6 ± 2,5 |
| Chumbo | 143,7 ± 2,6 | 145,3 ± 6,2 | 169,7 ± 4,5 | 180,8 ± 7,2 | 139,2 ± 3,8 | 144,5 ± 5,6 | 66,3 ± 10,3 | 71,7 ± 6,7 |
| Cobalto | 0,2 ± 0,1 | -- | 0,4 ± 0,3 | -- | 0,3 ± 0,1 | -- | 8,3 ± 2,6 | -- |
| Cromo | 3,1 ± 0,5 | 4,0 ± 2,1 | 3,9 ± 0,6 | 4,8 ± 2,1 | 3,7 ± 0,9 | 5,1 ± 0,5 | 5,2 ± 0,7 | 5,5 ± 2,6 |
| Estanho | 2,0 ± 0,3 | -- | 6,6 ± 2,2 | -- | 1,3 ± 0,3 | -- | 1,2 ± 0,5 | -- |
| Ferro | 1,3 ± 0,3 | 1,7 ± 0,2 | 2,5 ± 1,1 | 2,8 ± 1,1 | 2,1 ± 0,7 | 2,4 ± 0,3 | 1,8 ± 0,3 | 2,1 ± 0,4 |
| Manganês | 4,1 ± 0,5 | 4,7 ± 0,9 | 4,4 ± 1,0 | 4,7 ± 1,3 | 4,1 ± 0,2 | 4,3 ± 0,6 | 4,3 ± 0,5 | 4,2 ± 0,9 |
| Titânio | 7,2 ± 1,3 | -- | 6,9 ± 0,9 | -- | 7,9 ± 3,3 | -- | 5,0 ± 0,1 | -- |
| Vanádio | 0,7 ± 0,7 | -- | 0,7 ± 0,5 | -- | 0,9 ± 0,1 | -- | 2,2 ± 0,2 | -- |
| Zinco | 30,1 ± 3,6 | 34,8 ± 2,6 | 21,1 ± 1,6 | 23,6 ± 0,5 | 52,9 ± 4,8 | 57,5 ± 1,8 | 31,8 ± 2,3 | 33,0 ± 3,1 |

PVC: polivinilcloro, **PP:** polipropileno, **EVA:** polietileno-acetato de vinila

--: não analisado

DPR= Desvio padrão relativo

*: n=3

Tabela 21: Teores dos metais presentes nas embalagens plásticas PET em µg do metal/g de embalagem

| Elemento | PET azul | PET azul | PET âmbar | PET âmbar | PET incolor | PET incolor | PET verde | PET verde |
|-----------|---------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF |
| Alumínio | 8903,2 ± 26,7 | 9361,5 ± 8,4 | 4563,4 ± 15,7 | 4612,5 ± 9,2 | 2408,4 ± 5,3 | 2369,4 ± 9,7 | 3228,1 ± 20,8 | 3316,8 ± 9,3 |
| Antimônio | 37,1 ± 13,5 | -- | 23,6 ± 3,5 | -- | 25,1 ± 2,8 | -- | 18,1 ± 3,1 | -- |
| Bário | 3,4 ± 0,6 | 4,0 ± 0,9 | 2,9 ± 0,9 | 3,2 ± 0,2 | 3,6 ± 0,6 | 3,4 ± 0,6 | 2,5 ± 0,2 | 3,2 ± 0,9 |
| Cádmio | 101,7 ± 11,5 | 98,7 ± 8,4 | 187,3 ± 12,6 | 189,4 ± 3,4 | 58,3 ± 2,1 | 60,7 ± 5,7 | 205,0 ± 2,8 | 214,3 ± 9,5 |
| Chumbo | 24,8 ± 4,5 | 23,2 ± 3,2 | 80,2 ± 4,1 | 79,6 ± 4,8 | 20,2 ± 3,6 | 19,8 ± 3,8 | 30,4 ± 4,6 | 28,6 ± 3,8 |
| Cobalto | 174,3 ± 11,6 | -- | 38,5 ± 2,7 | -- | 39,0 ± 4,5 | -- | 237,9 ± 11,3 | -- |
| Cromo | 4,6 ± 0,7 | 4,3 ± 0,5 | 96,3 ± 6,9 | 98,3 ± 9,4 | 154,0 ± 3,9 | 156,8 ± 10,5 | 138,8 ± 3,5 | 145,6 ± 5,6 |
| Estanho | 496,5 ± 25,4 | -- | 672,7 ± 12,8 | -- | 413,7 ± 13,5 | -- | 685,0 ± 16,9 | -- |
| Ferro | 369,2 ± 10,7 | 384,6 ± 7,8 | 65,1 ± 3,1 | 69,8 ± 3,8 | 99,6 ± 3,2 | 102,4 ± 6,2 | 114,3 ± 2,4 | 120,5 ± 5,8 |
| Manganês | 163,5 ± 8,3 | 170,7 ± 5,4 | 10,4 ± 0,5 | 11,5 ± 2,1 | 38,8 ± 4,7 | 40,6 ± 3,1 | 45,8 ± 4,7 | 42,9 ± 2,9 |
| Titânio | 270,7 ± 3,6 | -- | 383,2 ± 11,5 | -- | 570,0 ± 13,6 | -- | 445,4 ± 10,3 | -- |
| Vanádio | 165,4 ± 5,8 | -- | 267,2 ± 8,3 | -- | 69,2 ± 3,4 | -- | 164,6 ± 2,9 | -- |
| Zinco | 369,1 ± 10,2 | 374,5 ± 10,8 | 280,5 ± 4,6 | 283,1 ± 5,9 | 259,9 ± 11,2 | 248,7 ± 9,6 | 166,2 ± 3,7 | 169,3 ± 8,2 |

PET: polietileno-tereftalato

--: não analisado

DPR= Desvio padrão relativo

*: n=3

Ao observar-se as tabelas 20 e 21 percebe-se que as embalagens apresentam uma grande quantidade de alumínio, bário, cádmio, chumbo e zinco. Encontrou-se, também, quantidades menores de metais como cromo, manganês, titânio e vanádio.

Os elementos antimônio, cobalto, estanho, titânio e vanádio foram determinados apenas por ICP-MS.

A figura 1 mostra a comparação entre os resultados obtidos pelas medidas do GF AAS e ICP-MS.

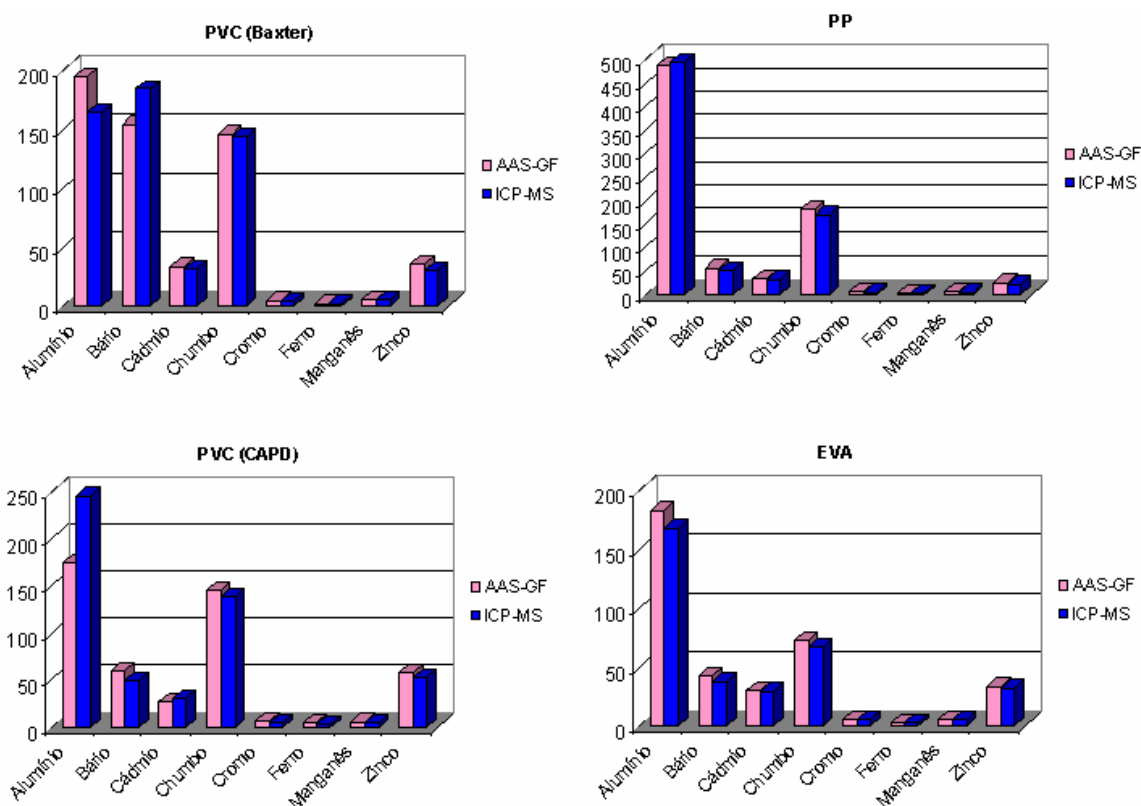


Figura 1 – Correlação entre as medidas realizadas para a determinação de metais por GF AAS e ICP-MS.

Ao comparar as medidas por ICP-MS e por GF AAS mostradas na figura 1, pode-se observar que os resultados encontrados são semelhantes. Por exemplo, encontrou-se 493,1 $\mu\text{g/g}$ de Al por ICP-MS e 486,5 $\mu\text{g/g}$ de Al por AAS para a embalagem de PP, encontrou-se 32,3 $\mu\text{g/g}$ de Al por ICP-MS e 33,6 $\mu\text{g/g}$ de Cd para a embalagem de PP. Os resultados para os demais metais e embalagens são muito próximos.

4.2.2 – Influência do processo de esterilização na extração de metais das embalagens plásticas

No processo de esterilização das formulações por vapor úmido pode haver uma aceleração da extração em função do aquecimento. Como a água é o veículo e o principal constituinte das formulações em estudo, a primeira etapa desta parte do trabalho foi analisar a quantidade dos metais em estudo extraídos apenas pelo contato das embalagens com água pura. Na segunda etapa desta parte do trabalho, soluções foram armazenadas nas embalagens e submetidas ao mesmo processo de esterilização.

Como as soluções armazenadas variam de polímero para polímero, optou-se apresentar os resultados em função do polímero.

4.2.2.1 – Embalagem de polivinil cloreto (PVC)

Realizou-se esse ensaio para mostrar a contribuição do processo de esterilização na contaminação das soluções pelos metais alumínio, bário, cádmio, cromo, chumbo, manganês e zinco selecionados conforme comentado no item 3.2.1.

As embalagens de PVC são utilizadas basicamente para a armazenagem de soluções de aminoácidos e emulsões lipídicas. Desta forma, além do ensaio com água ultra pura, soluções individuais de cada aminoácido utilizado em NP, nas concentrações mais usuais, foram também armazenadas em bolsas de PVC e submetidas ao processo de esterilização. Os constituintes das emulsões lipídicas, quando armazenados puros nas bolsas de PVC, atacaram o plástico, durante a esterilização, dissolvendo-o, desta forma não foi possível verificar a interação dos ácidos caprílico e capróico, bem como da lecitina com as embalagens de PVC.

A figura 2 mostra os metais extraídos de amostras de água armazenadas em embalagens de PVC, antes e após o processo de esterilização. Os resultados foram obtidos a partir da medida da triplicata das amostras (n=3).

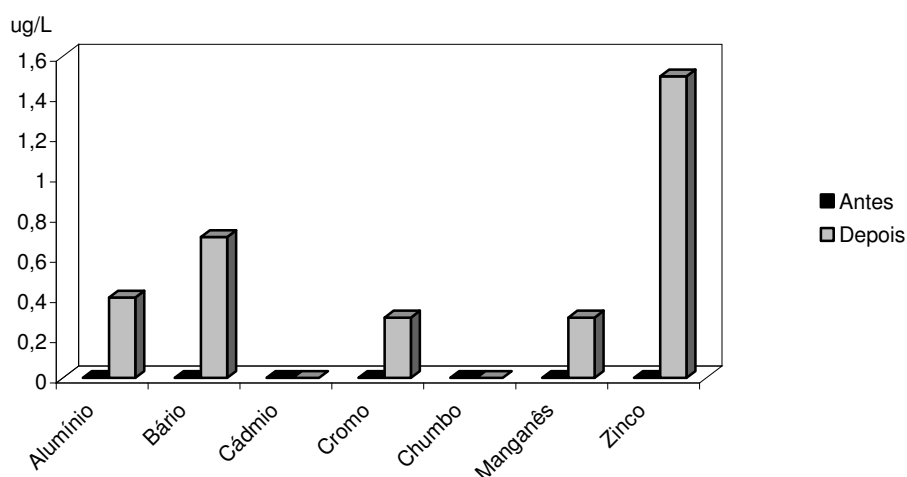


Figura 2 – Concentração dos metais na água antes e depois do processo de esterilização da embalagem de PVC.

Com a figura 2 pode-se observar que houve um aumento para todos os metais após o processo de esterilização das amostras de água, destacando-se o zinco, o bário e o alumínio, mostrando que o processo de esterilização contribui, mesmo que pouco, para a lixiviação dos metais das embalagens plásticas de PVC.

Nas figuras 3, 4, 5, 6, 7, e 8 estão os resultados da extração de cada um dos metais do estudo pelos aminoácidos.

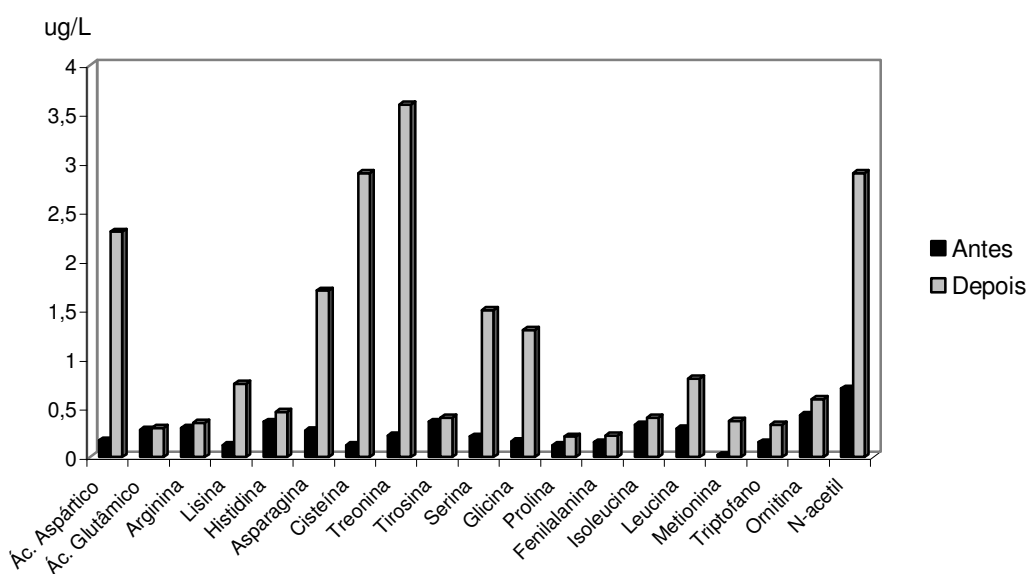


Figura 3 – Concentração de Al nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização.

De acordo com a figura 3 é possível ver que a contaminação das soluções de aminoácidos aumentou após o processo de esterilização, ou seja, o aumento da temperatura promoveu a extração do alumínio do plástico, sendo que os aminoácidos que mais extraíram alumínio foram treonina, cisteína, n-acetil tirosina e ácido aspártico, seguidos pela asparagina, serina e glicina.

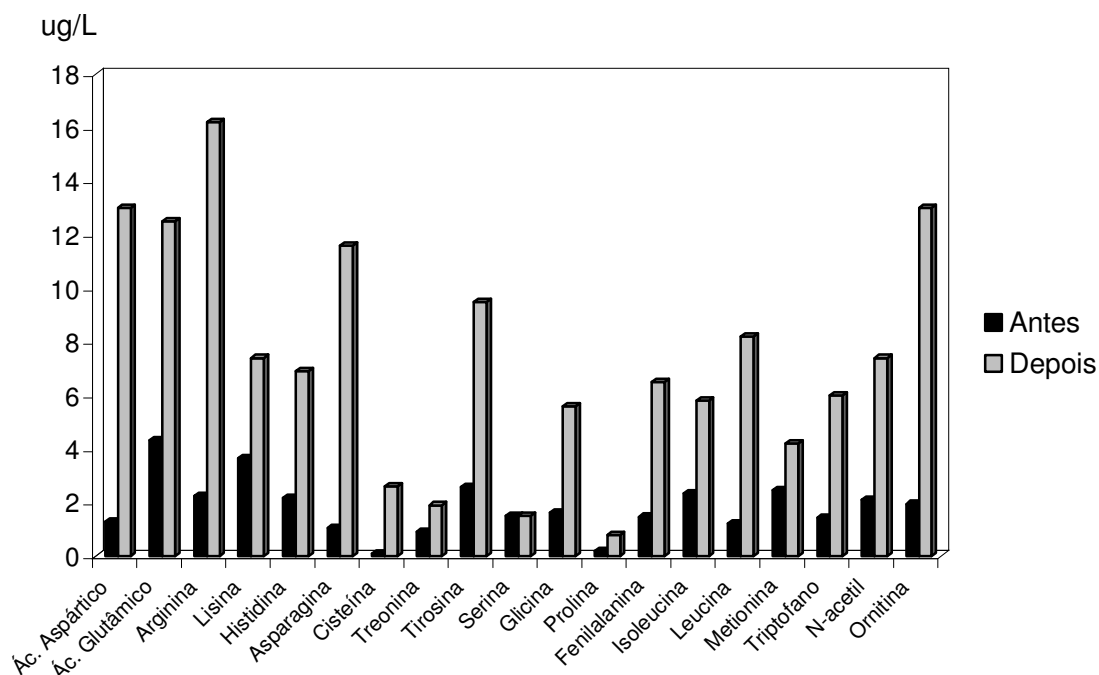


Figura 4 – Concentração de Ba nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização.

Observa-se, na figura 4, que todos os aminoácidos contribuíram para a lixiviação do bário das embalagens de PVC para a solução. Dentre os aminoácidos destacaram-se o ácido aspártico e glutâmico, arginina, asparagina, e ornitina. A prolina foi o aminoácido que menos extraiu bário (0,2 $\mu\text{g/L}$) e a arginina foi o aminoácido que mais extraiu (16,2 $\mu\text{g/L}$).

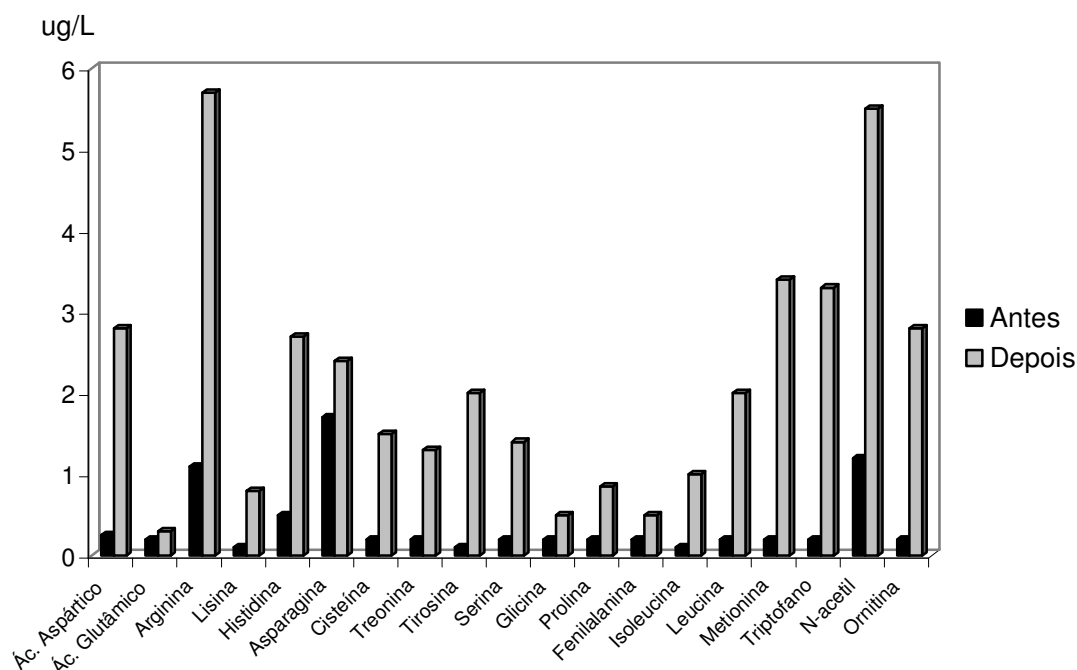


Figura 5 – Concentração de Cd nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização.

Ao observar-se a figura 5 percebe-se que a arginina e a N-acetil tirosina contribuiu mais significativamente para a extração de cádmio da embalagem de PVC. Os demais aminoácidos apresentam uma extração menor, de 1 $\mu\text{g/L}$ a 3,5 $\mu\text{g/L}$ de cádmio.

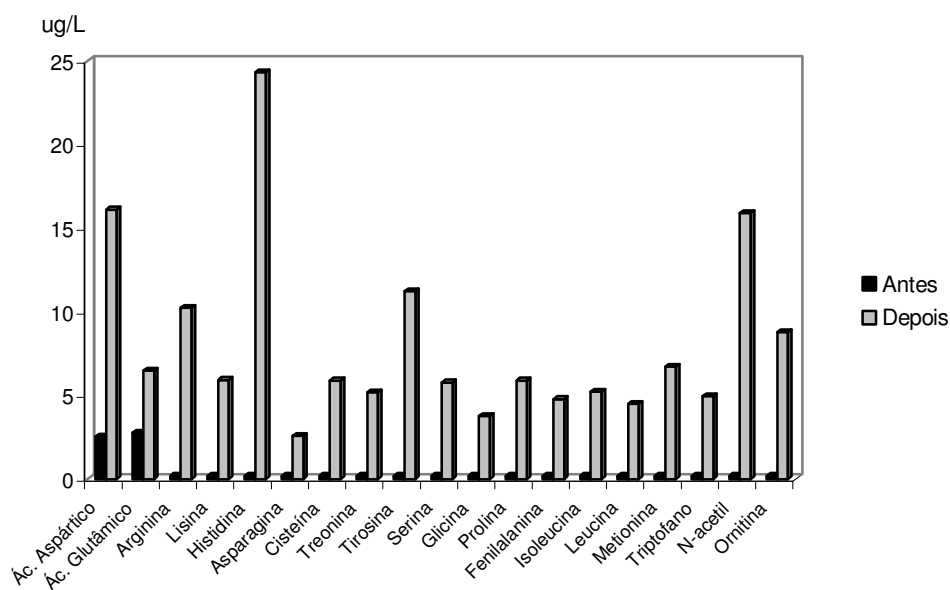


Figura 6 – Concentração de Pb nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização.

Na figura 6 pode-se observar que o ácido aspártico, histidina e N-acetil tirosina extraíram as maiores quantidades de chumbo das embalagens de PVC. Após o processo de esterilização todas as soluções aumentaram a contaminação por chumbo, variando de 2,58 $\mu\text{g/L}$ para a asparagina a 24,32 $\mu\text{g/L}$ para a histidina.

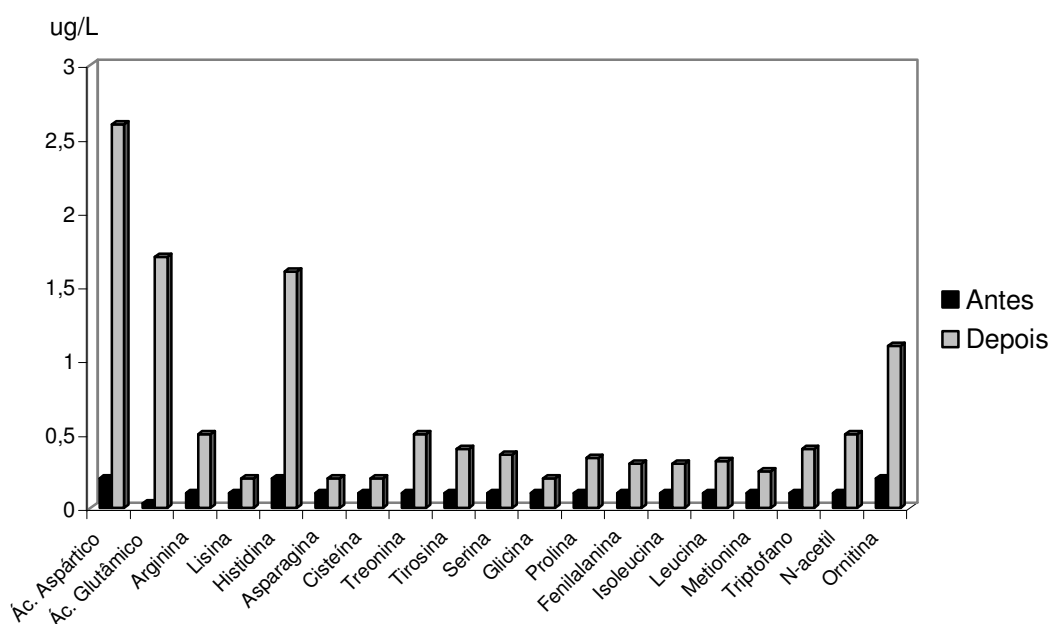


Figura 7 – Concentração de Cr nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização.

Com a figura 7 pode-se perceber que o ácido aspártico, glutâmico, histidina e ornitina apresentam as maiores extrações de cromo das embalagens de PVC após o processo de esterilização. A extração de cromo foi baixa para a maioria dos aminoácidos.

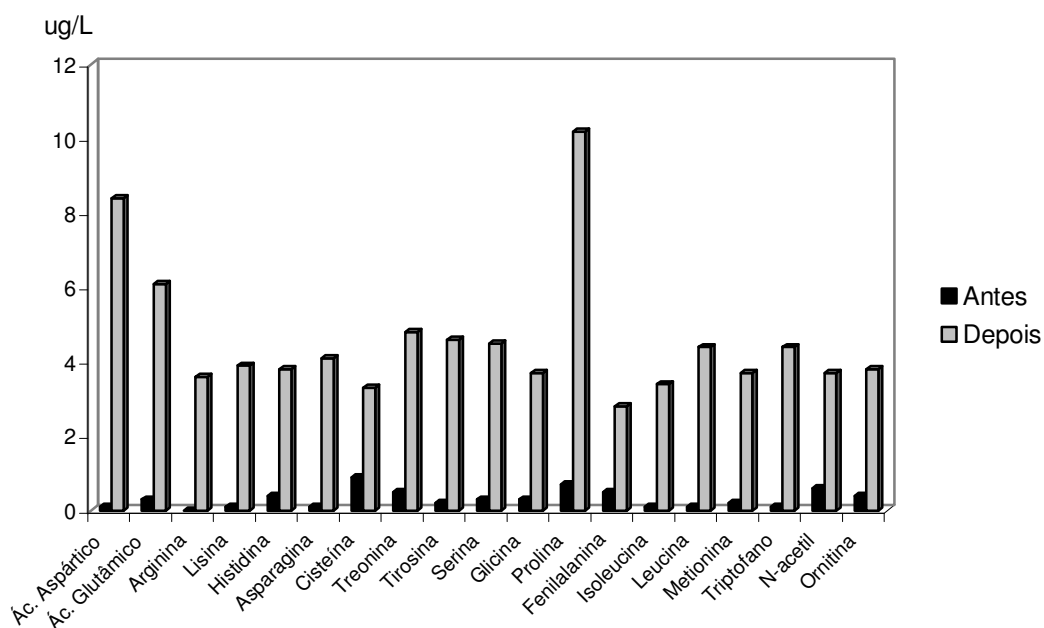


Figura 8 – Concentração de Zn nas soluções de aminoácidos armazenadas em embalagens plásticas de PVC, antes e depois da esterilização.

Ao observar-se a figura 8, percebe-se que os aminoácidos tiveram um comportamento semelhante em relação ao zinco. Após o processo de esterilização todas as soluções apresentaram zinco, destacando-se na extração do zinco das embalagens de PVC o ácido aspártico, glutâmico e prolina. Os demais variaram entre 2,8 $\mu\text{g/L}$ a 4,8 $\mu\text{g/L}$.

Determinou-se o teor de manganês extraído durante o processo de esterilização. Apesar de o manganês estar presente como contaminante nestas embalagens, a esterilização não influenciou na extração do metal.

4.2.2.2 – Embalagem de polipropileno (PP)

Realizou-se esse ensaio para mostrar a contribuição do processo de esterilização na contaminação das soluções pelos metais, tais como alumínio, bário, cádmio, cromo, chumbo e zinco selecionados conforme citado no item 3.2.1.

A concentração dos metais foi determinada antes e após a etapa de esterilização das soluções salinas (NaCl , KCl , NaHCO_3 , MgSO_4) armazenadas em embalagens de PP. Outras substâncias como glicose, manitol e sorbitol, que são também armazenadas em embalagens de PP, foram analisadas.

Como as soluções são preparadas em meio aquoso, realizou-se a esterilização apenas de água pura para a investigação do comportamento das soluções envasadas em embalagens de polipropileno (PP).

A figura 9 mostra os metais extraídos de amostras de água armazenadas em embalagens de PP, antes e após o processo de esterilização. Esta figura mostra a quantidade de metais extraídos das embalagens de PP em contato apenas com água ultrapura. Os resultados foram obtidos a partir da medida da triplicata das amostras ($n=3$).

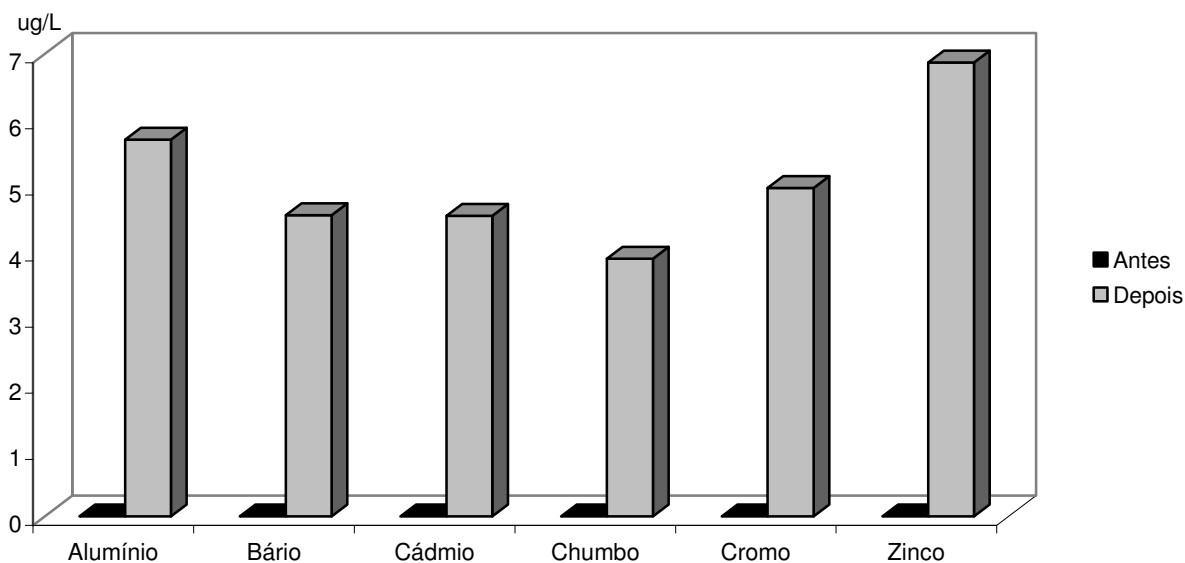


Figura 9 – Concentração dos metais na água antes e depois do processo de esterilização da embalagem de PP.

Dentre os metais que foram extraídos em maiores quantidades, destaca-se o alumínio, cromo e zinco. Os outros metais também foram extraídos do PP pela ação apenas da água.

Nas figuras 10, 11, 12, 13, 14 e 15 estão os resultados da extração de cada um dos metais do estudo pelas soluções salinas.

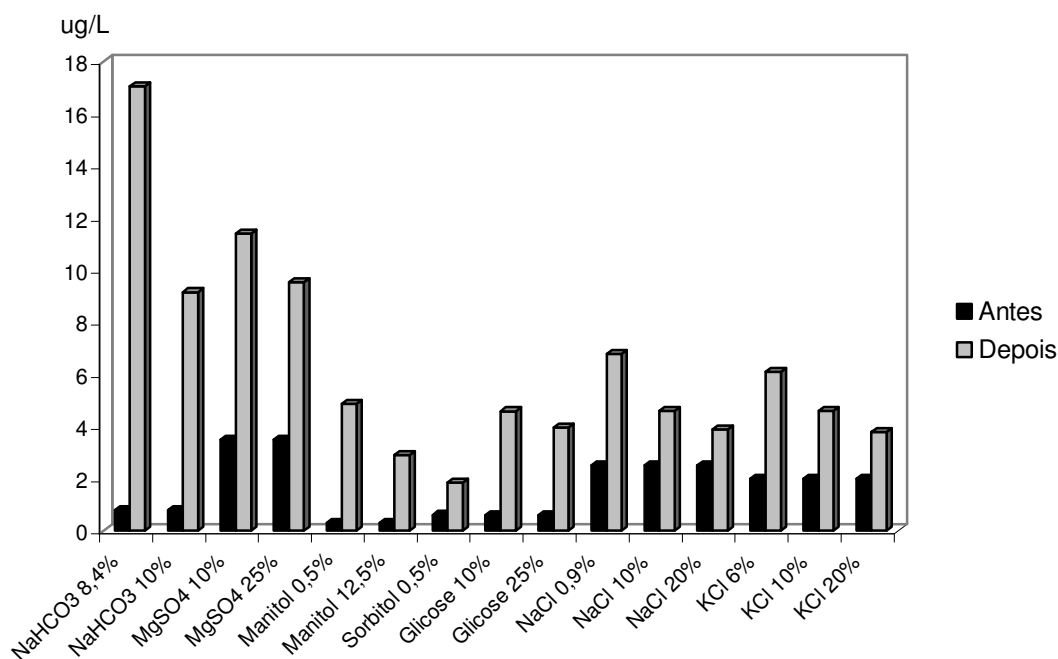


Figura 10 – Concentração de Al nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP, antes e depois da esterilização.

De acordo com a figura 10 é possível verificar que a contaminação das soluções aumentou após o processo de esterilização, ou seja, o aumento da temperatura promoveu a extração do alumínio do plástico. As soluções que mais extraíram alumínio foram: o bicarbonato de sódio e sulfato de magnésio. Observa-se, também, que todas as soluções extraíram alumínio das embalagens, sendo que as soluções que apresentaram as concentrações menores extraíram mais o alumínio.

As soluções de sorbitol, manitol e glicose apresentaram as menores extrações de Al.

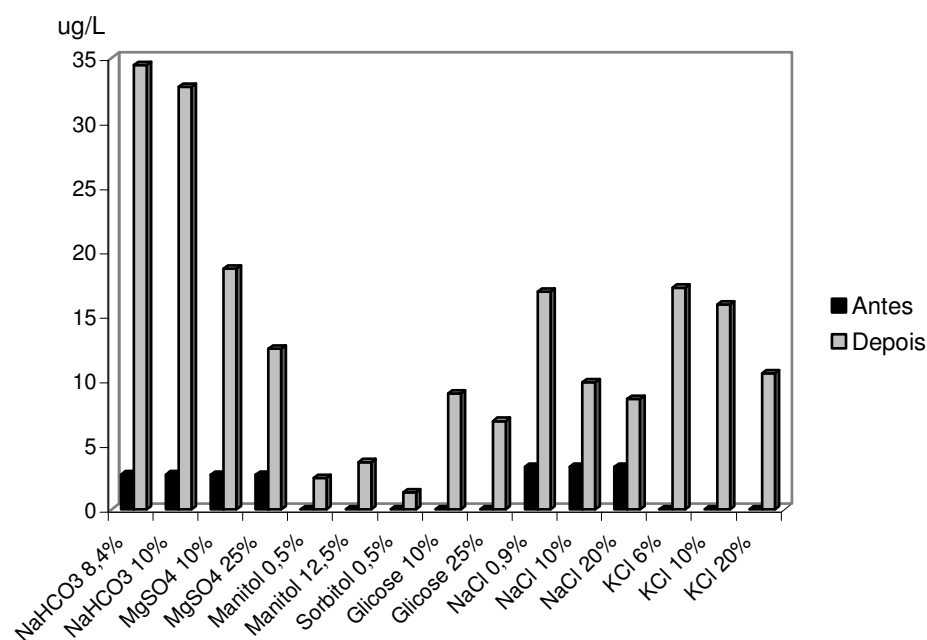


Figura 11 – Concentração de Ba nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP, antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 11 que todas as soluções contribuíram para a extração do bário das embalagens plásticas para a solução, destacando-se as soluções de bicarbonato de sódio.

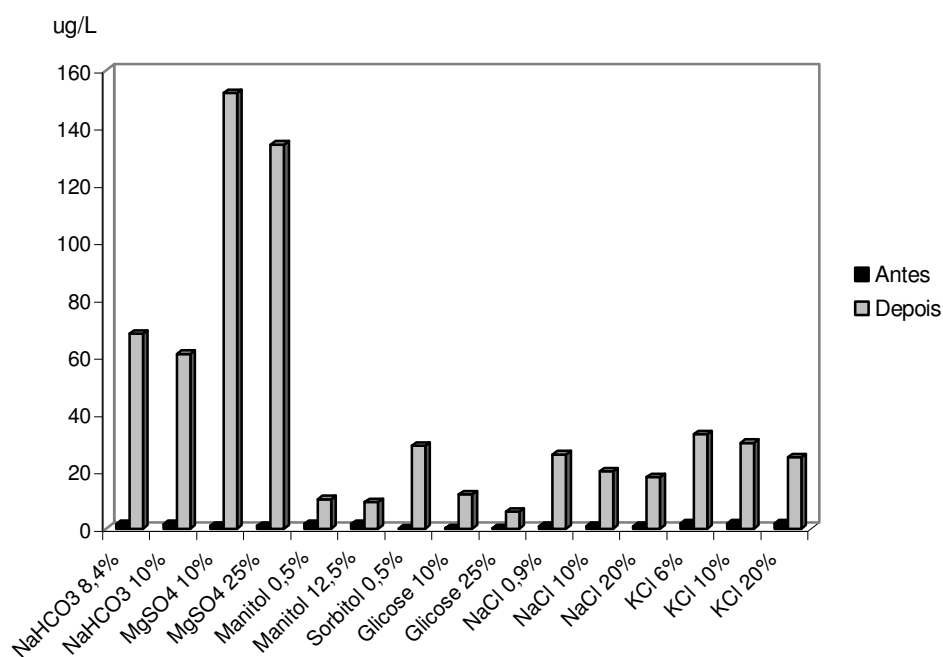


Figura 12 – Concentração de Cd nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP, antes e depois da esterilização.

Na figura 12 pode-se observar que as soluções de sulfato de magnésio e bicarbonato de sódio apresentaram as maiores extrações de cádmio das embalagens de PP. As soluções de diferentes concentrações mostraram um comportamento semelhante de extração, ou seja, quanto menos concentrada a solução maior a extração do metal.

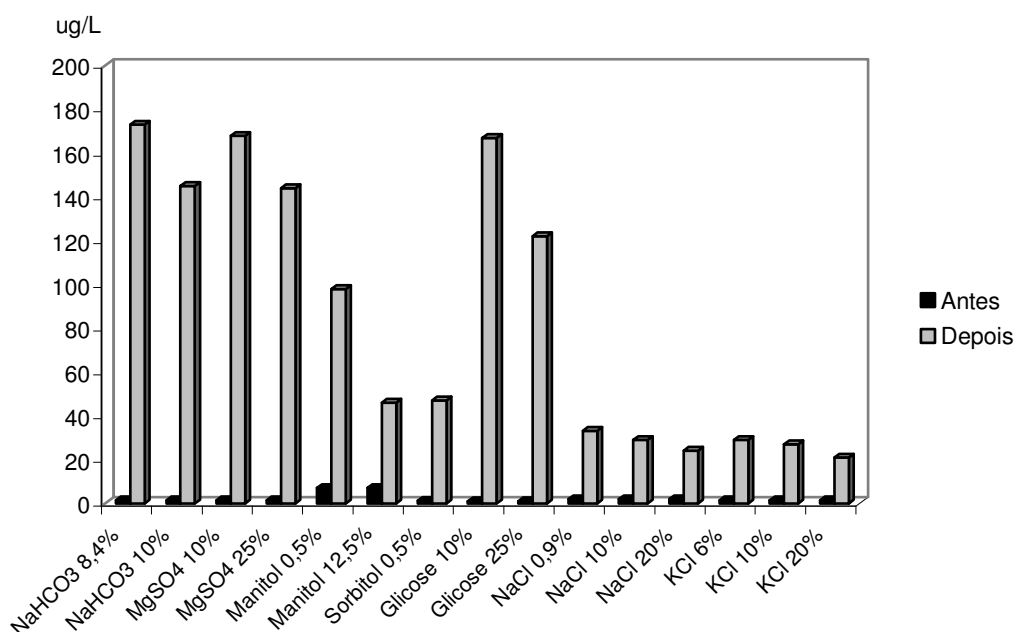


Figura 13 – Concentração de Pb nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP, antes e depois da esterilização.

Com a figura 13 pode-se perceber que as soluções de bicarbonato de sódio, sulfato de magnésio e glicose apresentaram as maiores extrações de chumbo das embalagens de PP após o processo de esterilização. Entretanto, as outras soluções também promoveram a extração de chumbo das embalagens de PP.

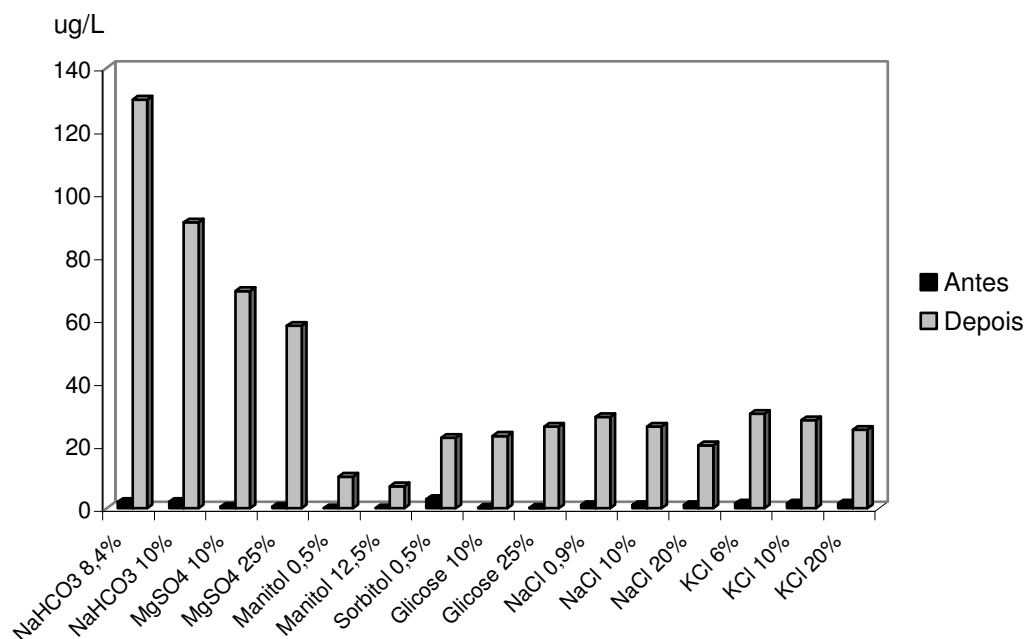


Figura 14 – Concentração de Cr nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP, antes e depois da esterilização.

Ao observar-se a figura 14 pode-se perceber que as soluções que mais extraíram cromo das embalagens foram: bicarbonato de sódio e sulfato de magnésio. As demais soluções apresentaram um comportamento semelhante na extração do cromo, em torno de 20 $\mu\text{g/L}$.

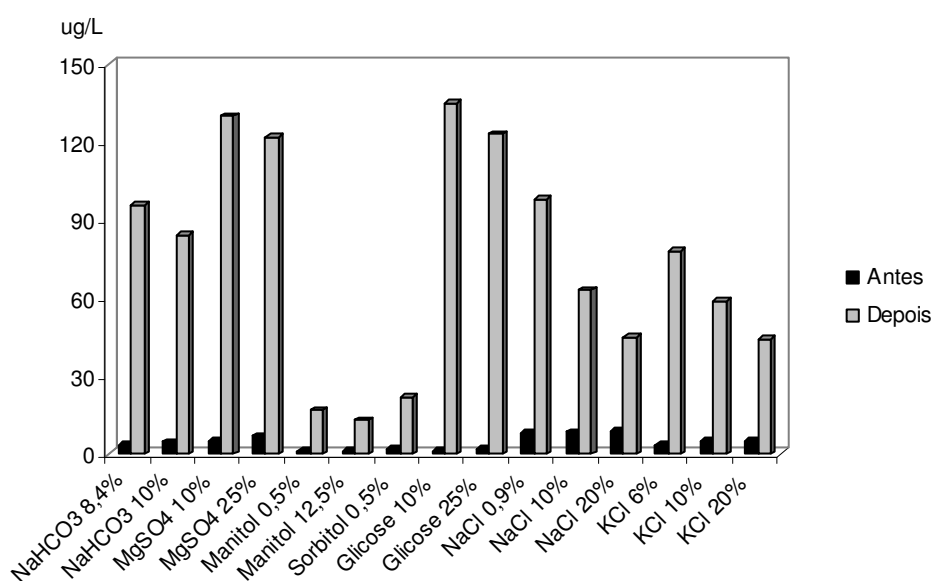


Figura 15 – Concentração de Zn nas soluções salinas e outras substâncias armazenadas em embalagens plásticas de PP, antes e depois da esterilização.

De acordo com a figura 15 pode-se perceber que as soluções de glicose e sulfato de magnésio extraíram a maior quantidade de zinco das embalagens de PP. As demais soluções extraíram zinco das embalagens variando de 22 µg/L para o sorbitol a 98 µg/L para o cloreto de sódio.

4.2.2.3 – Embalagem de etil vinil acetato (EVA)

Realizou-se esse ensaio para verificar a contribuição do processo de esterilização na extração dos metais alumínio, bário, cádmio, cromo, chumbo e zinco de embalagens de EVA.

A concentração dos metais foi determinada antes e após a etapa de esterilização das soluções contendo aminoácidos, glicose, NaCl e KCl, pois são estas as soluções geralmente armazenadas em embalagens de EVA.

Como as soluções foram preparadas em meio aquoso, realizou-se a esterilização primeiramente com água ultrapura para investigar a contribuição do solvente na extração dos metais e, posteriormente, investigou-se o comportamento das soluções envasadas em embalagens de etil vinil acetato (EVA).

A figura 16 mostra os metais extraídos do plástico nas amostras de água armazenadas em embalagens de EVA, antes e após o processo de esterilização.

Os resultados foram obtidos a partir da medida da triplicata das amostras (n=3).

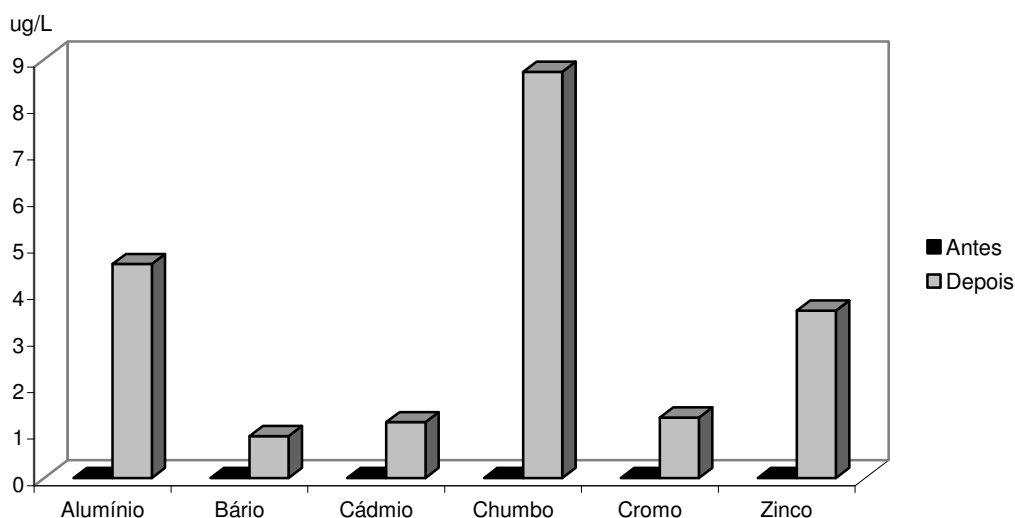


Figura 16 – Concentração dos metais na água antes e depois do processo de esterilização da embalagem EVA.

Dentre os metais destaca-se o chumbo, alumínio e zinco. Os outros metais também foram extraídos do EVA, porém em menores quantidades.

Como os resultados encontrados anteriormente para o manganês com as embalagens de PVC mostraram que não houve extração deste metal, optou-se por excluir a determinação de manganês nas embalagens de EVA, devido à semelhança entre os dois materiais.

Nas figuras 17, 18, 19, 20, 21 e 22 estão os resultados da extração de cada um dos metais do estudo pelas soluções.

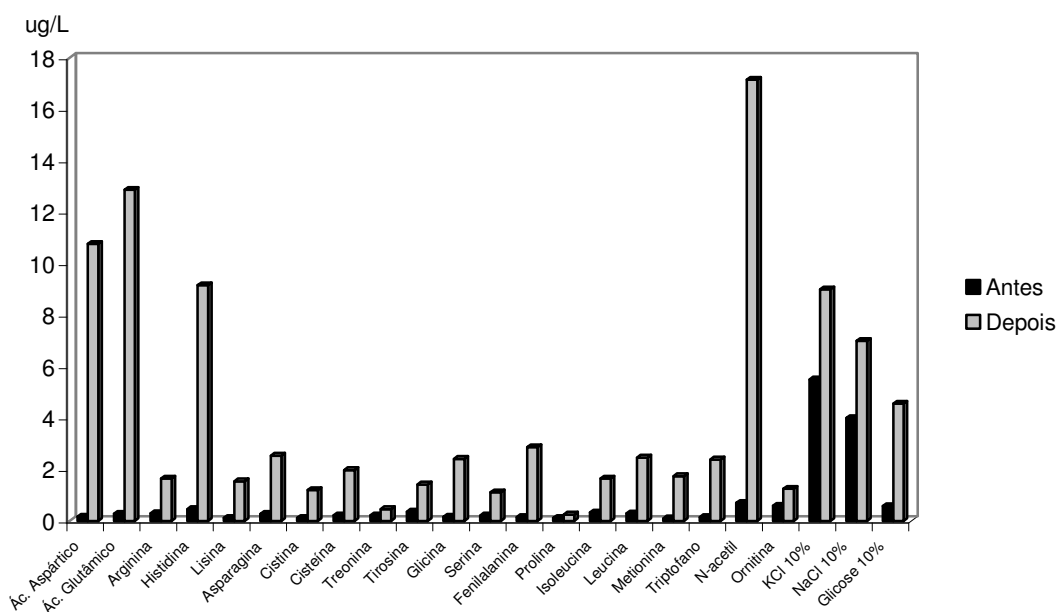


Figura 17 – Concentração de Al em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização.

Ao observar-se a figura 17, percebe-se que os aminoácidos N-acetil tirosina, ácido glutâmico, ácido aspártico e histidina extraíram a maior quantidade de alumínio das embalagens. As demais soluções também extraíram alumínio das embalagens. A prolina extraiu a menor quantidade 0,5 $\mu\text{g/L}$. Os demais aminoácidos apresentaram comportamento semelhante, extraíndo em torno de 2 $\mu\text{g/L}$.

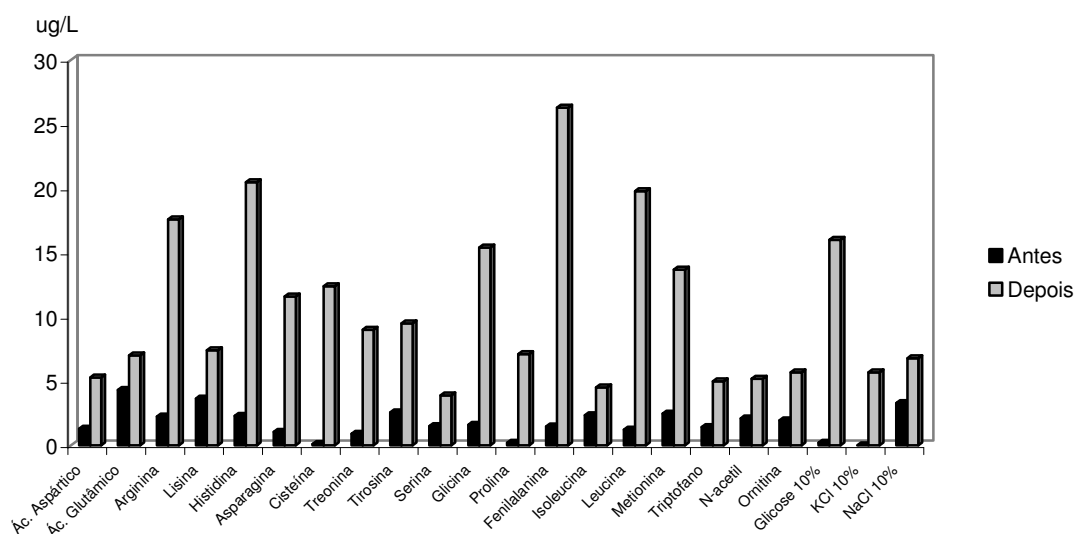


Figura 18 – Concentração de Ba em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização.

Pode-se observar na figura 18 que das soluções armazenadas nas bolsas de EVA, as que mais extraíram bário foram as dos aminoácidos fenilalanina, histidina, leucina e arginina seguidos pela glicina, metionina e cisteína. As demais soluções também extraíram bário, mas em concentrações menores.

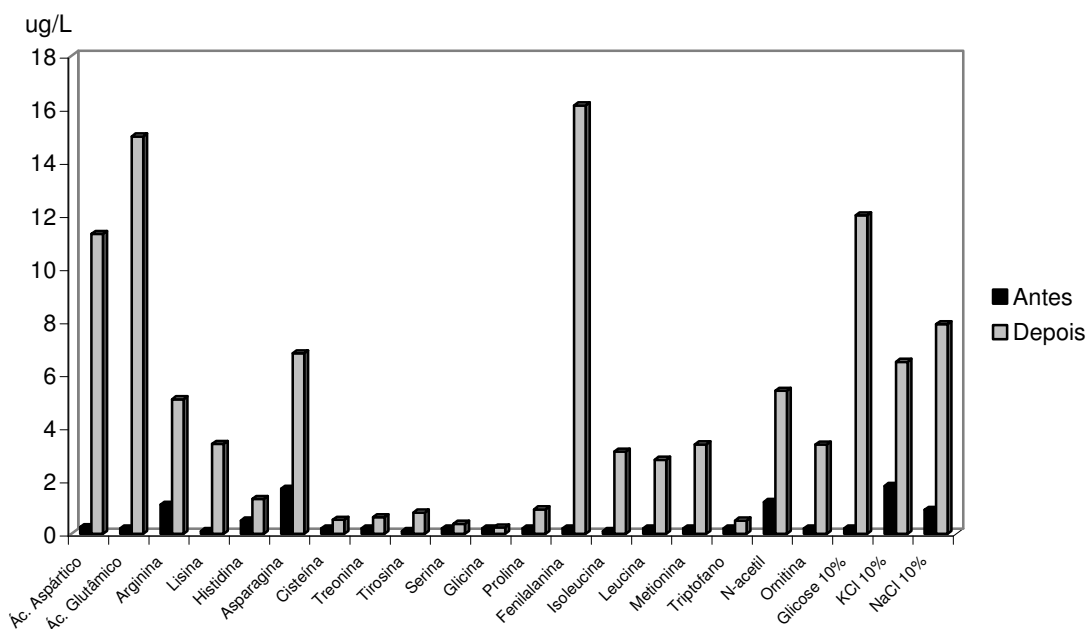


Figura 19 – Concentração de Cd em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização.

A figura 19 mostra que as soluções de fenilalanina, ácido glutâmico e aspártico e glicose apresentaram as maiores extrações de cádmio após o processo de esterilização. As demais soluções extraíram quantidades menores de cádmio das embalagens de EVA.

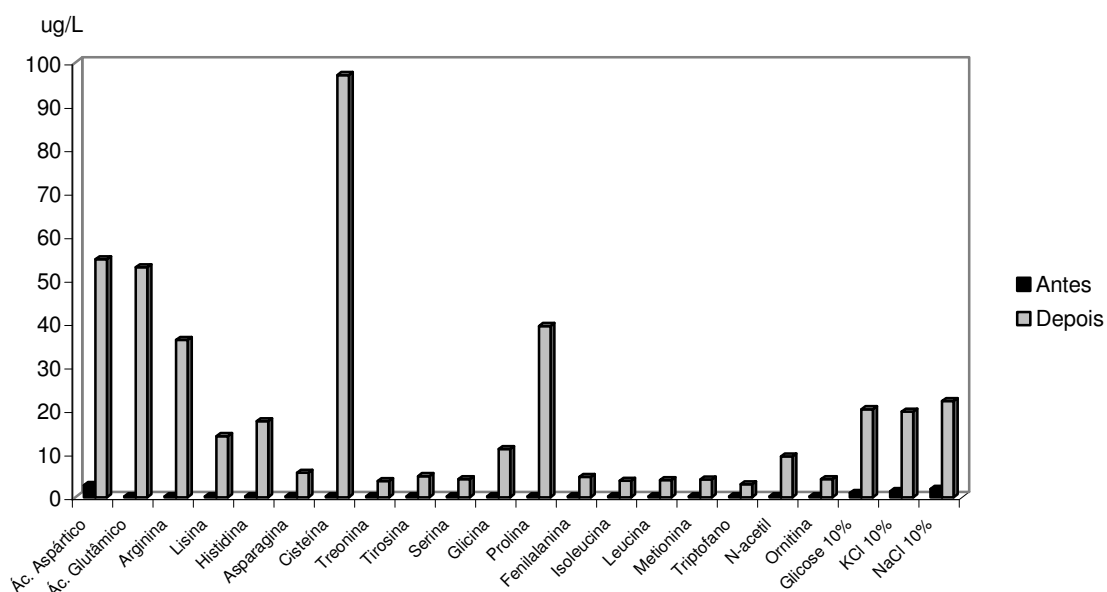


Figura 20 – Concentração de Pb em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 20 que os aminoácidos cisteína, ácido aspártico e glutâmico extraíram a maior quantidade de chumbo das embalagens de EVA. Os aminoácidos arginina e prolina extraíram em torno de 40 $\mu\text{g/L}$. As demais soluções também extraíram chumbo das embalagens de EVA, mas em concentrações menores, aproximadamente 10 $\mu\text{g/L}$.

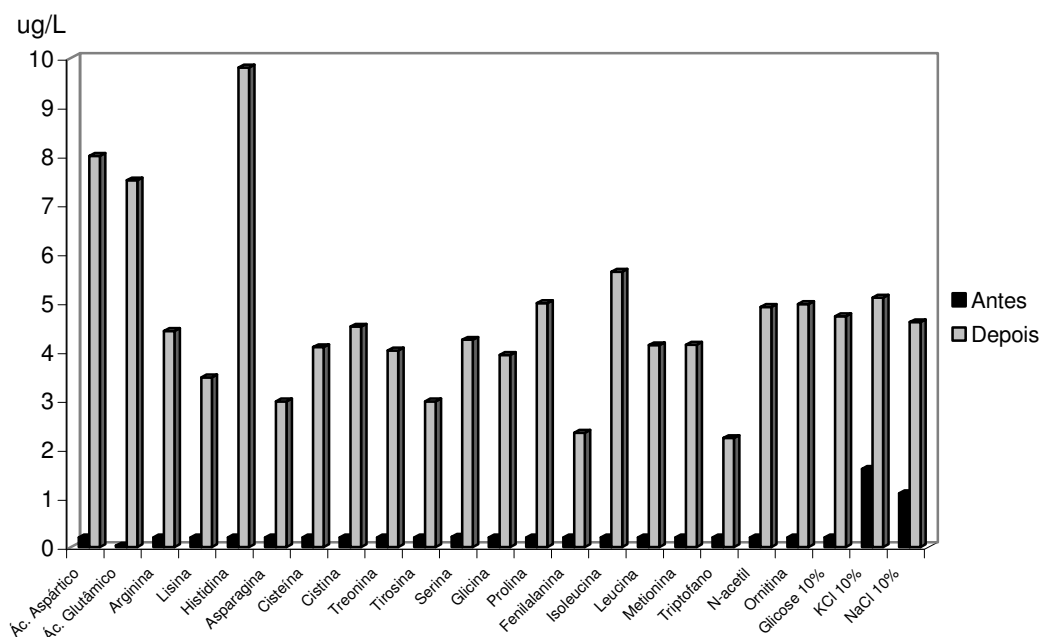


Figura 21 – Concentração de Cr em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização.

A figura 21 mostra que a extração de cromo das embalagens de EVA apresenta um comportamento semelhante, destacando-se com extrações maiores as soluções de histidina, ácido glutâmico e aspártico seguido da isoleucina e prolina. As demais soluções apresentaram uma extração entre 2 e 5 $\mu\text{g/L}$.

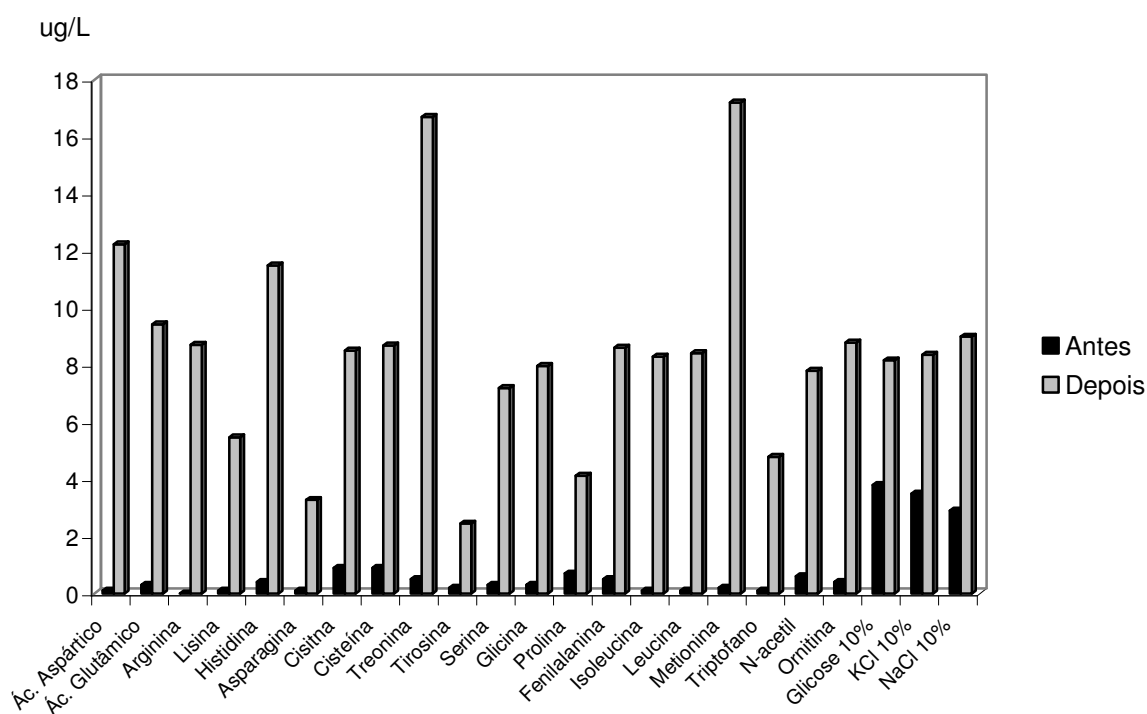


Figura 22 – Concentração de Zn em aminoácidos, glicose, NaCl e KCl armazenadas em embalagens plásticas de EVA, antes e depois da esterilização.

Observa-se, na figura 22, que as soluções que extraíram as maiores quantidades de metais foram a metionina e a treonina seguidos do ácido aspártico e da histidina. As demais soluções apresentaram um comportamento semelhante na extração durante o processo de esterilização, extraíndo cerca de 8 $\mu\text{g/L}$.

4.3 – Conclusões: Embalagens plásticas X Esterilização

A esterilização de embalagens de PVC, PP e EVA promoveu a lixiviação dos metais para as soluções. Como são diferentes tipos de plástico em contato com diferentes soluções, aminoácidos, sais, glicose, e outras substâncias, uma

comparação entre eles não é adequada. Pode-se afirmar, entretanto, que a esterilização dos produtos não contribuiu de forma significativa para um aumento da concentração dos metais nas soluções.

As soluções armazenadas em PP apresentaram as extrações mais elevadas, variando entre um valor médio de 5 µg/L para o Al a 40 µg/L para o Pb.

Uma tendência observada em todos os polímeros, entretanto, é de que apesar dos baixos valores, Pb, Ba e Zn foram os metais extraídos em maiores concentrações.

4.4 – Estudo para verificar o efeito do tempo de armazenagem

A validade das soluções parenterais é, geralmente, de 2 anos. Durante este tempo, os produtos ficam armazenados, em temperatura ambiente e sob abrigo da luz. Nestas condições, entretanto, o contato da solução com a embalagem permanece, e se o processo de extração existe, ele pode continuar ocorrendo durante o tempo de prateleira do produto. Para verificar a possibilidade da extração dos metais durante o armazenamento das soluções, envasou-se as soluções em estudo nas suas respectivas embalagens, e estas foram armazenadas em temperatura ambiente e na ausência de luz. Alíquotas das soluções foram retiradas periodicamente das embalagens, durante o período de 225 dias, e os metais foram determinados nestas alíquotas.

Neste estudo soluções de aminoácidos, sais e outras substâncias empregadas no preparo das soluções de NP foram armazenadas em bolsas de PVC e EVA, frascos de PP.

Foi realizado o ensaio armazenando água pura nas bolsas (PVC e EVA) e nos frascos (PP), em triplicata. Os resultados obtidos durante todo o ensaio não foram significativos, apresentando pouca interação com as embalagens plásticas.

4.4.1 – Embalagens de PVC

As embalagens de PVC são amplamente utilizadas para armazenar as soluções de NP, principalmente soluções contendo aminoácidos. Assim, armazenou-se individualmente soluções dos 19 aminoácidos e determinou-se o teor dos metais em estudo. Das soluções, retirou-se alíquotas durante um período de 225 dias.

As soluções dos aminoácidos foram preparadas nas concentrações em que são comumente comercializados, conforme listado no Apêndice 1. No Apêndice 2 encontram-se os resultados que mostram a relação entre a quantidade de metais presentes nas soluções armazenadas em $\mu\text{g/g}$ de aminoácido em função da concentração dos mesmos. Nas figuras 23, 24, 25, 26, 27, 28 e 29 estão os resultados da extração do alumínio, bário, cádmio, chumbo, cromo, manganês e zinco pelas soluções de aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

A figura 23 mostra o aumento da concentração de alumínio nas bolsas de PVC por ação dos diferentes aminoácidos. Para melhor visualização, utilizou-se as siglas para a identificação dos aminoácidos.

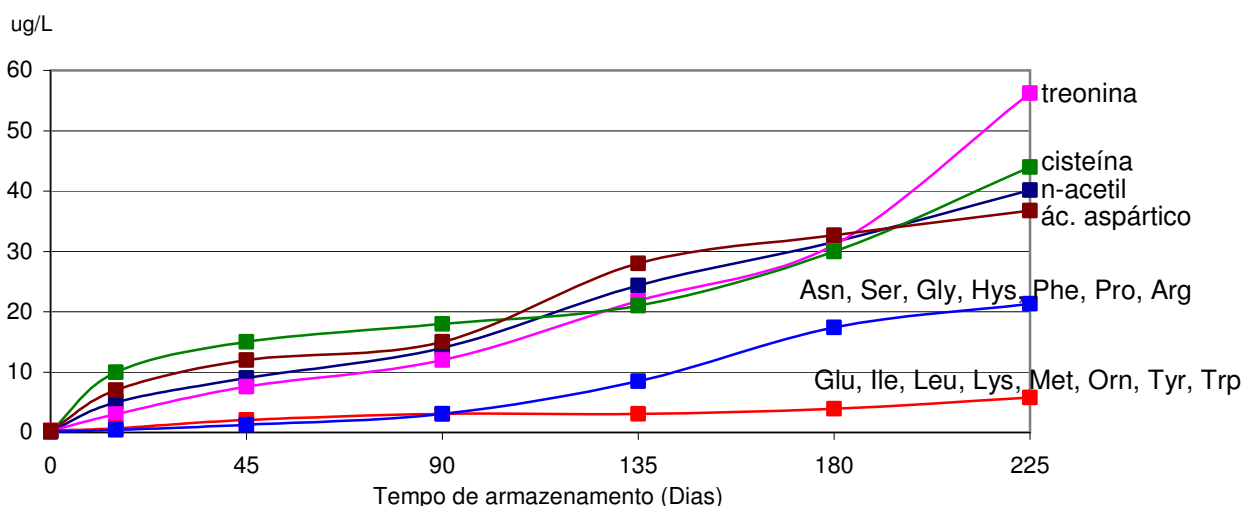


Figura 23 – Al extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo.

Este resultado é semelhante ao da extração durante o processo de esterilização, ou seja, os mesmos aminoácidos que extraíram uma maior quantidade

de Al na esterilização também extraíram ao longo do tempo. Os aminoácidos que extraíram a maior quantidade do metal foram treonina, cisteína, n-acetil tirosina, e ácido aspártico seguidos da asparagina, serina e glicina. Os demais aminoácidos apresentaram extrações menores, mas todos extraíram alumínio das embalagens. Este comportamento não é observado quando se relaciona os resultados obtidos com a concentração dos aminoácidos. Os aminoácidos que extraíram as maiores quantidades de Al foram cisteína, N-acetil e treonina. O comportamento dos demais aminoácidos em relação à concentração encontra-se no Apêndice 2.

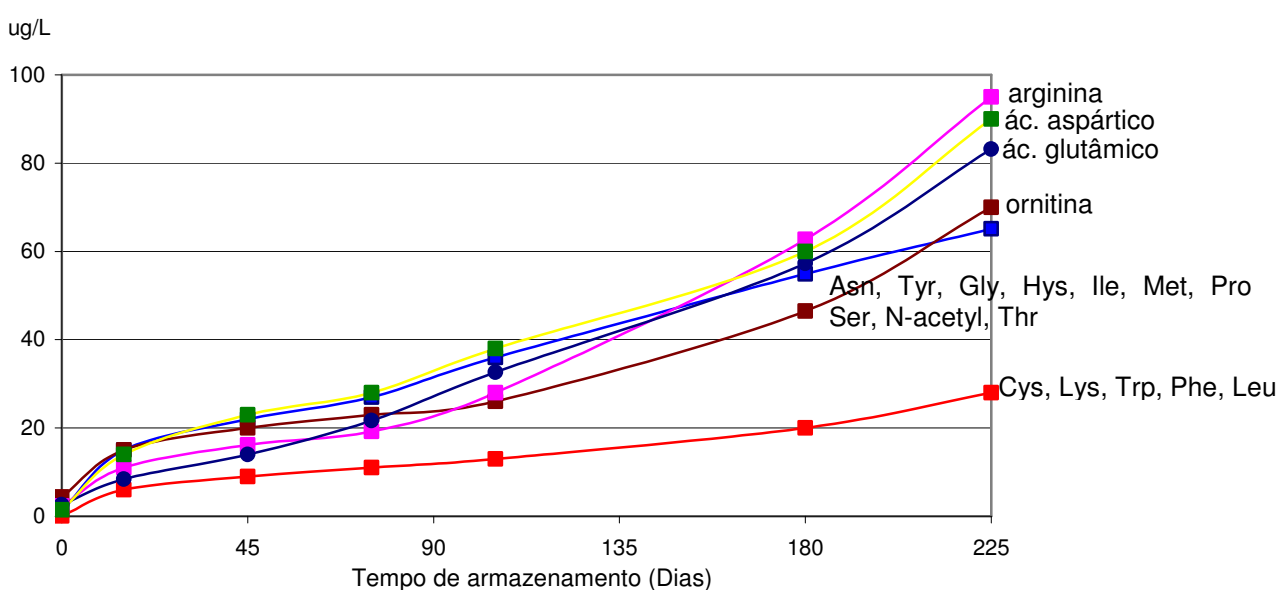


Figura 24 – Ba extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo.

Na figura 24 pode-se observar que os aminoácidos arginina, ácido aspártico e ácido glutâmico apresentaram as maiores extrações de Ba da embalagem de PVC ao longo dos 225 dias de armazenamento, semelhante às extrações ocorridas durante o processo de esterilização.

Os aminoácidos asparagina, ácido glutâmico e ornitina apresentaram as maiores extrações de Ba quando se relacionou os resultados com a concentração dos mesmos, mostrando um comportamento diferente do encontrado quando não se leva em conta a concentração dos aminoácidos.

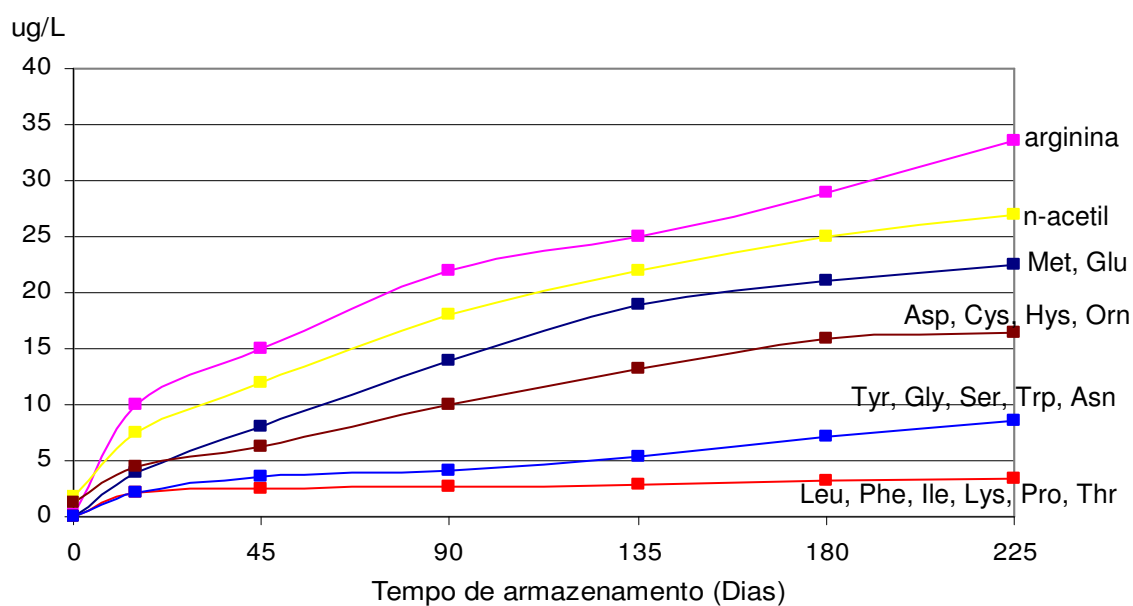


Figura 25 – Cd extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo.

Na figura 25 observa-se que, semelhante à extração durante a esterilização, os aminoácidos arginina, n-acetil tirosina, metionina e ácido glutâmico extraíram as maiores quantidades de Cd das embalagens de PVC ao longo do tempo. A maioria dos aminoácidos extraiu em torno de 10 µg/L de cádmio das embalagens.

Quando se relacionou os resultados encontrados com a concentração dos aminoácidos, observou-se que os aminoácidos n-acetil tirosina, cisteína e arginina extraíram as maiores quantidades de cádmio das embalagens, mostrando que a concentração utilizada não é o fator determinante para a extração de Cd das embalagens.

Pode-se observar, na figura 25, que todos os aminoácidos extraíram Cd das embalagens, extraíndo até 40 µg/L.

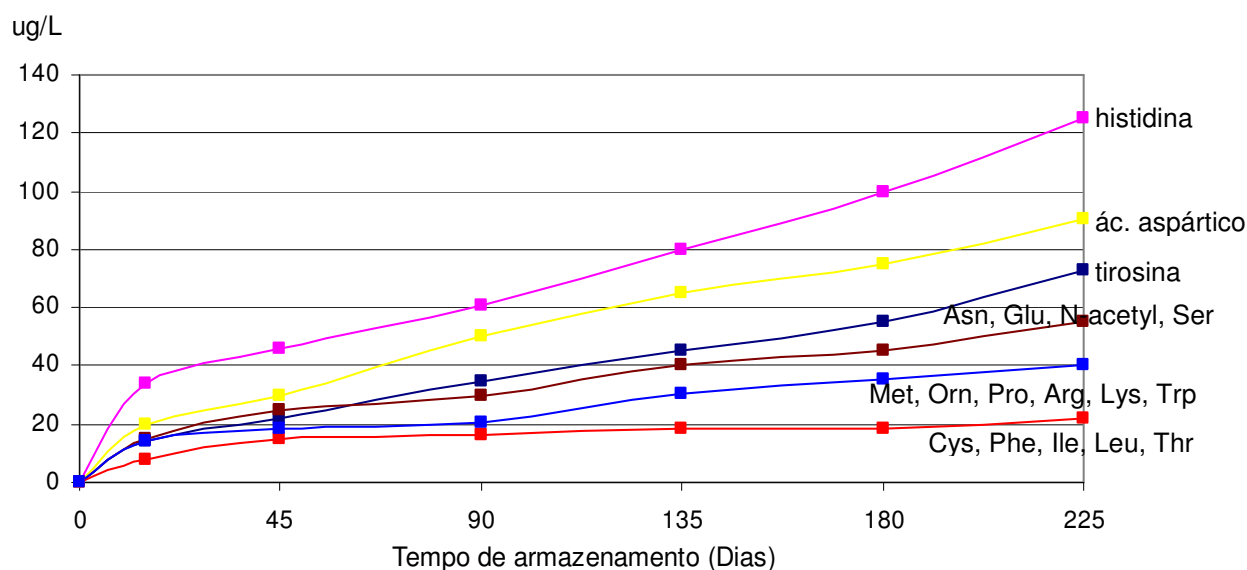


Figura 26 – Pb extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo.

Os aminoácidos que extraíram a maior quantidade de Pb ao delongo do tempo, das embalagens de PVC, foram a histidina, o ácido aspártico e a tirosina, estando em acordo com os resultados apresentados durante a processo de esterilização. Os aminoácidos que extraíram as menores quantidades de Pb foram a cisteína, fenilalanina, isoleucina, leucina e treonina, extraíndo aproximadamente 20 $\mu\text{g/L}$.

Os resultados encontrados no Apêndice 2, em μg do metal /g de aminoácido, mostram que os aminoácidos asparagina, histidina e tirosina extraíram as maiores quantidades de Pb das embalagens, diferentemente dos resultados obtidos em $\mu\text{g/L}$.

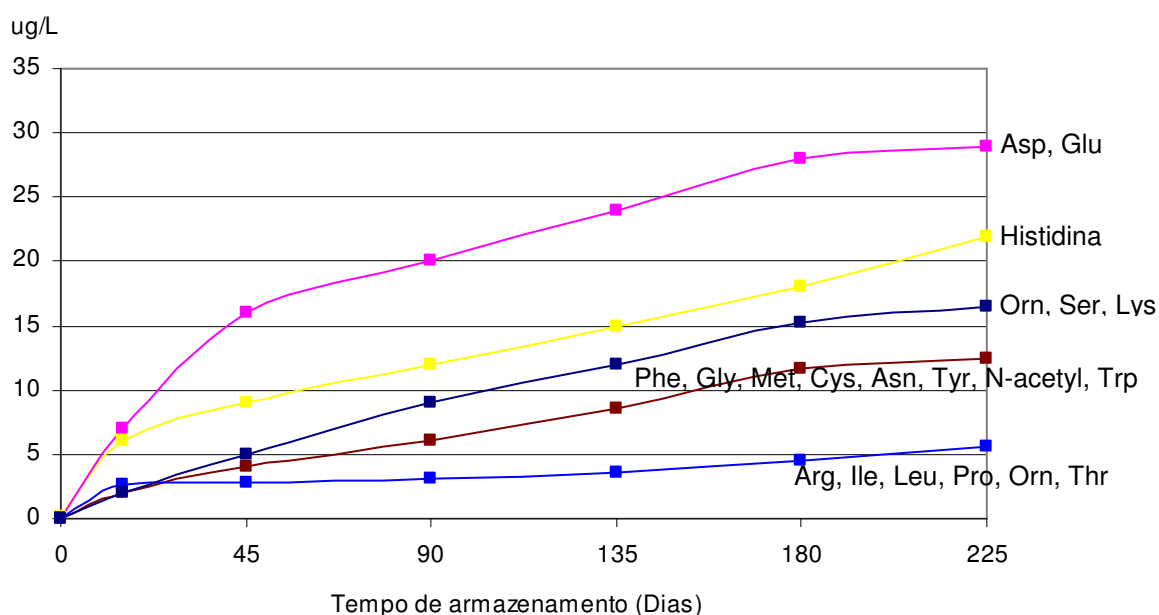


Figura 27 – Cr extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo.

Conforme esperado, os aminoácidos que extraíram as maiores quantidades de Cr das embalagens de PVC ao longo do tempo de armazenamento foram o ácido aspártico, ácido glutâmico e histidina, seguidos da ornitina, serina e lisina. Os aminoácidos que extraíram as menores quantidades de Cr foram arginina, isoleucina, leucina, prolina, ornitina e treonina aproximadamente 5 µg/L de Cr da embalagem.

Os aminoácidos que extraíram a maior quantidade de Cr, em função da concentração de cada aminoácido, foram ácido glutâmico, metionina e histidina, semelhante aos resultados encontrados em µg/L.

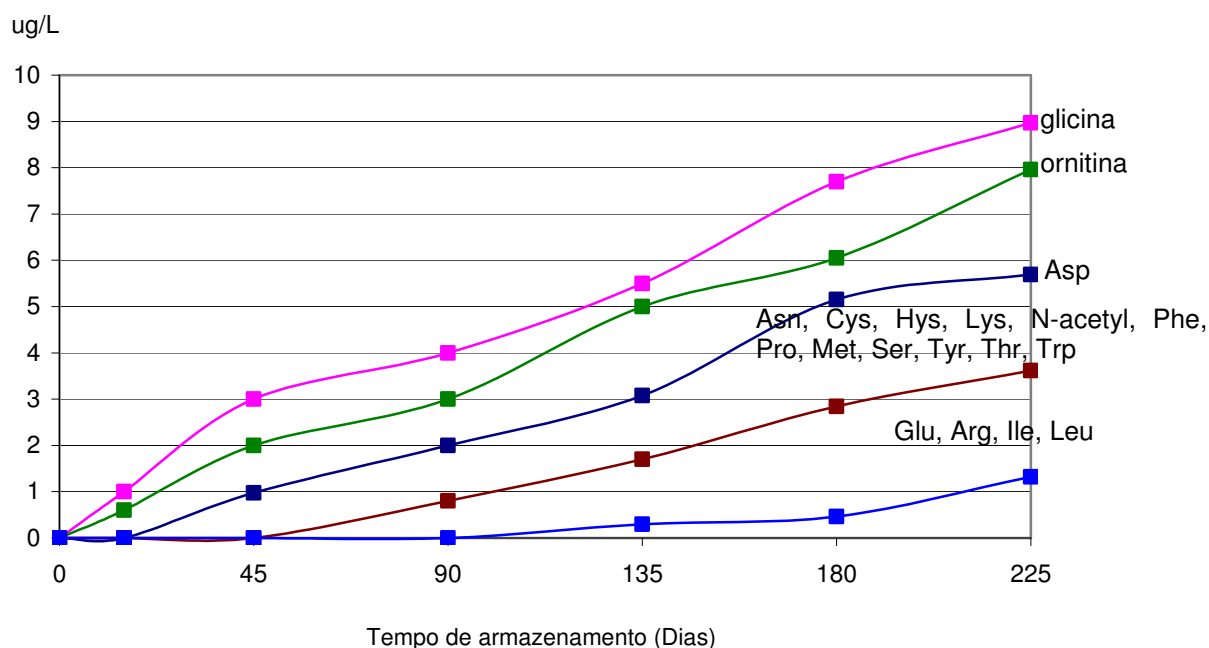


Figura 28 – Mn extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo.

Dos metais analisados, o Mn apresentou as menores extrações, tanto que nos ensaios de esterilização não se observou um aumento da concentração de Mn nas soluções, o Mn também apresentou as menores concentrações de extrações ao longo do tempo. Além disso, como será visto nos dois itens próximos, o Mn não foi extraído das embalagens de PP e EVA. Apesar de todos os polímeros apresentarem em torno de 5 µg/g de Mn, apenas nas soluções armazenadas nas bolsas de PVC pode-se observar uma pequena extração do metal.

O comportamento dos aminoácidos foi semelhante, pois a quantidade extraída não passou de 10 µg/L, destacando-se a glicina, ornitina e ácido aspártico com as maiores extrações. Os demais aminoácidos apresentaram extrações baixas em torno de 3 µg/L. Como o manganês é um elemento químico essencial, os resultados obtidos não apresentam grandes riscos à saúde dos pacientes.

Relacionando os resultados com a concentração dos aminoácidos, pode-se perceber, no Apêndice 2, que os aminoácidos ornitina, metionina e glicina apresentam as maiores extrações de manganês, mostrando que a concentração dos aminoácidos não influenciou no processo de extração de Mn a longo prazo.

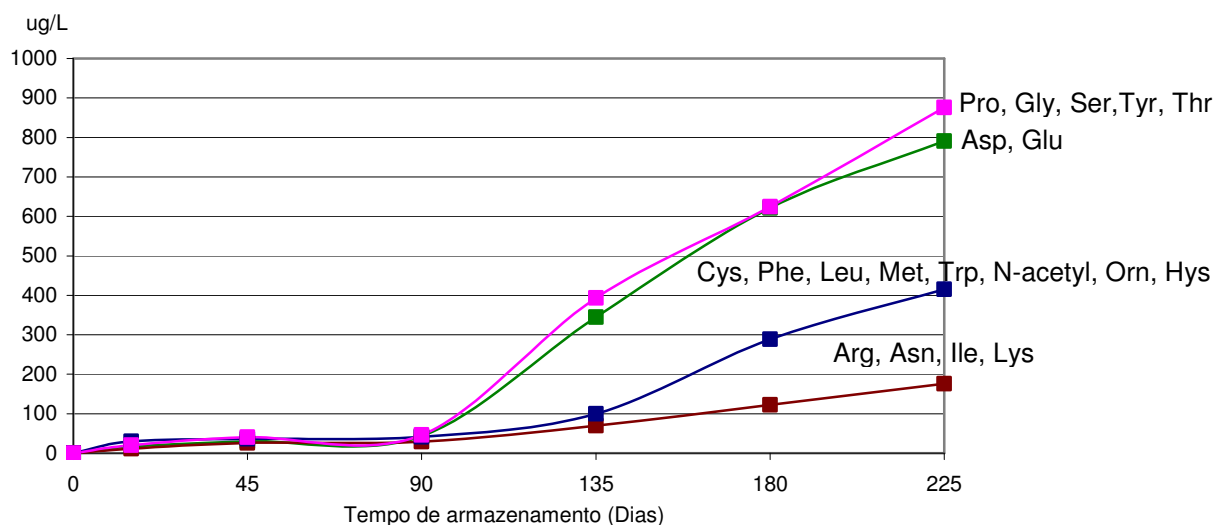


Figura 29 – Zn extraído das bolsas de PVC por diferentes aminoácidos ao longo do tempo.

Conforme observa-se na figura 29, durante os 90 primeiros dias de armazenamento dos aminoácidos nas embalagens de PVC, estes apresentaram um comportamento semelhante extraído em torno de 40 µg/L de Zn. Após este período, os aminoácidos prolina, serina, tirosina, ácido aspártico e glutâmico apresentaram extrações maiores, cerca de 900 µg/L de zinco. O Zn apresentou a maior taxa de extração entre os metais, independentemente do aminoácido. Apesar de o Zn ser o metal extraído em maior quantidade, os riscos oferecidos na administração de soluções contaminadas com este metal são baixos, já que o Zn é considerado um elemento essencial ao organismo.

Os aminoácidos tirosina, serina e treonina apresentaram as maiores extrações considerando a concentração dos aminoácidos (Apêndice 2), indicando que a concentração dos aminoácidos não influencia na extração de Zn.

4.4.2 – Embalagens de PP

Segundo a literatura, as embalagens de polipropileno (PP) são mais comumente utilizadas para o armazenamento de soluções salinas, glicose entre outras. Assim, para o ensaio de longo tempo, soluções de alguns sais, em diferentes concentrações e de glicose, sorbitol e manitol, nas concentrações que estas soluções são normalmente comercializadas, foram analisadas. No Apêndice 2 encontram-se os resultados das extrações dos metais alumínio, bário, cádmio, chumbo, cromo e zinco, levando-se em conta as concentrações dos sais, glicose e outras substâncias.

Nas figuras 30, 31, 32, 33, 34 e 35 estão os resultados da extração dos metais pelo período de 225 dias de armazenamento.

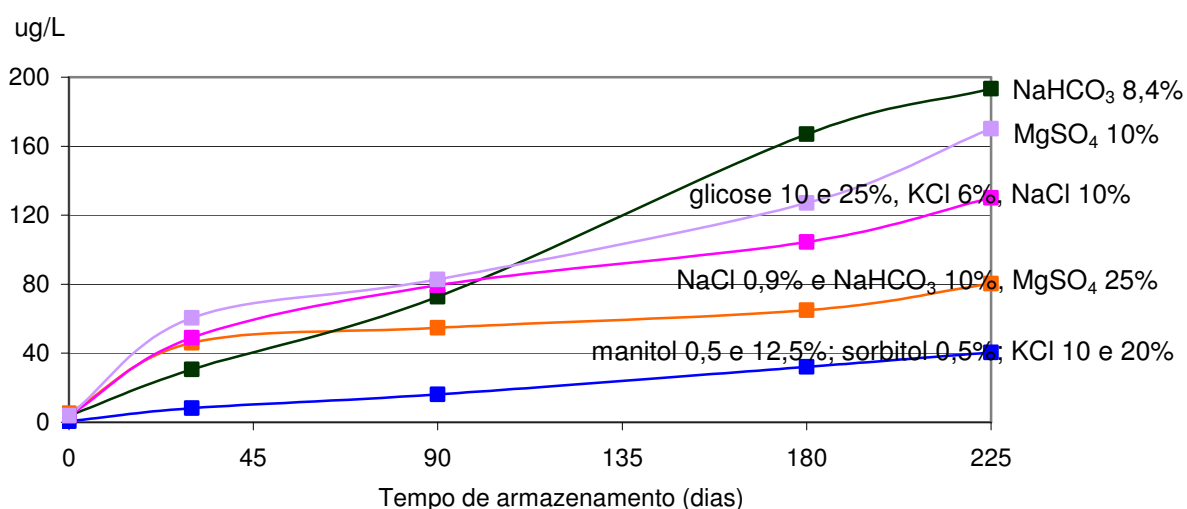


Figura 30 – Al extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias.

Conforme esperado, os resultados encontrados ao longo do tempo são semelhantes aos encontrados durante o processo de esterilização. As soluções que extraíram a maior quantidade de Al foram as de bicarbonato de sódio e sulfato de magnésio (~150 µg/L). Observa-se que todas as soluções extraíram Al das embalagens. As soluções que extraíram as menores quantidades foram manitol, sorbitol e cloreto de potássio (~40µg/L). Os resultados apresentados no Apêndice 2,

considerando a concentração das soluções, mostrou que as soluções de cloreto de sódio, sorbitol e manitol apresentaram as maiores extrações, indicando que a concentração não influencia na extração dos metais das embalagens de PP.

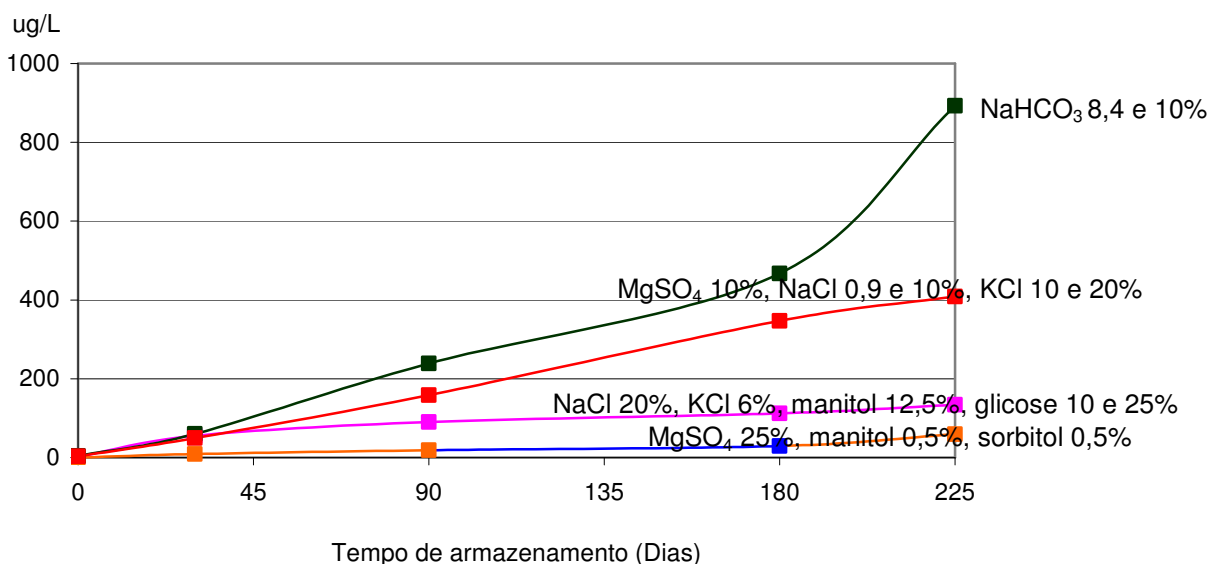


Figura 31 – Ba extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias.

Na figura 31 pode-se observar que das soluções armazenadas nas embalagens de PP a de bicarbonato de sódio foi a solução que extraiu as maiores quantidades de Ba. As soluções que extraíram as menores quantidades de Ba foram sulfato de magnésio, manitol e sorbitol (~100 µg/L).

Ao levar-se em conta a concentração das soluções (Apêndice 2), as soluções de cloreto de sódio, cloreto de potássio e sorbitol apresentaram as menores extrações de bário das embalagens de PP, mostrando que as concentrações das soluções não influenciam na extração de Ba.

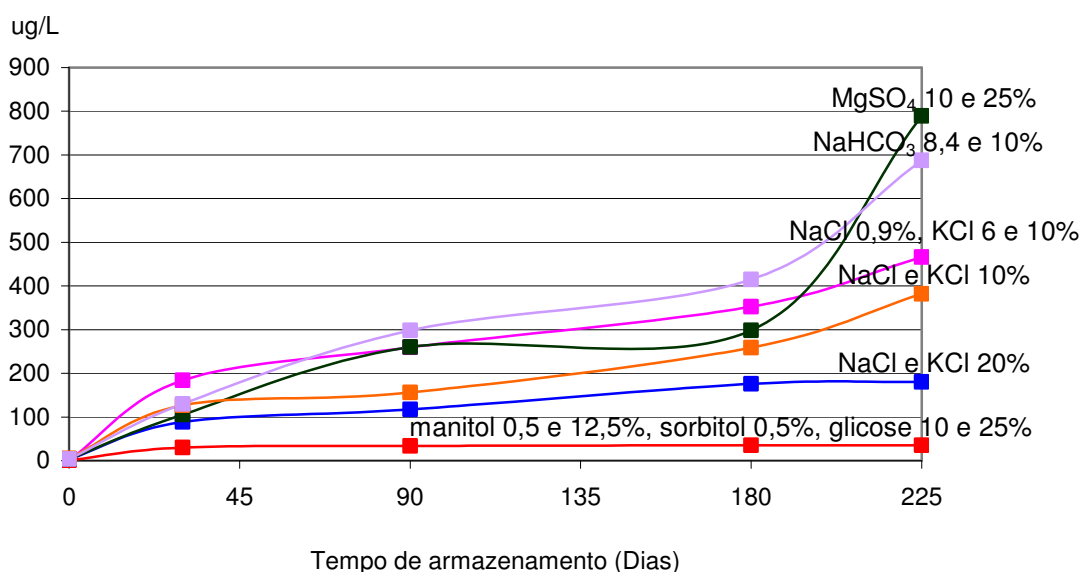


Figura 32 – Cd extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias.

Na figura 32 pode-se observar que as soluções de sulfato de magnésio e bicarbonato de sódio apresentaram as maiores extrações de Cd das embalagens (~750 µg/L). Já as soluções de manitol, sorbitol e glicose apresentaram as menores extrações de Cd (50 µg/L).

Considerando a concentração das soluções (Apêndice 2) os resultados obtidos mostraram que as soluções de cloreto de sódio, e cloreto de potássio extraíram as maiores quantidades de Cd das soluções, evidenciando que a concentração não influencia na extração de Cd das embalagens.

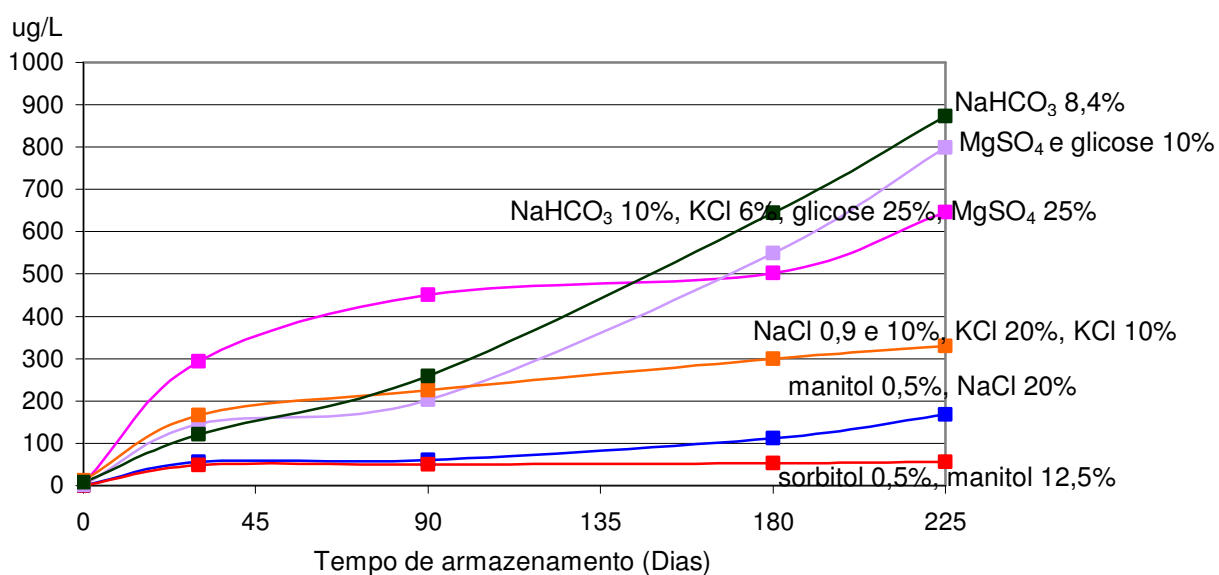


Figura 33 – Pb extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias.

Observa-se na figura 33 que as soluções que extraíram as maiores quantidades de Pb das embalagens foram bicarbonato de sódio, sulfato de magnésio e glicose. As soluções de manitol, cloreto de sódio e sorbitol apresentaram as menores extrações de Pb (~100 µg/L). As soluções que extraíram as maiores quantidades de Pb das embalagens, relacionando a concentração das soluções, foram cloreto de sódio, manitol e sorbitol, mostrando que a concentração das soluções não influencia diretamente na extração de Pb das embalagens.

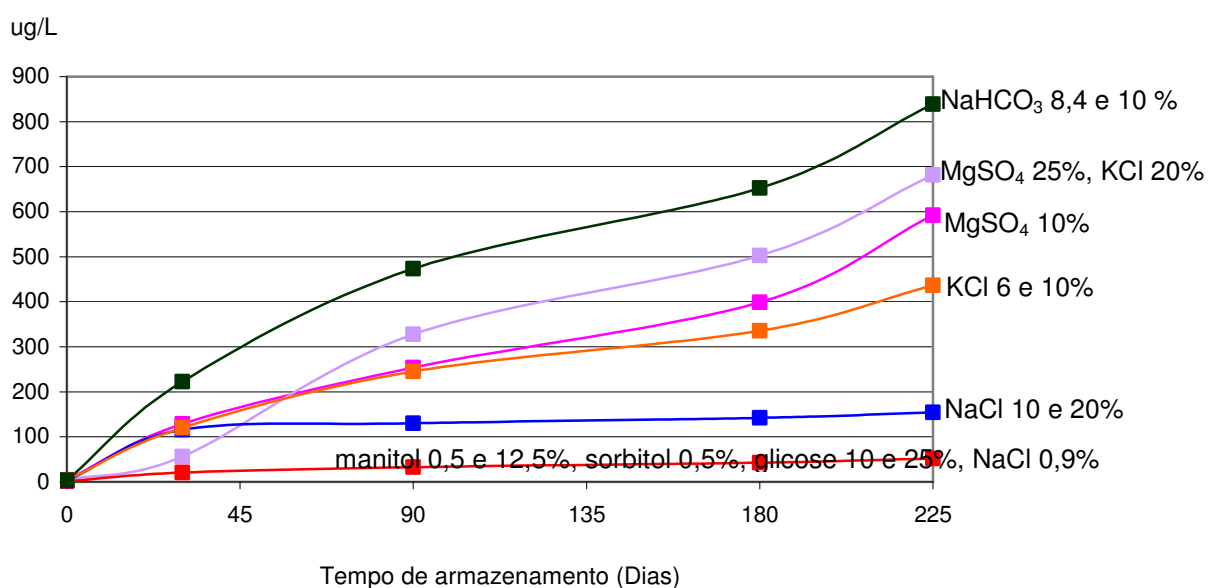


Figura 34 – Cr extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias.

Na figura 34 pode-se observar que as soluções de bicarbonato de sódio, sulfato de magnésio e cloreto de potássio extraíram as maiores quantidades de Cr das embalagens de PP. Já as soluções de manitol, sorbitol e glicose, extraíram as menores quantidades de Cr das embalagens (~50 µg/L). Diferentes dos resultados encontrados quando a concentração das soluções (Apêndice 2) é utilizada para verificar influência da concentração na extração de cromo. As soluções de cloreto de sódio, sorbitol e sulfato de magnésio extraíram as maiores quantidades de Cr das embalagens.

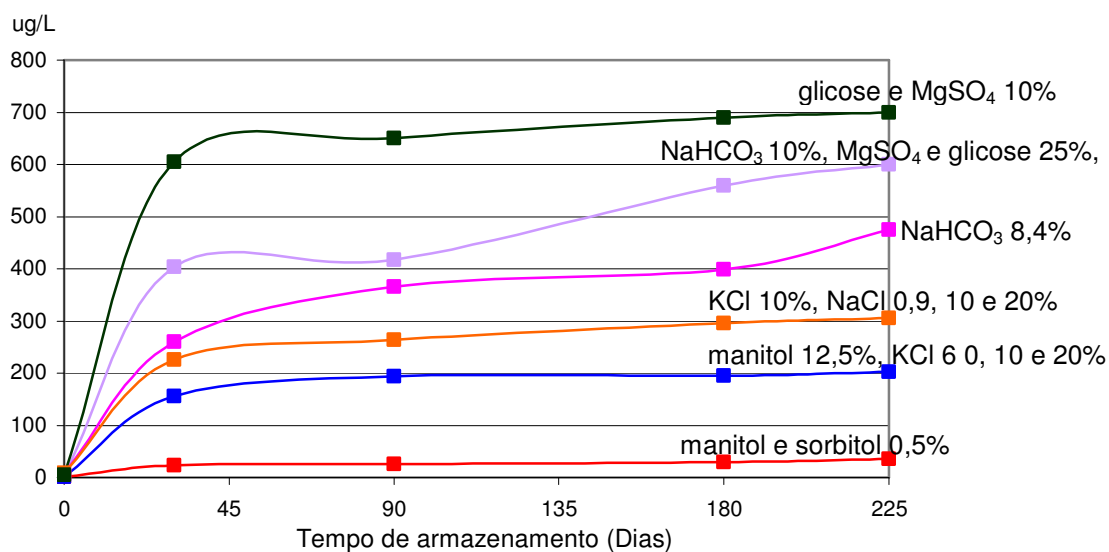


Figura 35 – Zn extraído das embalagens de PP por diferentes substâncias em 225 dias.

Semelhante aos resultados encontrados no processo de esterilização, as soluções que extraíram a maior quantidade de Zn foram glicose e sulfato de magnésio (~700 µg/L) e bicarbonato de sódio e cloreto de potássio (600 µg/L). As soluções que extraíram as menores quantidades de Zn foram manitol e sorbitol. No Apêndice 2 que relaciona os resultados obtidos em µg/L com as concentrações das soluções, observa-se que as soluções de cloreto de sódio, sorbitol e bicarbonato de sódio extraíram as maiores quantidades de Zn das embalagens.

4.4.3 – Embalagens de EVA

As embalagens de acetato de vinila (EVA) são amplamente utilizadas no armazenamento de aminoácidos, soluções salinas, glicose e emulsões lipídicas. Assim, para o ensaio de longo tempo, utilizou-se soluções de 20 aminoácidos, sais em diferentes concentrações e glicose, sorbitol e manitol nas concentrações que estas soluções são normalmente comercializadas. No Apêndice 2 estão os

resultados obtidos, considerando a concentração das substâncias. Os resultados estão expressos em μg do metal/g da substância.

Nas figuras 36, 37, 38, 39, 40 e 41 estão os resultados que mostram o comportamento da extração dos metais alumínio, bário, cádmio, chumbo, cromo e zinco por soluções de aminoácidos, glicose e cloreto de sódio e potássio em 225 dias de armazenamento.

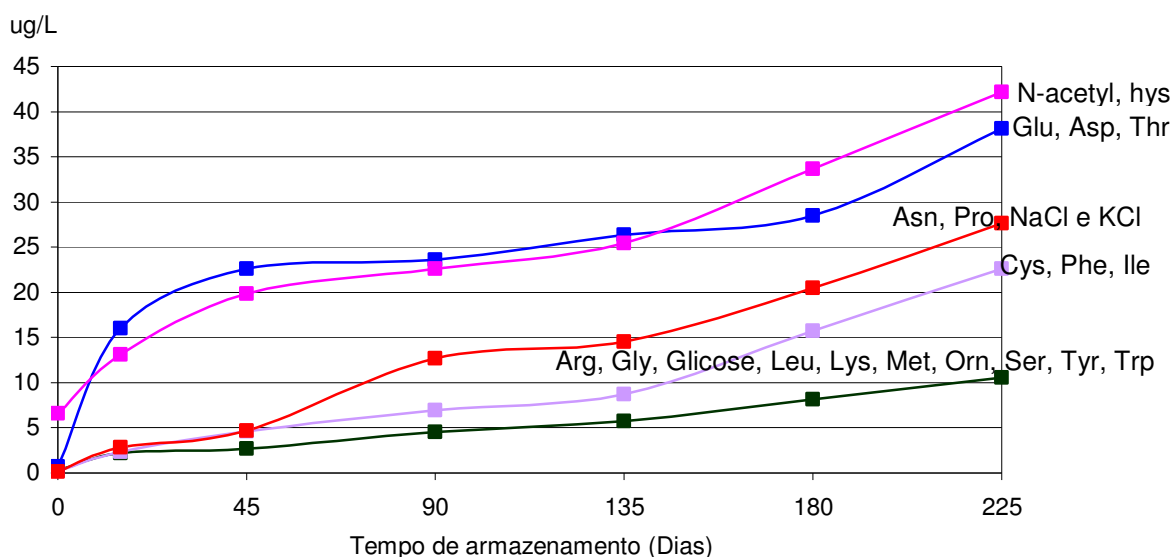


Figura 36 – Al extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias.

Ao observar a figura 36, percebe-se que os aminoácidos n-acetil tirosina, histidina, ácido glutâmico, ácido aspártico e treonina apresentam as maiores extrações de Al das embalagens, semelhante ao processo de esterilização. Mesmo em concentrações menores de Al, todos os aminoácidos extraíram o metal. Levando em consideração a concentração das substâncias, os aminoácidos que extraíram a maior quantidade de Al foram n-acetil tirosina, asparagina e ácido glutâmico, semelhante aos resultados encontrados em $\mu\text{g/L}$, mostrando que, neste caso, a extração está relacionada com a concentração das substâncias.

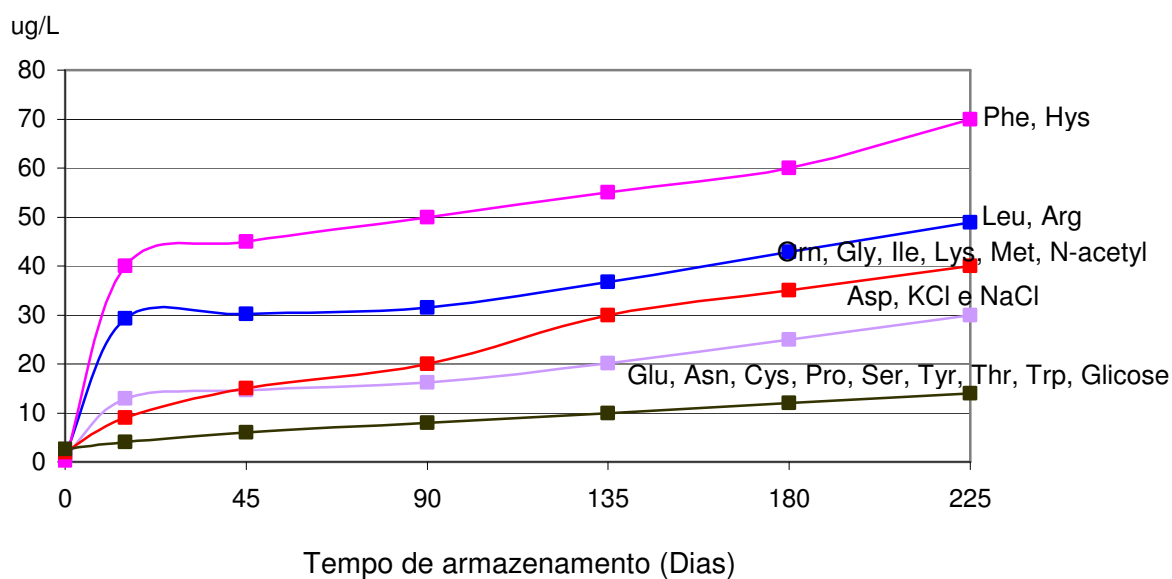


Figura 37 – Ba extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias.

A figura 37 mostra a extração de Ba das soluções armazenadas em embalagens de EVA, as soluções que extraíram as maiores quantidades do metal foram a fenilalanina e a histidina ($\sim 70 \mu\text{g/L}$), seguidas dos aminoácidos leucina e arginina ($\sim 50 \mu\text{g/L}$). As soluções que extraíram as menores quantidades de Ba das embalagens foram ácido glutâmico, asparagina, cisteína, prolina, serina, tirosina, treonina, triptofano e glicose ($\sim 10 \mu\text{g/L}$). Os resultados encontrados no Apêndice 2, mostram que as soluções de fenilalanina, ácido glutâmico e histidina extraíram as maiores quantidades de Ba das embalagens quando o resultado é expresso em $\mu\text{g/g}$ da substância. Ao comparar os resultados percebe-se que a concentração das substâncias não influencia na extração de Ba das embalagens.

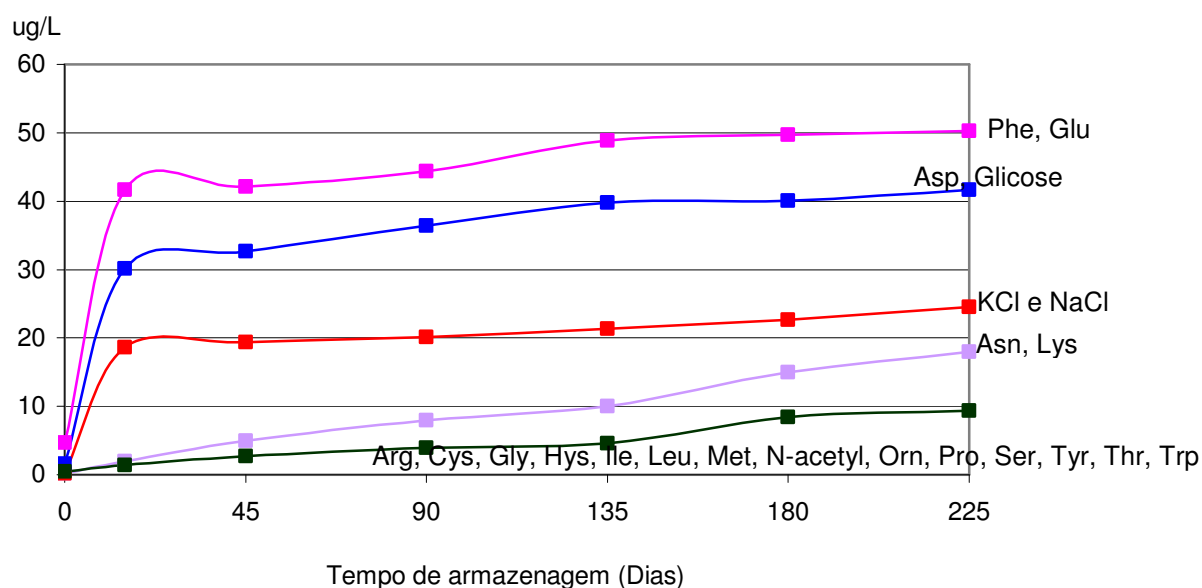


Figura 38 – Cd extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias.

Semelhantes ao processo de esterilização, os resultados da extração ao longo do tempo mostram que fenilalanina, ácido glutâmico ($\sim 50 \mu\text{g/L}$), ácido aspártico e glicose ($40 \mu\text{g/L}$) apresentaram as maiores extrações de Cd das embalagens. Observa-se na figura que todos os aminoácidos extraíram Cd das embalagens. Levando-se em conta a concentração das substâncias, observa-se no Apêndice 2 que as soluções de fenilalanina, ácido glutâmico e asparagina extraíram as maiores quantidades de Cd das embalagens semelhante aos resultados encontrados em $\mu\text{g/L}$.

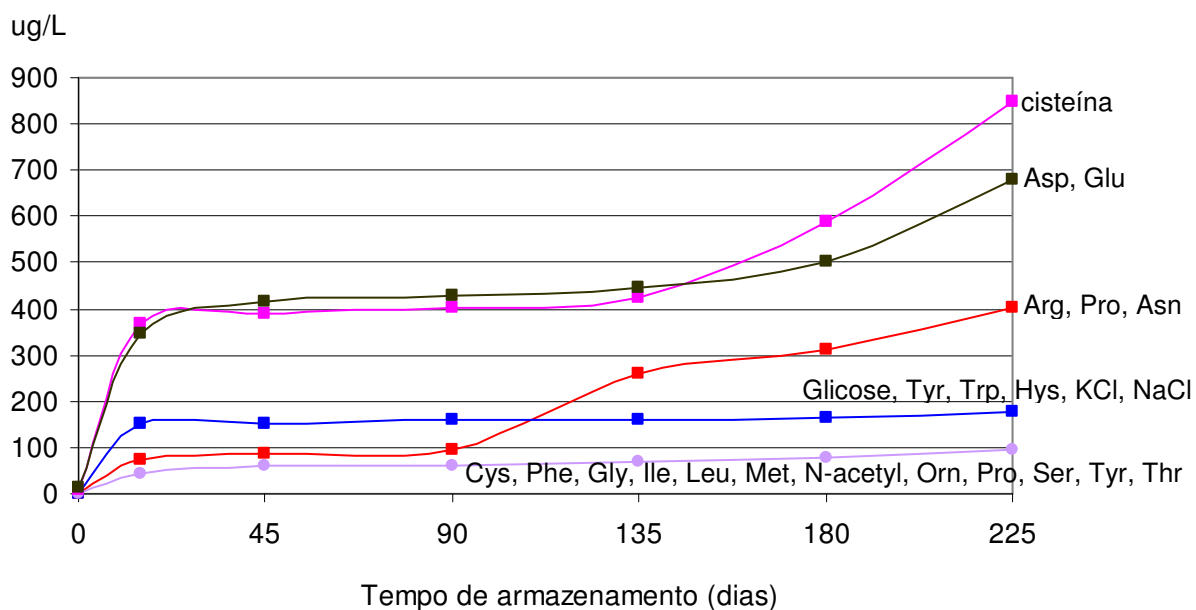


Figura 39 – Pb extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias.

Na figura 39 observa-se que todas as soluções extraíram Pb das embalagens sendo as soluções de cisteína, ácido aspártico e ácido glutâmico, as que extraíram as maiores quantidades de Pb das embalagens. Semelhante aos resultados em $\mu\text{g/L}$, no Apêndice 2 pode-se observar que a concentração das substâncias influencia na extração de Pb das embalagens, já que as soluções que extraíram mais Pb das embalagens foram cisteína, ácido glutâmico e asparagina. Como nas demais embalagens (PVC e PP), as soluções extraíram elevadas quantidades de Pb das embalagens de EVA.

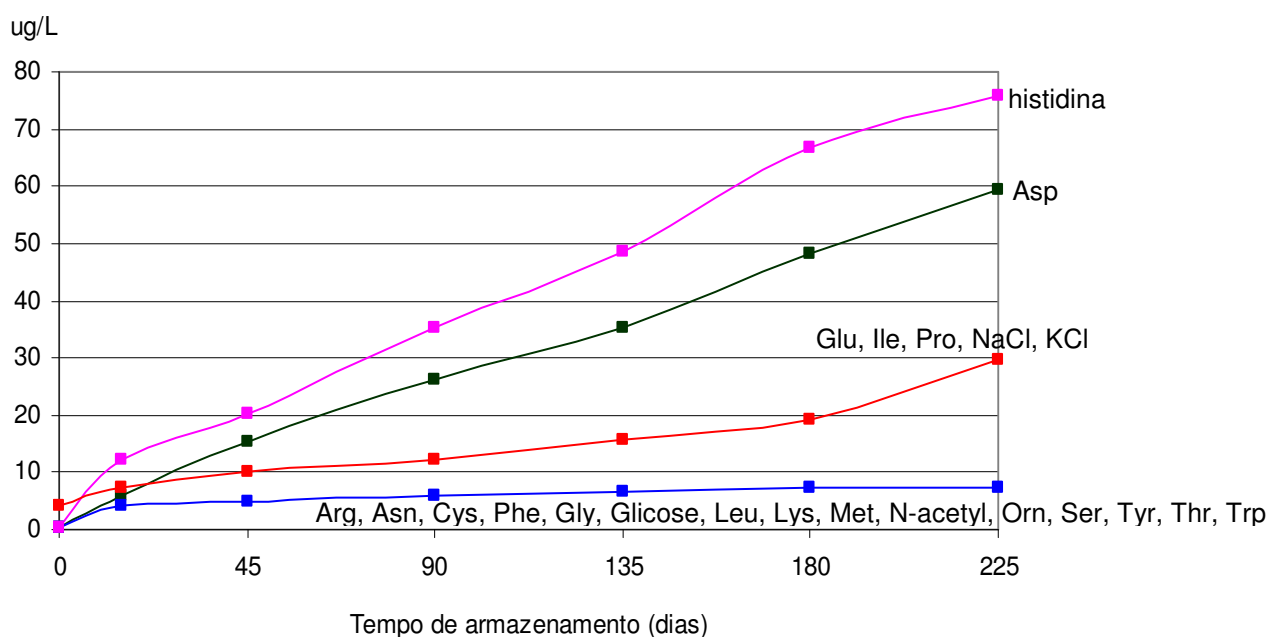


Figura 40 – Cr extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias.

Na figura 40 pode-se observar que histidina e ácido aspártico foram as soluções que extraíram as maiores quantidades de Cr das embalagens ao longo do tempo. As demais soluções apresentaram um comportamento semelhante, extraíram de 5 a 10 $\mu\text{g/L}$ de Cr. As soluções que extraíram as maiores quantidades de Cr das embalagens, considerando a concentração das substâncias, foram histidina, ácido aspártico e ácido glutâmico, semelhante aos encontrados em $\mu\text{g/L}$.

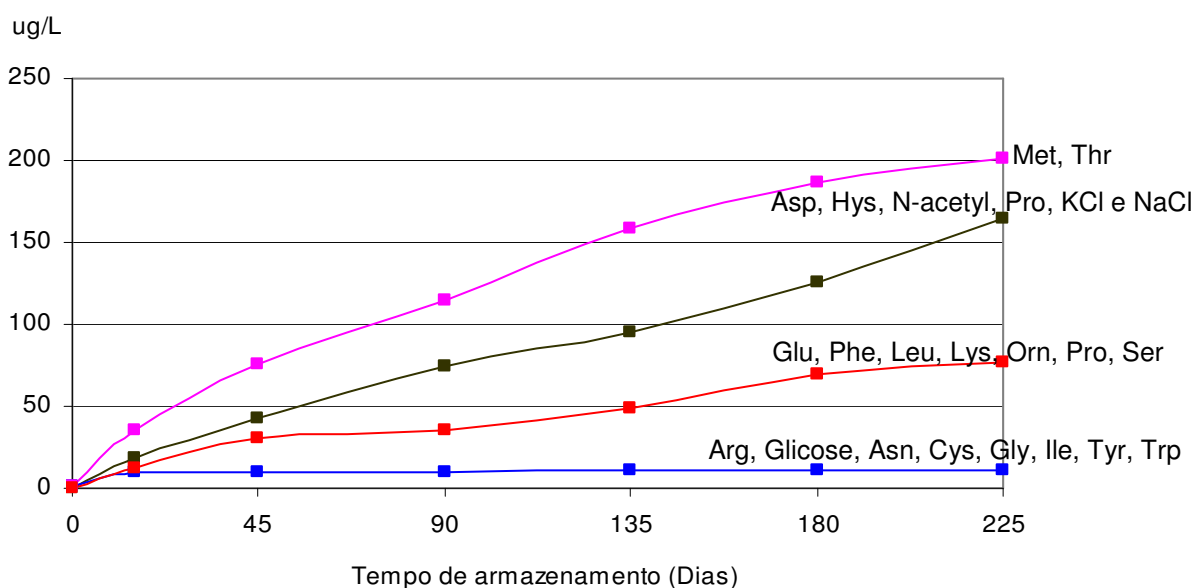


Figura 41 – Zn extraído das embalagens de EVA por diferentes substâncias em 225 dias.

Observa-se na figura 41 que as soluções que extraíram as maiores quantidades de Zn das embalagens foram metionina, treonina, ácido aspártico, seguidas da histidina, n-acetil tirosina, prolina e cloreto de sódio e potássio. As soluções de arginina, glicose, asparagina, cisteína, tirosina e triptofano apresentaram as menores extrações ao longo do tempo, cerca de 20 µg/L de Zn. Levando-se em conta a concentração das substâncias, as soluções que extraíram as maiores quantidades de Zn foram metionina, n-acetil tirosina e treonina semelhante aos resultados apresentados em µg/L, mostrando que a concentração foi o fator determinante na extração do Zn das embalagens de EVA.

4.5 – Conclusões: Embalagens plásticas X Armazenamento

Em relação as embalagens de PVC, a extração aumentou continuamente durante o período estudado para todos os metais. Independentemente do aminoácido, o metal mais extraído foi o zinco, atingindo uma taxa média de 500 µg/L e os com menor taxa de extração foram o Cr e Cd. Para estes a taxa não

ultrapassou 30 µg/L ao final dos estudos, para ácido glutâmico e ácido aspártico, no caso do cromo, e arginina, no caso do cádmio.

Em relação as embalagens de PP, com algumas exceções, a extração dos metais aumentou nos primeiros 30 dias e depois manteve-se constante. Os metais mais extraídos foram o Zn e o Pb, em uma taxa média de 500 µg/L. O Al foi o metal com as menores taxas de extração, em torno de 80 µg/L, ao final do tempo de ensaio. Pode-se observar, no entanto, que, as soluções de NaHCO₃ são as que extraíram a maior quantidade de todos os metais, atingindo quase 1000 µg/L para a maioria deles ao final dos 225 dias do estudo.

Em relação as embalagens de EVA, apesar da natureza semelhante ao PVC e da presença dos metais praticamente nas mesmas concentrações (ver Tabela 19), o EVA mostrou um comportamento um pouco diferente. Apenas para o Zn e Cr o processo de extração aumentou continuamente. Para os outros metais houve uma extração mais acentuada nos primeiros 30 dias apenas. Também em relação às quantidades extraídas pode-se notar diferenças. Enquanto que Pb e Cr apresentaram extrações médias maiores do que o PVC, a extração média do Zn foi significativamente menor no EVA, em torno de 100 µg/L, contra 500 µg/L no PVC.

De uma maneira geral é interessante observar que apesar do alumínio ser o metal mais abundante em todos os polímeros, foi o que apresentou as menores taxas de extração.

A razão para isto esteja talvez na forma como o alumínio está presente no polímero; enquanto os outros metais estão presentes na forma de sabões ou sais (estearato de zinco) o alumínio está presente como catalisador, na forma do composto Al(C₂H₅)₃ (tabela 9). É provável que a extração dos metais Zn, Pb e dos outros ocorra por afinidade entre aminoácidos e ânions em solução e o metal, envolvendo um processo de troca iônica entre alguns cátions da solução e o íon metálico presente no polímero. Já a extração do alumínio só irá ocorrer por ruptura da ligação Al-C, o que não é tão simples, ou por extração de toda a molécula do catalisador, um processo dificultado pelo tamanho da molécula.

Comparando as taxas dos metais extraídos durante a esterilização com as do ensaio a longo tempo, observa-se uma interação maior ao longo do tempo.

A interação das soluções com as embalagens é um processo contínuo, quanto maior o tempo de contato, maior a contaminação das soluções pelos metais existentes nos polímeros das embalagens.

4.6 – Contribuição das embalagens de vidro na contaminação por metais de soluções de nutrição parenteral

Na investigação da contribuição das embalagens de vidro como uma das fontes de contaminação das soluções de nutrição parenteral, primeiro foram analisados os principais tipos de vidro a fim de determinar a quantidade de metais presentes nestes e realizou-se o ensaio para verificar o efeito do processo de esterilização e o efeito do tempo de armazenagem na contaminação das soluções parenterais.

Diferentes tipos de embalagens de vidro foram escolhidas para o estudo devido ao seu uso no armazenamento de soluções de uso parenteral. Estas foram: frascos de 500 mL, para as soluções de grande volume; frascos de 75 mL, para as soluções de pequeno volume e ampolas transparentes e âmbar (10 mL).

Selecionaram-se, neste ensaio, alguns aminoácidos de acordo com a sua classificação descrita no Apêndice 4, já que em trabalhos anteriores BINOTTO (2001) o comportamento dos grupos de aminoácidos frente ao vidro foi semelhante. Foram selecionados os aminoácidos glicina como apolar; serina, aminoácido polar; arginina, como aminoácido básico e ácido glutâmico, como ácido, e metionina e cisteína, aminoácidos com enxofre na molécula. Também selecionou-se alguns sais que são amplamente comercializados em embalagens de vidro, tais como cloreto de cálcio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, glicose, bicarbonato de sódio, e os constituintes das emulsões ácido caprílico e capróico. No Apêndice 1 estão listadas as vitaminas e demais soluções com as concentrações utilizadas.

4.6.1 – Validação da decomposição das embalagens de vidro

As embalagens utilizadas neste trabalho foram analisadas para determinar e quantificar algumas espécies metálicas presentes. Conforme literatura, alguns métodos podem possibilitar a decomposição das embalagens de vidro apresentando bons resultados [PLUHATOR-MURTON *et al.*, 1999]. Entre os métodos sugeridos selecionou-se dois procedimentos de decomposição das amostras de vidro estudadas, os quais estão detalhados no item 2.8.2.

Para a validação dos métodos utilizados, realizou-se testes de recuperação, para garantir que não haveria perdas e contaminação das amostras. As amostras foram fortificadas de acordo com os níveis de contaminação encontrados nas amostras abertas sem a presença dos metais. Fortificou-se as amostras com 200 ppb de Al, Cd, e Pb e com 100 ppb de Ba, Fe, Cr, Mn e Zn. Para a determinação do teor de metais as amostras foram diluídas, conforme necessário, para que o valor medido ficasse dentro dos limites da curva analítica.

Determinou-se os metais por GF AAS e para comparação por ICP-MS. Alguns elementos foram determinados somente por ICP-MS (Co, Sb, Sn, Ti, V).

As tabelas 22 e 23 mostram, respectivamente, os resultados encontrados para a recuperação dos metais, utilizando os métodos com e sem microondas.

Tabela 22 – Recuperação das espécies frente à diferentes embalagens de vidro para o procedimento 1 (microondas), determinação por GF AAS

| Amostra | Recuperação | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|-------------|-----|------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|------|-----|-------|-----|
| | Al | | Ba | | Cd | | Cr | | Mn | | Pb | | Zn | |
| | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR |
| Grande volume | 101,2 | 3,5 | 98,7 | 2,8 | 103,2 | 4,2 | 96,1 | 0,9 | 98,5 | 1,6 | 96,3 | 5,6 | 108,8 | 4,6 |
| Pequeno volume | 96,6 | 4,0 | 94,9 | 7,0 | 103,7 | 6,0 | 99,2 | 2,2 | 94,3 | 2,0 | 98,6 | 4,2 | 105,6 | 8,0 |
| Ampola âmbar | 101,9 | 2,1 | 99,6 | 4,5 | 100,8 | 5,5 | 102,7 | 3,5 | 99,8 | 3,7 | 95,7 | 3,8 | 104,9 | 1,8 |
| Ampola transparente | 99,7 | 3,3 | 95,2 | 6,1 | 101,2 | 5,0 | 110,3 | 6,0 | 104,3 | 4,0 | 99,5 | 6,0 | 106,9 | 2,5 |

% DPR: desvio padrão relativo

Tabela 23 – Recuperação das espécies frente à diferentes embalagens de vidro para procedimento 2 (sem microondas), determinação por GF AAS

| Amostra | Recuperação | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|-------------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| | Al | | Ba | | Cd | | Cr | | Mn | | Pb | | Zn | |
| | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR | % | DPR |
| Grande volume | 96,5 | 3,4 | 106,6 | 2,2 | 102,3 | 8,0 | 109,8 | 4,4 | 100,9 | 4,0 | 102,3 | 3,9 | 101,2 | 3,0 |
| Pequeno volume | 93,6 | 5,4 | 101,8 | 3,7 | 104,6 | 6,4 | 99,2 | 5,2 | 105,2 | 5,2 | 96,2 | 5,2 | 105,9 | 5,3 |
| Ampola âmbar | 104,3 | 6,0 | 108,4 | 4,6 | 106,8 | 5,2 | 101,3 | 6,0 | 103,4 | 6,3 | 98,7 | 6,1 | 98,6 | 7,5 |
| Ampola transparente | 100,7 | 2,1 | 99,5 | 5,0 | 112,6 | 6,1 | 104,6 | 7,2 | 99,5 | 7,0 | 105,4 | 2,0 | 99,7 | 2,1 |

% DPR: desvio padrão relativo

Pode-se observar que nas tabelas 22 e 23 os resultados das recuperações para todas as embalagens foram satisfatório para todos os metais. Os metais que apresentaram as menores recuperações foram: alumínio, bário, chumbo e zinco com aproximadamente 97%. Os demais metais apresentaram recuperações entre 93,6 e 112,6 %.

Apesar de não ser total a decomposição do vidro no procedimento 2, sem o uso do microondas, os resultados encontrados indicam que os metais adicionados durante o procedimento são recuperados, garantindo eficiência no procedimento de decomposição das embalagens de vidro.

Na tabela 24 estão os resultados das determinações dos metais nas embalagens de vidro, utilizando o procedimento 1 de decomposição do vidro com o auxílio do microondas e, na tabela 25, os resultados das determinações dos metais utilizando o procedimento 2, sem o uso do microondas.

Os metais foram determinados por GF AAS e ICP-MS. Os resultados estão expressos em μg do metal/g de embalagem.

Tabela 24 – Concentração dos metais nas embalagens de vidro utilizando o procedimento 1 (microondas), em µg/g

| Elemento | GV ± DPR* | | PV ± DPR* | | AT ± DPR* | | AA ± DPR* | |
|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS |
| Alumínio | 5558,6 ± 26,9 | 6203,8 ± 16,5 | 5420,3 ± 18,3 | 5584,7 ± 26,7 | 14.460 ± 22,1 | 16.566 ± 33,9 | 14.815 ± 20,7 | 16.641 ± 16,3 |
| Antimônio | -- | 5,3 ± 2,3 | -- | 1,5 ± 0,6 | -- | 2,0 ± 0,6 | -- | 1,3 ± 0,5 |
| Bário | 2,1 ± 0,1 | 2,3 ± 0,6 | 3,4 ± 1,2 | 2,9 ± 1,6 | 4,5 ± 2,6 | 4,0 ± 1,1 | 5,3 ± 1,5 | 4,4 ± 1,1 |
| Cádmio | 216,3 ± 3,9 | 219,1 ± 2,8 | 180,4 ± 4,8 | 194,7 ± 2,8 | 953,1 ± 12,5 | 994,3 ± 11,2 | 840,1 ± 10,9 | 825,2 ± 11,3 |
| Chumbo | 210,4 ± 10,5 | 189,4 ± 3,7 | 463,1 ± 6,7 | 423,5 ± 3,6 | 131,0 ± 5,9 | 130,9 ± 3,4 | 1281,5 ± 12,6 | 1509,4 ± 9,3 |
| Cobalto | -- | 0,6 ± 0,3 | -- | 0,4 ± 0,4 | -- | 9,7 ± 2,2 | -- | 8,3 ± 2,4 |
| Cromo | 80,5 ± 8,2 | 84,0 ± 6,9 | 34,0 ± 3,3 | 38,9 ± 2,1 | 84,5 ± 6,2 | 81,7 ± 6,1 | 45,6 ± 2,1 | 49,4 ± 3,6 |
| Estanho | -- | 5,1 ± 3,2 | -- | 2,7 ± 1,9 | -- | 3,9 ± 1,2 | -- | 4,2 ± 1,3 |
| Ferro | 263,7 ± 4,9 | 220,7 ± 4,8 | 989,5 ± 16,9 | 955,7 ± 10,6 | 310,4 ± 3,4 | 291,6 ± 2,9 | 1624,1 ± 3,4 | 1896,9 ± 8,6 |
| Manganês | 5,7 ± 0,6 | 5,9 ± 2,3 | 4,8 ± 1,1 | 5,5 ± 3,3 | 2,9 ± 1,2 | 2,1 ± 0,7 | 3,6 ± 0,9 | 3,18 ± 0,9 |
| Titânio | -- | 391,7 ± 19,1 | -- | 233,5 ± 6,4 | -- | 777,5 ± 5,7 | -- | 795,3 ± 10,6 |
| Vanádio | -- | 2,8 ± 1,5 | -- | 2,9 ± 0,8 | -- | 3,0 ± 1,3 | -- | 4,0 ± 2,3 |
| Zinco | 143,9 ± 6,6 | 141,4 ± 2,2 | 653,4 ± 11,5 | 613,1 ± 11,2 | 549,0 ± 7,9 | 538,7 ± 6,3 | 629,7 ± 8,3 | 656,9 ± 9,4 |

GV: grande volume, **PV:** pequeno volume, **AT:** ampola transparente, **AA:** ampola âmbar

--: não determinado

DPR: Desvio Padrão Relativo

* n= 3

Tabela 25 – Concentração dos metais nas embalagens de vidro utilizando o procedimento 2 (sem microondas), em µg/g

| Elemento | GV ± DPR* | | PV ± DPR* | | AT± DPR* | | AA± DPR* | |
|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS | AAS-GF | ICP-MS |
| Alumínio | 4185,3 ± 21,3 | 4295,0 ± 18,2 | 3125,5 ± 16,8 | 2881,0 ± 23,6 | 11.015 ± 45,7 | 15.754 ± 43,9 | 12.295± 33,7 | 13.884 ± 31,5 |
| Antimônio | -- | 2,1 ± 0,4 | -- | 0,5 ± 0,7 | -- | 1,1 ± 0,5 | -- | 1,2 ± 0,6 |
| Bário | 2,5 ± 0,6 | 2,7 ± 0,8 | 2,5 ± 0,8 | 2,2 ± 1,3 | 3,1 ± 1,2 | 3,5 ± 1,3 | 5,2 ± 1,4 | 4,8 ± 1,3 |
| Cádmio | 144,0 ± 7,3 | 181,2 ± 9,2 | 144,2 ± 3,3 | 148,8 ± 3,8 | 598,4 ± 9,7 | 565,4 ± 10,6 | 132,0 ± 6,3 | 134,8 ± 5,4 |
| Chumbo | 51,4 ± 5,6 | 49,3 ± 6,4 | 68,2 ± 6,2 | 65,4 ± 4,6 | 148,3 ± 3,6 | 138,3 ± 9,7 | 195,7 ± 3,0 | 155,7 ± 6,1 |
| Cobalto | -- | 2,0 ± 0,2 | -- | 1,8 ± 1,1 | -- | 5,9 ± 2,2 | -- | 10,3 ± 3,3 |
| Cromo | 70,1 ± 11,2 | 72,9 ± 8,4 | 24,4 ± 3,4 | 25,2 ± 5,1 | 64,9 ± 2,5 | 65,8 ± 7,3 | 23,7 ± 9,2 | 24,4 ± 8,4 |
| Estanho | -- | 1,3 ± 0,5 | -- | 1,2 ± 0,5 | -- | 4,5 ± 1,9 | -- | 2,2 ± 0,8 |
| Ferro | 96,6 ± 20,1 | 93,3 ± 12,4 | 615,7 ± 11,0 | 613,7 ± 10,9 | 176,7 ± 6,9 | 171,5 ± 6,2 | 327,7 ± 4,6 | 329,3 ± 3,1 |
| Manganês | 5,9 ± 1,6 | 6,2 ± 1,5 | 4,8 ± 1,2 | 5,4 ± 1,6 | 2,9 ± 1,1 | 2,2 ± 1,0 | 3,6 ± 1,1 | 3,2 ± 1,0 |
| Titânio | -- | 89,2 ± 3,4 | -- | 102,4 ± 4,3 | -- | 61,6 ± 2,3 | -- | 56,2 ± 2,5 |
| Vanádio | -- | 2,9 ± 0,9 | -- | 2,9 ± 0,6 | -- | 3,0 ± 0,9 | -- | 1,5 ± 0,6 |
| Zinco | 74,4 ± 12,4 | 78,4 ± 13,4 | 595,1 ± 12,5 | 594,6 ± 10,6 | 420,6 ± 13,2 | 422,7 ± 8,6 | 478,5 ± 12,5 | 475,6 ± 14,8 |

GV: grande volume, **PV:** pequeno volume, **AT:** ampola transparente, **AA:** ampola âmbar

--: não determinado

DPR: Desvio Padrão Relativo

* n= 3

Os resultados das tabelas 24 e 25 mostram que o procedimento 1 é o mais adequado para a abertura das embalagens de vidro, pois apresentou valores maiores na determinação dos metais.

Apesar de não ser identificada diferença nos ensaios de recuperação entre os dois procedimentos de decomposição, no procedimento 2 não há a decomposição total do vidro, ou seja, sobra um resíduo, observando-se que os metais apresentam valores inferiores aos obtidos no procedimento 1, provavelmente devido à incompleta decomposição do vidro.

Pode-se observar que as embalagens de vidro possuem grandes quantidades de alumínio, cádmio, chumbo, cromo, ferro, titânio e zinco, variando a quantidade de metal com o tipo de embalagem. Apresentam também outros metais como antimônio, bário, cobalto, estanho, manganês e vanádio em concentrações menores até 5,3 µg/g.

4.6.2 – Influência da esterilização na extração de metais das embalagens de vidro

4.6.2.1 – Embalagem de vidro de pequeno volume

Realizou-se esse ensaio para mostrar a contribuição do processo de esterilização na contaminação das soluções com os metais alumínio, cádmio, cromo, chumbo, ferro e zinco selecionados conforme mostra-se no item 3.4.1. Utilizou-se para esse ensaio embalagens de vidro de pequeno volume de 75 mL de capacidade.

A concentração dos metais foi medida antes e após a etapa de esterilização das soluções contendo aminoácidos, glicose e sais.

Como as soluções são preparadas em meio aquoso, realizou-se a esterilização para amostras de água ultra pura para a investigação dos metais anteriormente citados.

A figura 42 mostra os metais extraídos de amostras de água armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume, antes e após o processo de esterilização.

Os resultados foram obtidos a partir da medida da triplicata das amostras (n=3).

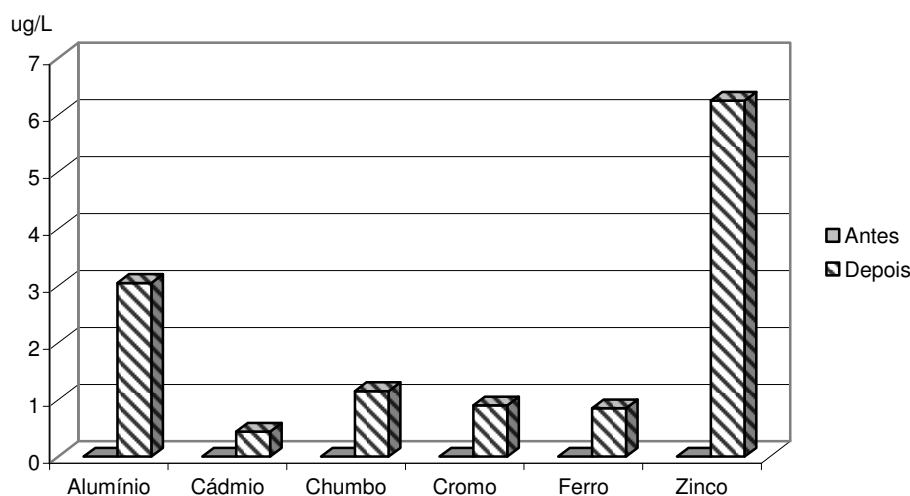


Figura 42 – Concentração dos metais na água antes e depois da esterilização em embalagens de vidro de pequeno volume.

Na figura 42 pode-se observar que houve extração de todos os metais após o processo de esterilização das amostras de água, destacando-se o Zn e Al, mostrando que o processo de esterilização contribui, mesmo que pouco, para a extração dos metais das embalagens.

Nas figuras 43, 44, 45, 46, 47, e 48 estão os resultados da extração de cada um dos metais do estudo pelos aminoácidos e outras substâncias.

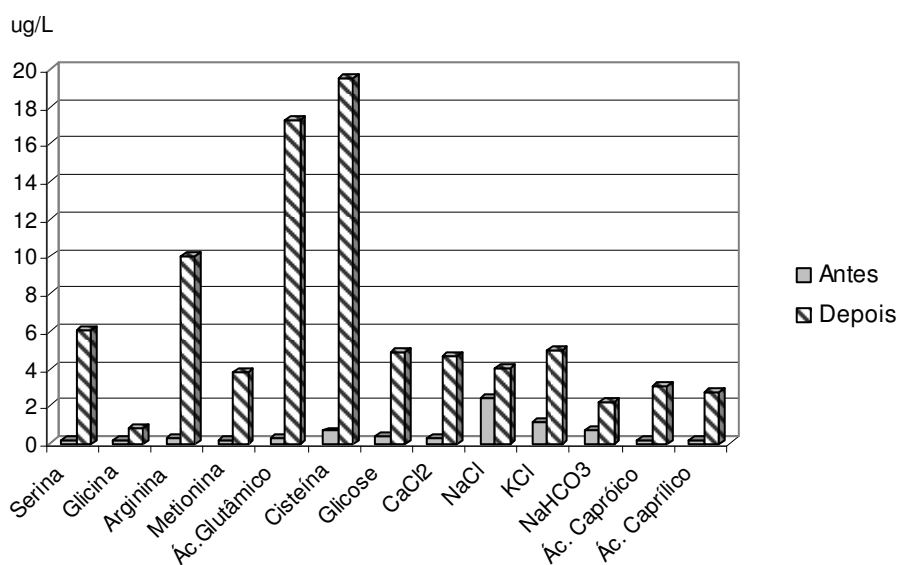


Figura 43 – Concentração de Al nas soluções de substâncias armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume, antes e depois da esterilização.

Após o processo de esterilização houve um aumento da concentração de Al nas soluções. As soluções que apresentaram as maiores extrações foram cisteína, ácido glutâmico e arginina. As demais soluções extraíram em torno de 5 ppb de Al.

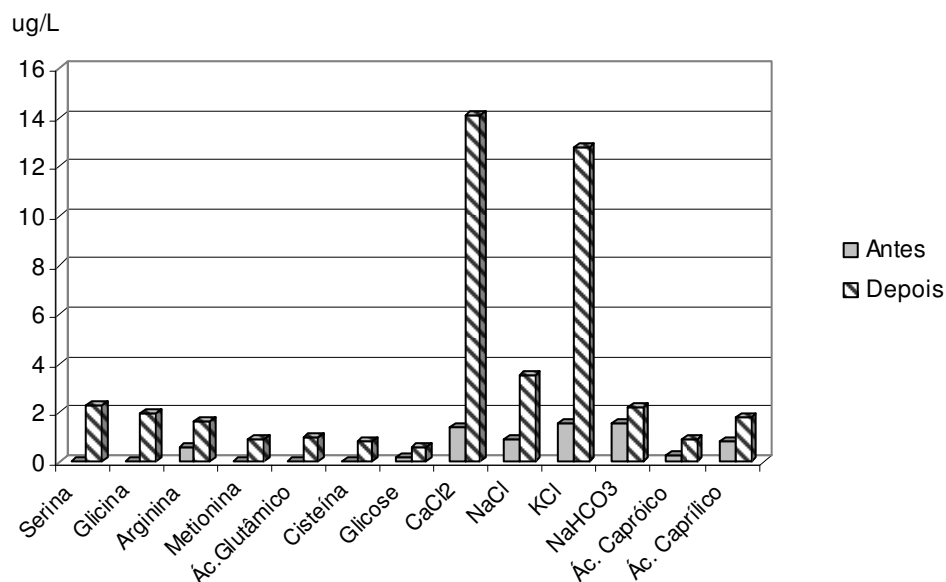


Figura 44 – Concentração de Cd nas soluções de substâncias armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume, antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 44 que o processo de esterilização teve pouca influência na extração de Cd das embalagens pela ação das soluções. Destacou-se na extração, as soluções de cloreto de cálcio e potássio com extração de aproximadamente 14 $\mu\text{g/L}$, as demais extraíram cerca de 2 $\mu\text{g/L}$.

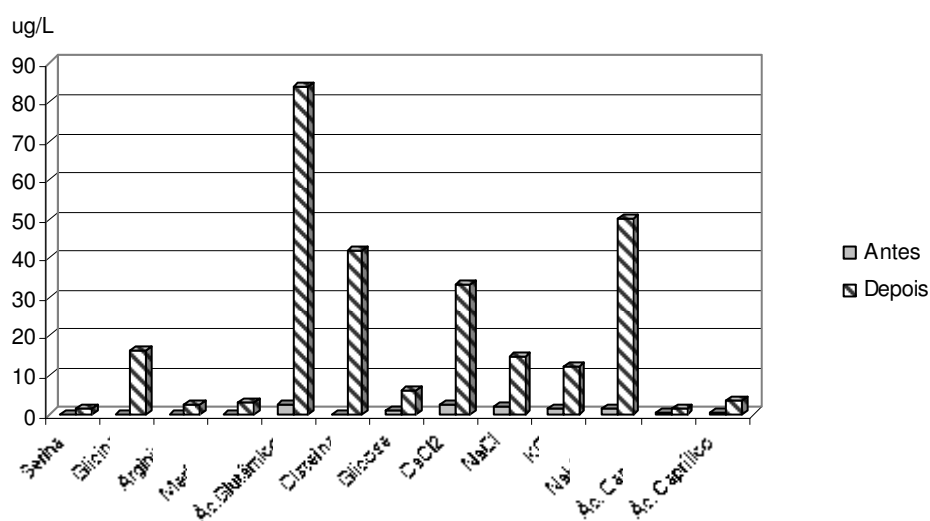


Figura 45 – Concentração de Pb nas soluções de substâncias armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume, antes e depois da esterilização

Observa-se na figura 45 que a maioria das soluções sofreu pouca influência do processo de esterilização na lixiviação do Pb para a solução. As soluções que extraíram as maiores quantidades de Pb foram o ácido glutâmico, bicarbonato de sódio, cisteína e cloreto de cálcio. A maioria extraiu cerca de 5 $\mu\text{g/L}$ de Pb.

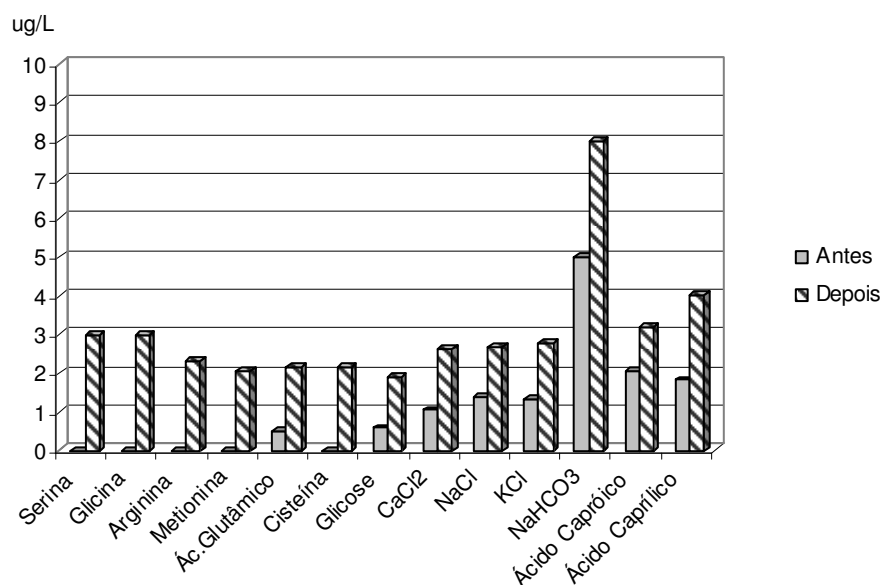


Figura 46 – Concentração de Cr nas soluções de substâncias armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume, antes e depois da esterilização.

O processo de esterilização não apresentou uma influencia significativa na extração do Cr da embalagem pelas soluções. A solução que apresentou o maior aumento na extração de Cr foi o bicarbonato de sódio. As demais extraíram em torno de 2 $\mu\text{g/L}$ de Cr.

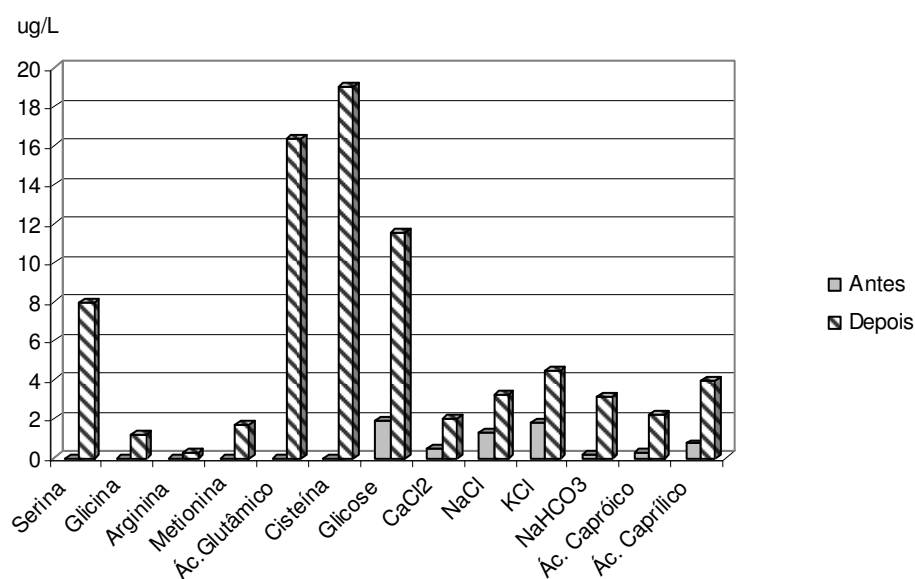


Figura 47 – Concentração de Fe nas soluções armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume, antes e depois da esterilização.

As soluções que extraíram as maiores quantidades de Fe das embalagens foram a cisteína, ácido glutâmico e glicose. As demais soluções extraíram cerca de 10 µg/L de Fe.

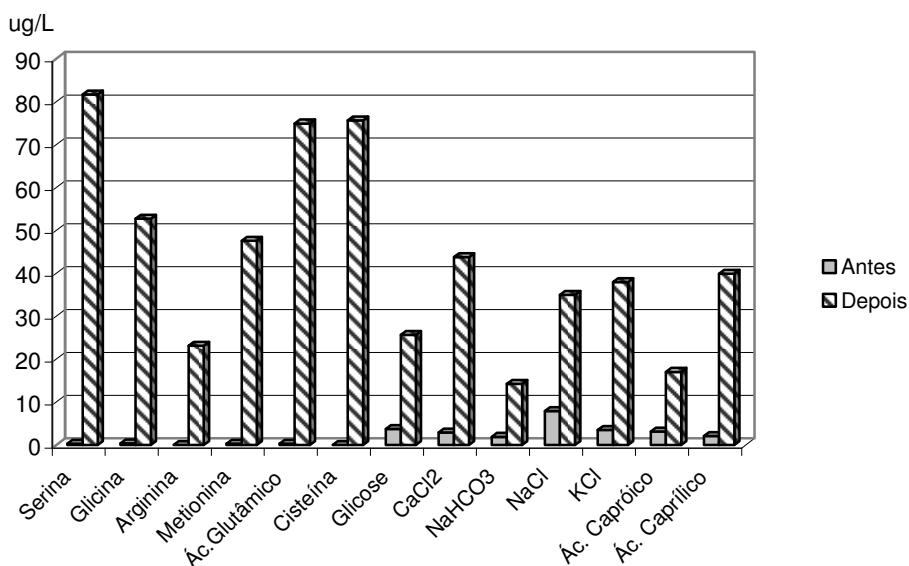


Figura 48 – Concentração de Zn em embalagens de vidro de pequeno volume, antes e depois da esterilização.

Observa-se, na figura 48, que o comportamento de extração de Zn é semelhante para a maioria das soluções. Destaca-se a serina, o ácido glutâmico e a cisteína seguidas pela glicina, metionina, cloreto de cálcio e ácido caprílico, que extraíram cerca de 40 µg/L de Zn das embalagens de pequeno volume.

4.6.2.2 – Embalagem de vidro de grande volume

Realizou-se esse ensaio para mostrar a contribuição do processo de esterilização na contaminação das soluções pelos metais alumínio, cádmio, cromo, chumbo, ferro e zinco. Utilizou-se para esse ensaio embalagens de vidro de grande volume de 500 mL de capacidade.

A concentração dos metais foi determinada antes e após a etapa de esterilização das soluções contendo aminoácidos, glicose, sais entre outras substâncias.

Como as soluções são preparadas em meio aquoso, realizou-se a esterilização para amostras de água pura para a investigação dos metais anteriormente citados.

A figura 49 mostra os metais extraídos de amostras de água armazenadas em embalagens de vidro de grande volume, antes e após o processo de esterilização.

Os resultados foram obtidos a partir da medida da triplicata das amostras (n=3).

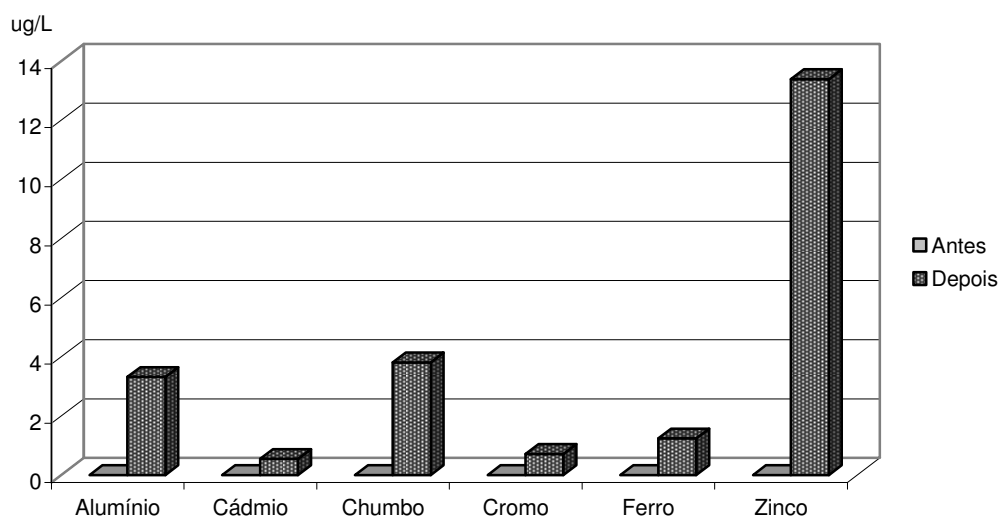


Figura 49 – Concentração dos metais na água antes e depois da esterilização em embalagens de vidro de grande volume.

Com a figura 49 pode-se observar extração de todos os metais após o processo de esterilização das amostras de água ultra pura, destaca-se o Zn, Pb e Al, mostrando que o processo de esterilização contribui, mesmo que pouco, para os elementos como Cd, Cr e Fe, para a lixiviação dos metais das embalagens.

Nas figuras 50, 51, 52, 53, 54, e 55 estão os resultados da extração de cada um dos metais do estudo pelos aminoácidos e outras substâncias.

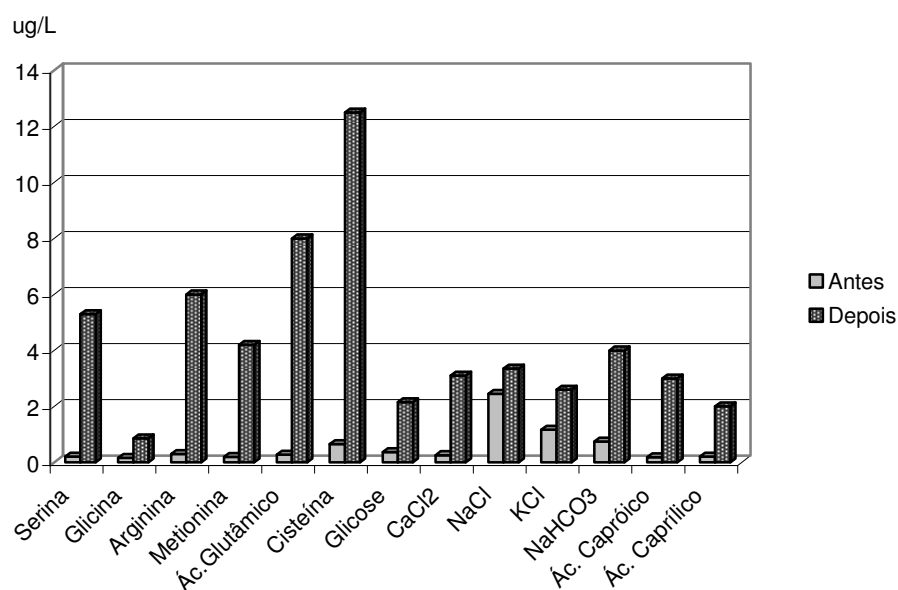


Figura 50 – Concentração de Al em embalagens de vidro de grande volume, antes e depois da esterilização.

Observa-se, na figura 50, que as soluções de cisteína, ácido glutâmico e arginina extraíram mais Al das embalagens. As demais soluções extraíram cerca de 5 µg/L de Al.

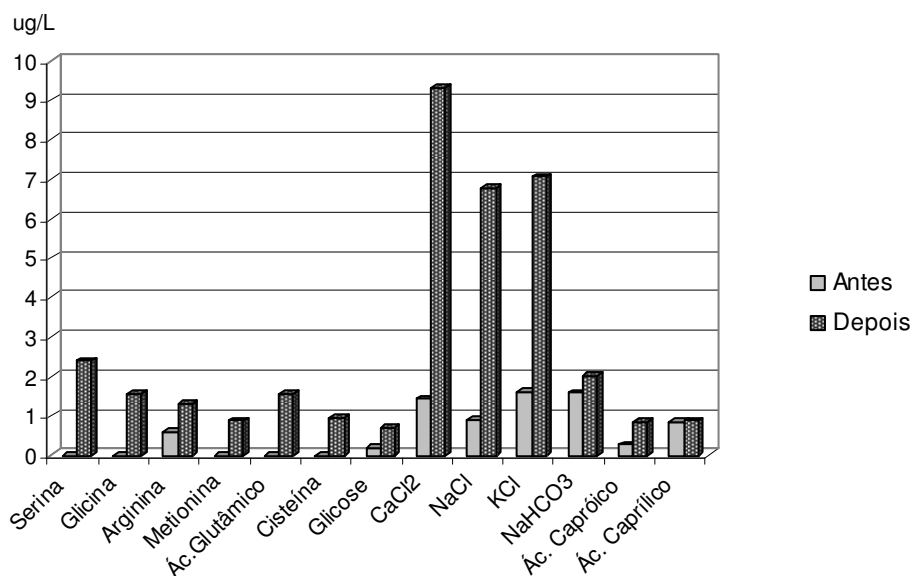


Figura 51 – Concentração de Cd em embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização.

Na figura 51 observa-se que as soluções de cloreto de cálcio, cloreto potássio e cloreto de sódio apresentaram as maiores extrações de Cd das embalagens. As outras soluções tiveram um comportamento semelhante, extraíndo 3 µg/L.

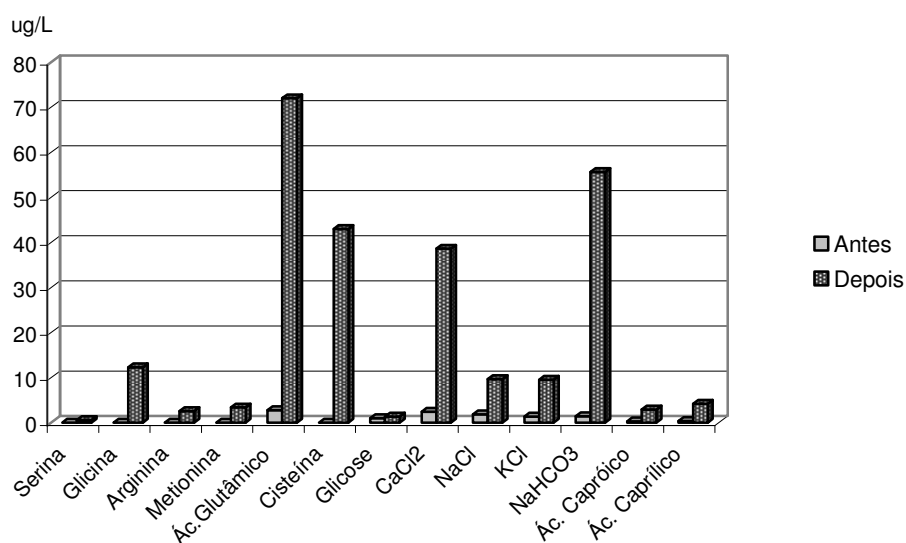


Figura 52 – Concentração de Pb em embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 52 que as soluções que extraíram as maiores quantidades de Pb das embalagens foram ácido glutâmico, bicarbonato de sódio, cisteína e cloreto de cálcio. As outras soluções sofreram pouca influência do processo de esterilização extraíndo no máximo 10 µg/L de Pb.

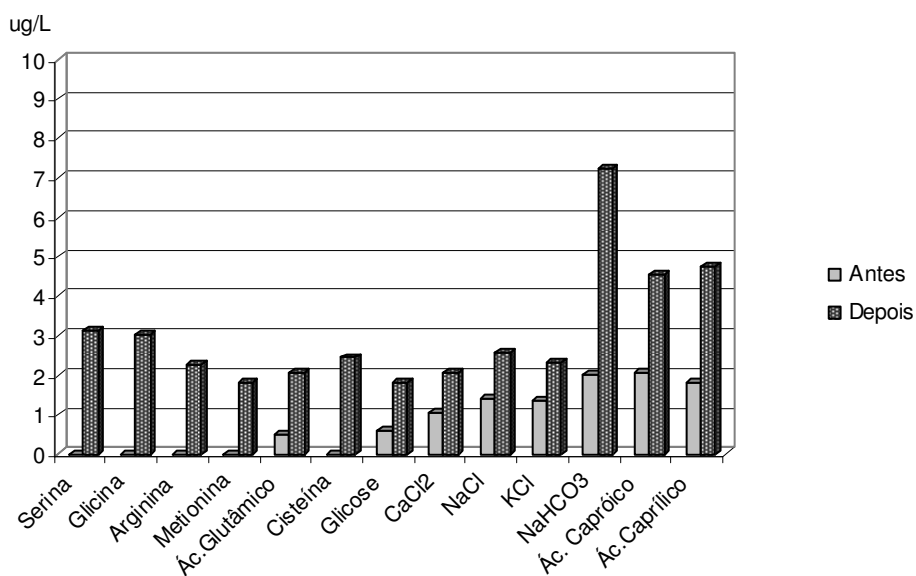


Figura 53 – Concentração de Cr nas embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 53 que o processo de esterilização não influencia na extração de Cr das embalagens de vidro. Destaca-se apenas o bicarbonato de sódio, extraíndo 7,5 $\mu\text{g/L}$ de Cr. Os demais extraíram no máximo 4 $\mu\text{g/L}$.

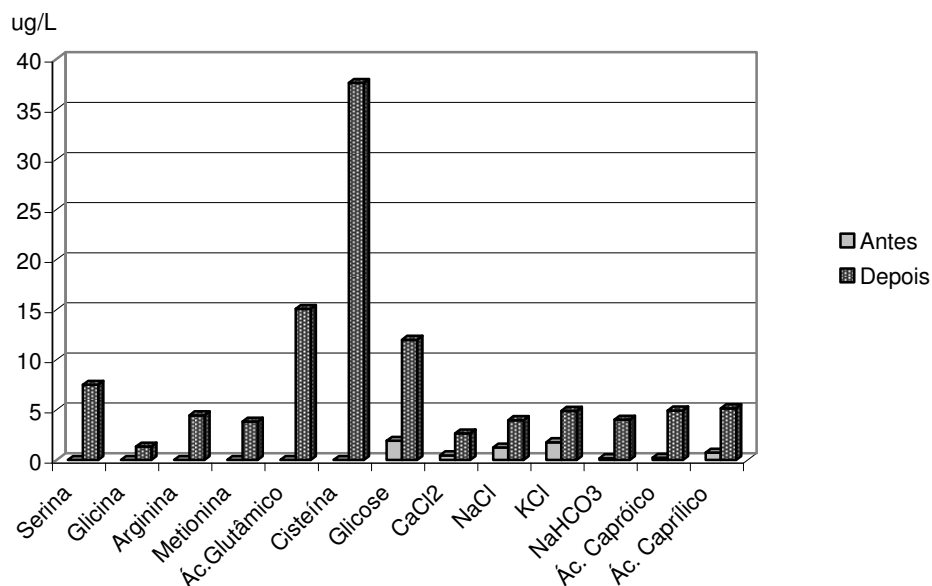


Figura 54 – Concentração de Fe nas embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização.

Na figura 54 estão os resultados da extração de ferro após a esterilização das soluções. Observa-se na figura que a esterilização influencia pouco na extração do Fe das embalagens para as soluções. As soluções que extraem a maior quantidade de Fe são cisteína, ácido glutâmico e glicose. As demais extraem em torno de 5 $\mu\text{g/L}$.

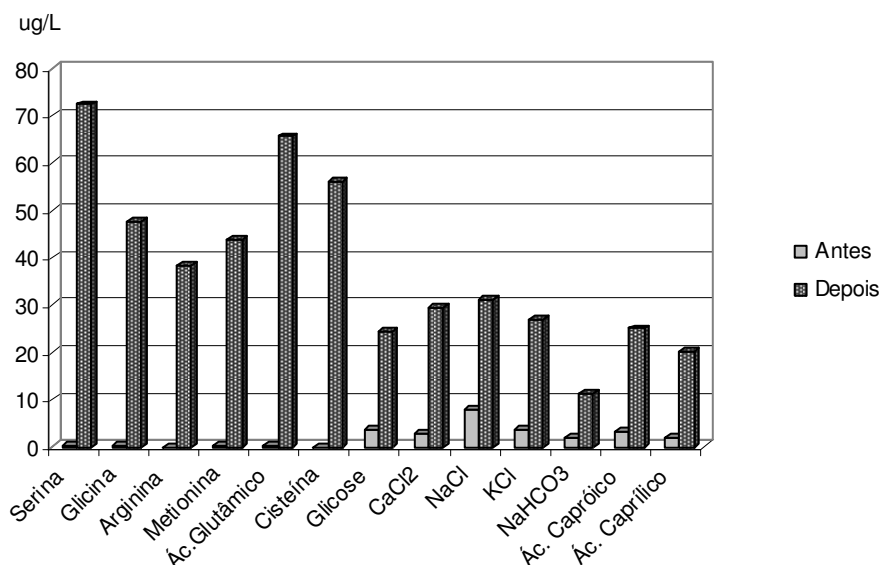


Figura 55 – Concentração de Zn nas embalagens de vidro de grande volume antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 55 que todas as soluções extraem Zn das embalagens. As soluções que mais extraíram foram serina, ácido glutâmico, cisteína, glicina seguidas da metionina e arginina. A solução de bicarbonato de sódio foi a que extraiu a menor quantidade de Zn, 10 µg/L.

4.6.2.3 – Ampolas de vidro âmbar

Realizou-se esse ensaio para mostrar a contribuição do processo de esterilização na contaminação das soluções pelos metais alumínio, cádmio, cromo, chumbo, ferro e zinco. Utilizou-se para esse ensaio ampolas de vidro âmbar de 10 mL de capacidade.

A concentração dos metais foi realizada antes e após a etapa de esterilização das soluções contendo aminoácidos, glicose, sais entre outras substâncias.

Como as soluções são preparadas em meio aquoso, realizou-se a esterilização para amostras de água ultra pura para a investigação dos metais anteriormente citados.

A figura 55 mostra os metais extraídos de amostras de água armazenadas em ampolas de vidro âmbar, antes e após o processo de esterilização.

Os resultados foram obtidos a partir da medida da triplicata das amostras (n=3).

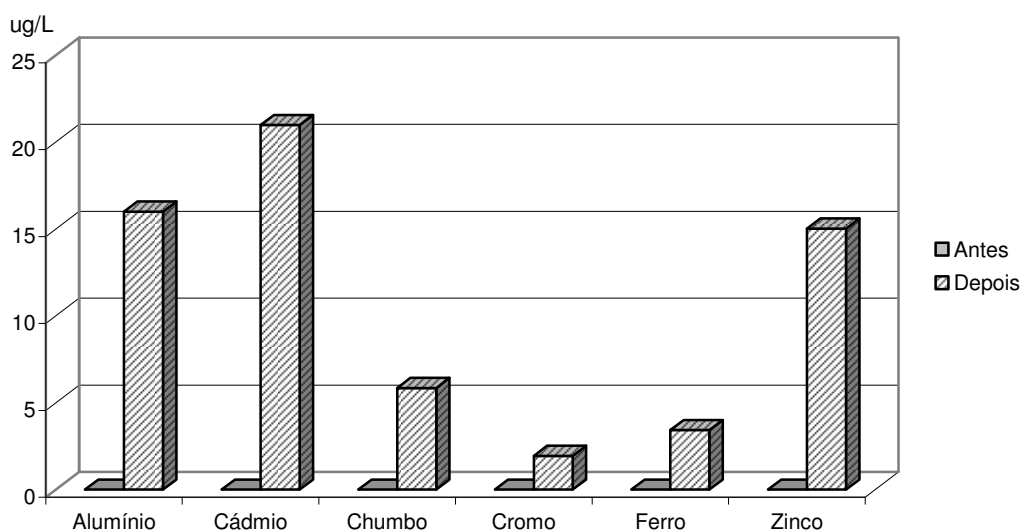


Figura 56 – Concentração dos metais na água antes e depois da esterilização em ampolas de vidro âmbar.

Na figura 56 pode-se observar que houve extração de todos os metais após o processo de esterilização das amostras de água ultra pura. Destacando-se o cádmio, zinco, alumínio e chumbo. Evidenciando assim que o processo de esterilização contribui para a extração dos metais das embalagens.

Nas figuras 57, 58, 59, 60, 61, e 62 estão os resultados da extração de cada um dos metais do estudo pelos aminoácidos, glicose, cloreto de sódio e cloreto de potássio.

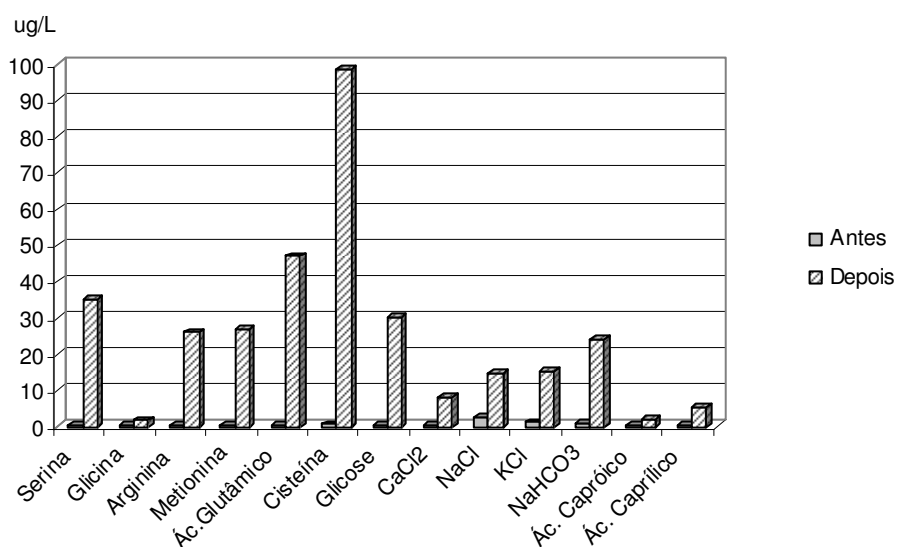


Figura 57 – Concentração de Al nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização.

Na figura 57 pode-se observar que o processo de esterilização influencia no aumento da lixiviação do Al para a solução. As soluções que extraíram a maior quantidade de Al das ampolas âmbar foram a cisteína e o ácido glutâmico. As demais extraíram em torno de 10 $\mu\text{g/L}$.

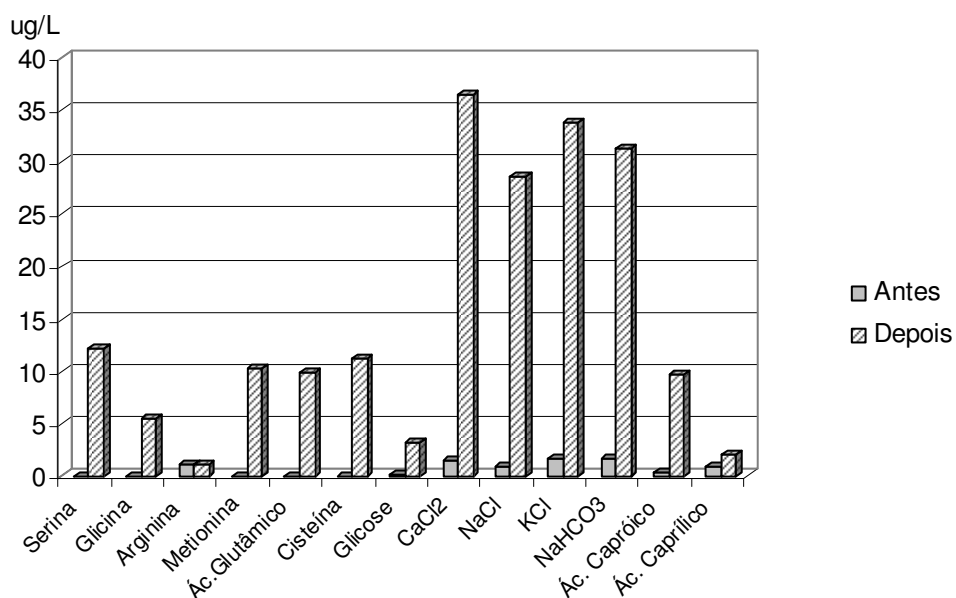


Figura 58 – Concentração de Cd nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização.

Observa-se, na figura 58, que as soluções que extraíram as maiores quantidades de Cd das embalagens foram cloreto de cálcio e cloreto de potássio, seguidas das soluções de bicarbonato de sódio e cloreto de sódio. As demais também extraíram o metal, porém em quantidades menores.

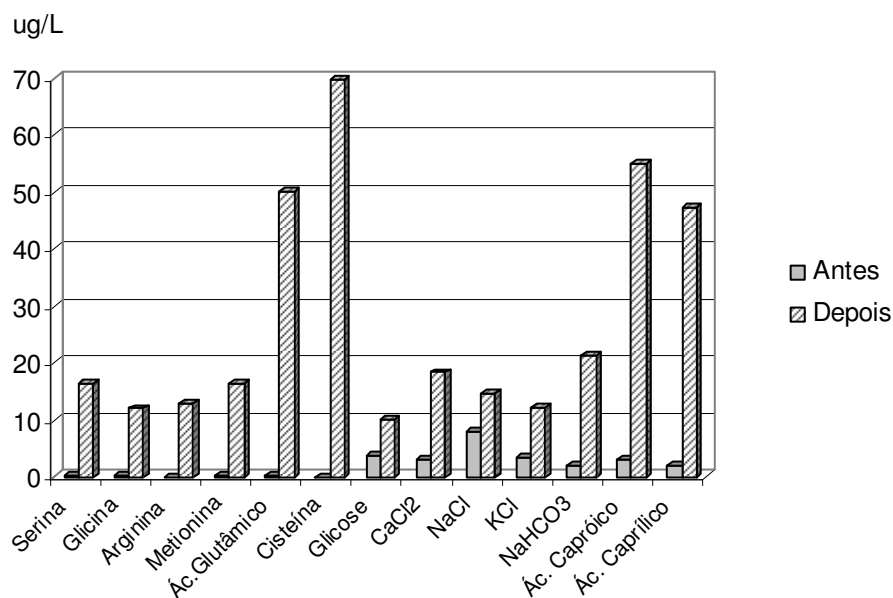


Figura 59 – Concentração de Pb nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 59 que as soluções de cisteína, ácido caprílico, ácido glutâmico e ácido caprílico extraíram as maiores quantidades de Pb das ampolas. As outras soluções extraíram em quantidades menores de Pb entre 10 e 30 µg/L.

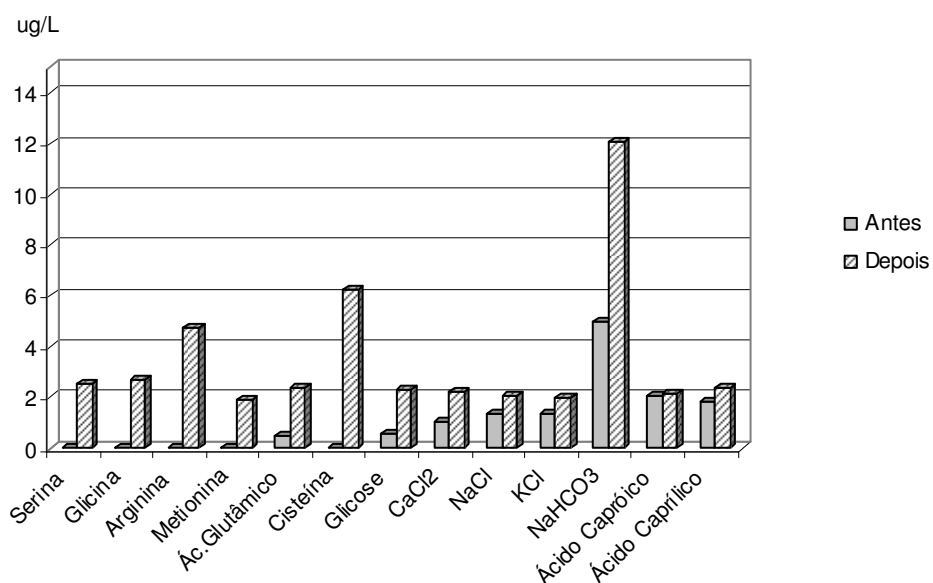


Figura 60 – Concentração de Cr nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 60 que o processo de esterilização não influenciou significativamente na extração do Cr da embalagem. A solução de bicarbonato de sódio apresentou uma maior da extração de Cr (12 $\mu\text{g/L}$). As demais soluções extraíram em média 3 $\mu\text{g/L}$ de Cr.

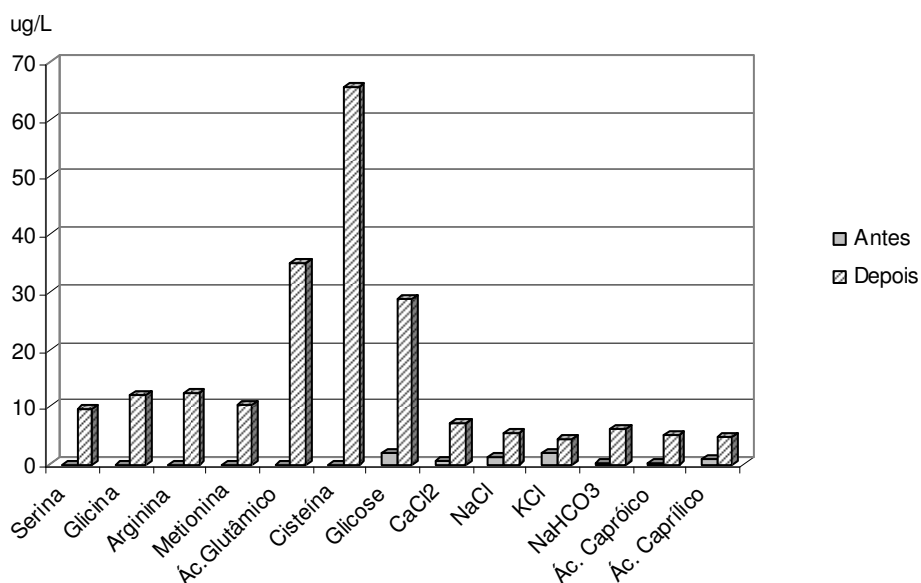


Figura 61 – Concentração de Fe nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 61 que todas as soluções extraíram Fe das embalagens. As soluções que mais extraíram o metal foram cisteína, ácido glutâmico e glicose. As soluções que menos extraíram Fe das embalagens foram cloreto de sódio, cloreto de potássio e ácido caprílico.

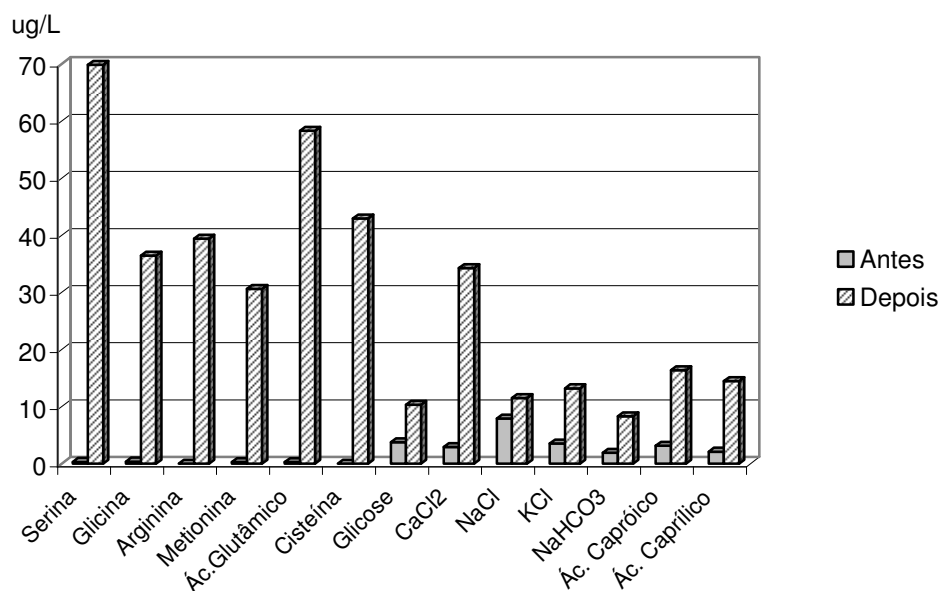


Figura 62 – Concentração de Zn nas ampolas de vidro âmbar antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 62 um comportamento semelhante na extração de Zn das embalagens. As soluções que apresentaram uma extração maior foram serina, ácido glutâmico, cisteína, arginina, glicina, cloreto de cálcio e metionina. As soluções que menos extraíram Zn das embalagens foram glicose e bicarbonato de sódio em torno de 10 µg/L.

4.6.2.4 – Ampolas de vidro transparentes

Realizou-se esse ensaio para mostrar a contribuição do processo de esterilização na contaminação das soluções pelos metais tais como Al, Cd, Cr, Pb,

Fe e Zn. Utilizou-se para esse ensaio ampolas de vidro transparentes de 10 mL de capacidade.

A concentração dos metais foi determinada antes e após a etapa de esterilização das soluções contendo aminoácidos, glicose, sais entre outras substâncias.

Como as soluções são preparadas em meio aquoso, realizou-se a esterilização para amostras de água ultra pura para a investigação dos metais anteriormente citados.

A figura 63 mostra os metais extraídos de amostras de água armazenadas em embalagens de vidro de pequeno volume, antes e após o processo de esterilização.

Os resultados foram obtidos a partir da medida da triplicata das amostras (n=3).

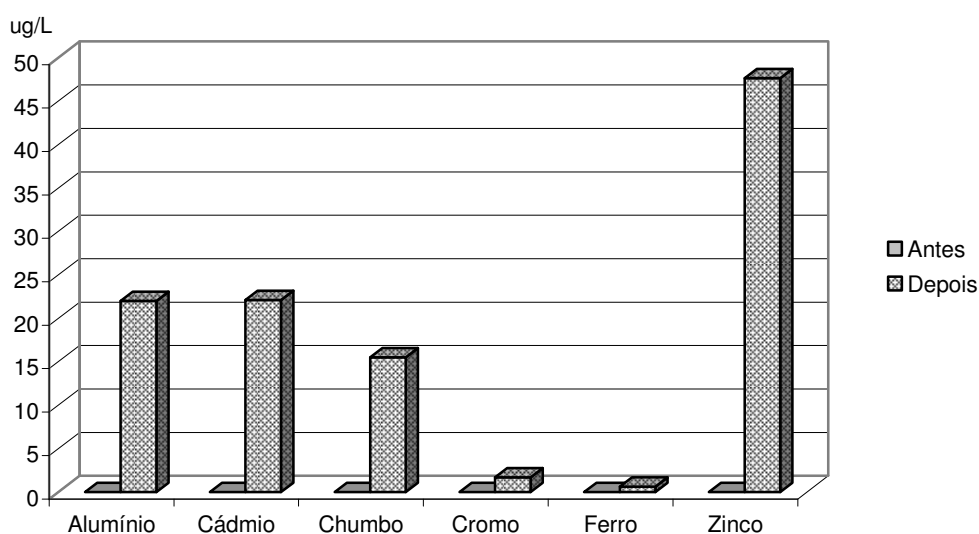


Figura 63 – Concentração dos metais na água antes e depois da esterilização em ampolas de vidro transparente.

Na figura 63 pode-se observar que houve um aumento para todos os metais após o processo de esterilização das amostras de água. Destacando-se o Zn, Al, Cd e Pb. Evidenciando assim que o processo de esterilização contribui para a extração dos metais das embalagens. Os elementos Cr e Fe apresentaram uma extração baixa.

Nas figuras 64, 65, 66, 67, 68, e 69 estão os resultados da extração de cada um dos metais do estudo pelos aminoácidos e outras substâncias.

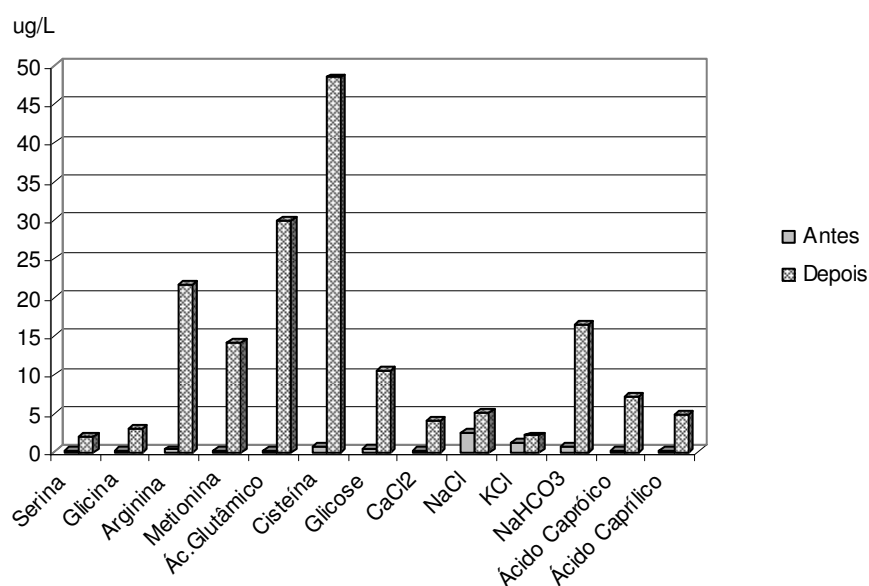


Figura 64 – Concentração de Al nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 64 que a esterilização influencia na extração de Al da embalagem para algumas soluções. Dentre elas temos cisteína, ácido glutâmico e arginina. As soluções que extraíram quantidades muito baixas de Al foram serina, glicina e cloreto de potássio em média 2,5 $\mu\text{g/L}$.

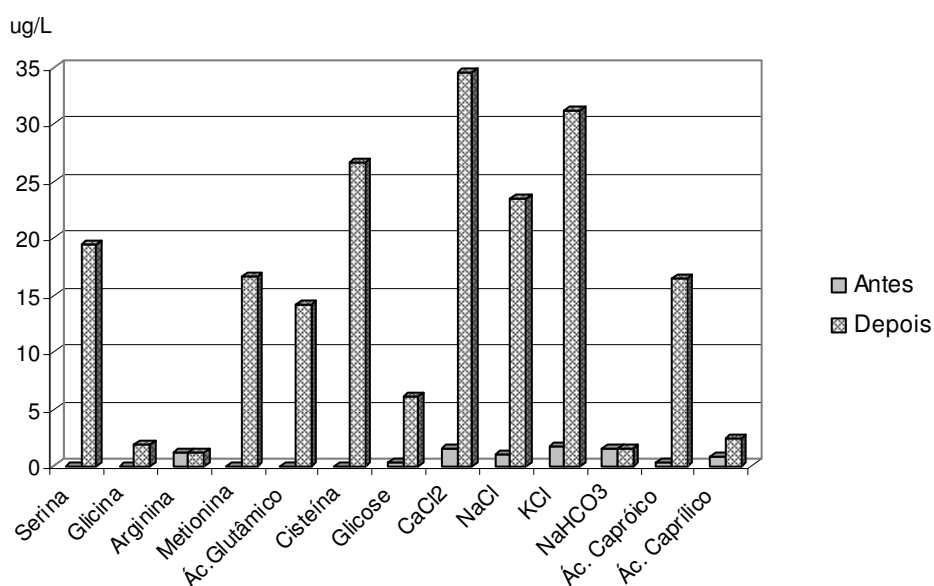


Figura 65 – Concentração de Cd nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização.

Na figura 65 pode-se perceber que as soluções que extraíram as maiores quantidades de Cd das embalagens foram cloreto de cálcio, cisteína, cloreto de potássio seguidas de cloreto de sódio, serina, metionina e ácido capróico. As soluções que extraíram as menores quantidades foram glicina, arginina, bicarbonato de sódio e ácido caprílico em torno de 3 µg/L.

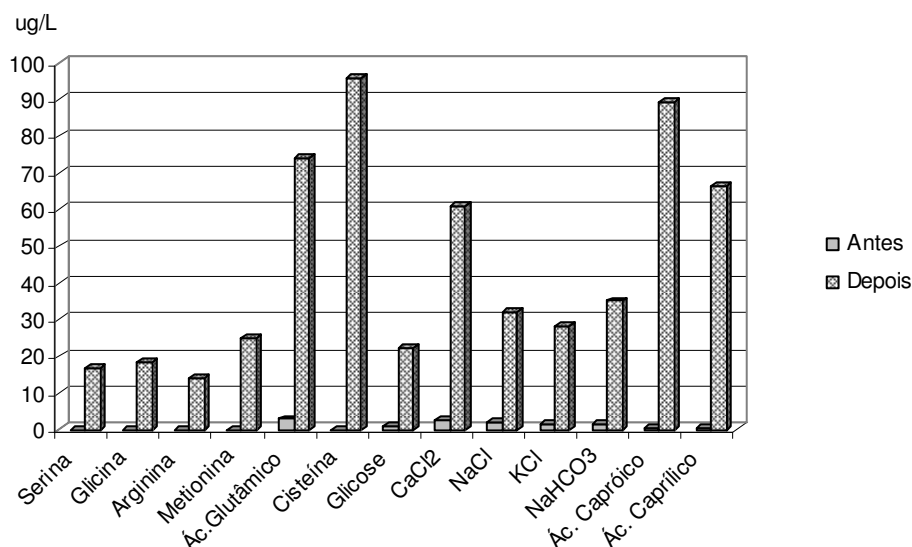


Figura 66 – Concentração de Pb nas ampolas de transparentes antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 66 que a esterilização influencia na extração de Pb das embalagens para a maioria das soluções. Entre as soluções que extraíram a maior quantidade de chumbo temos cisteína, ácido capróico, ácido glutâmico, ácido caprílico e cloreto de cálcio. As soluções que menos extraíram Pb foram arginina, serina e glicina.

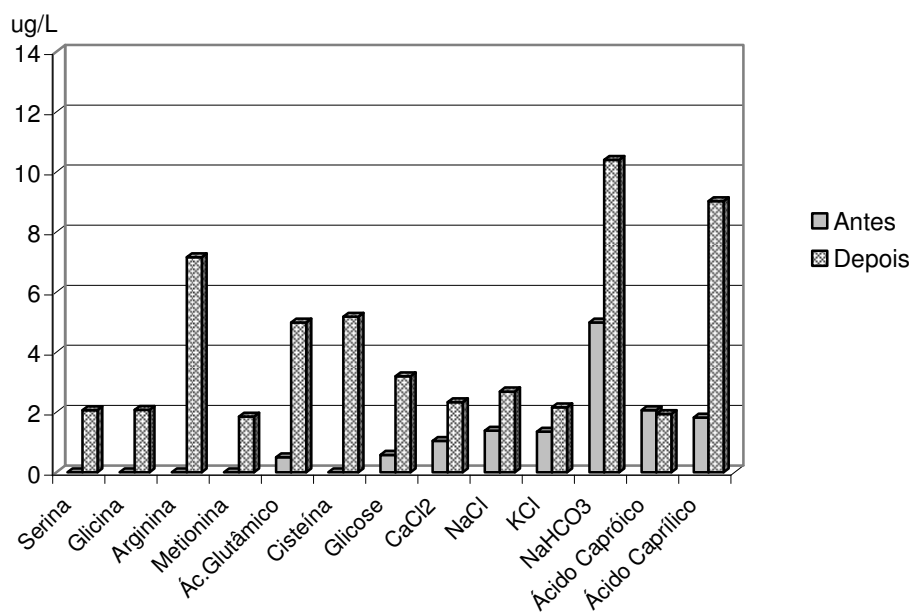


Figura 67 – Concentração de Cr nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização.

Semelhante aos outros tipos de embalagem, a esterilização não influencia na extração de Cr das embalagens. A solução de bicarbonato de sódio e ácido caprílico apresentam uma extração maior de Cr da embalagem. A maioria das soluções extraem aproximadamente 3 $\mu\text{g/L}$ de Cr.

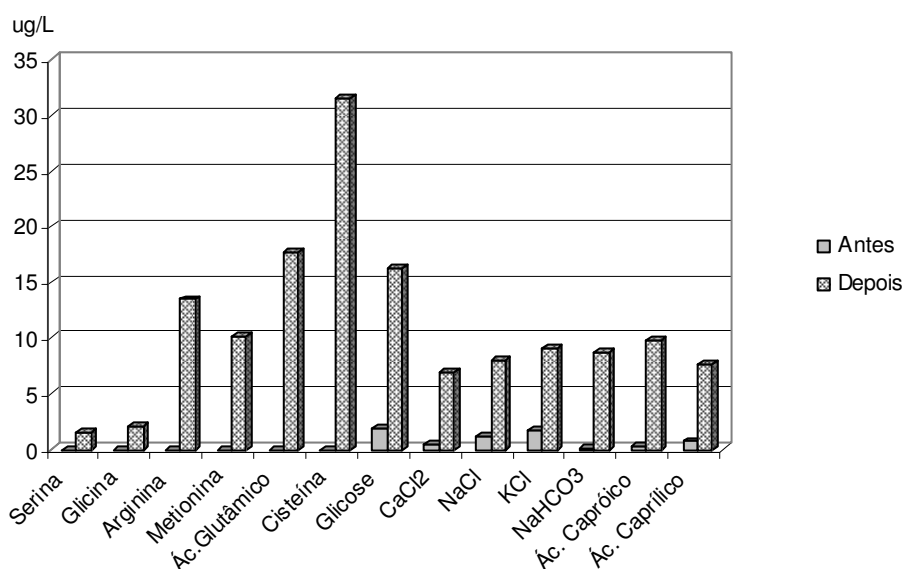


Figura 68 – Concentração de Fe nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização.

Observa-se na figura 68 que as soluções que extraíram em maiores quantidades Fe, foram cisteína, ácido glutâmico, glicose e arginina. As soluções que extraíram as menores quantidades de Fe foram a serina e a glicina 3 µg/L.

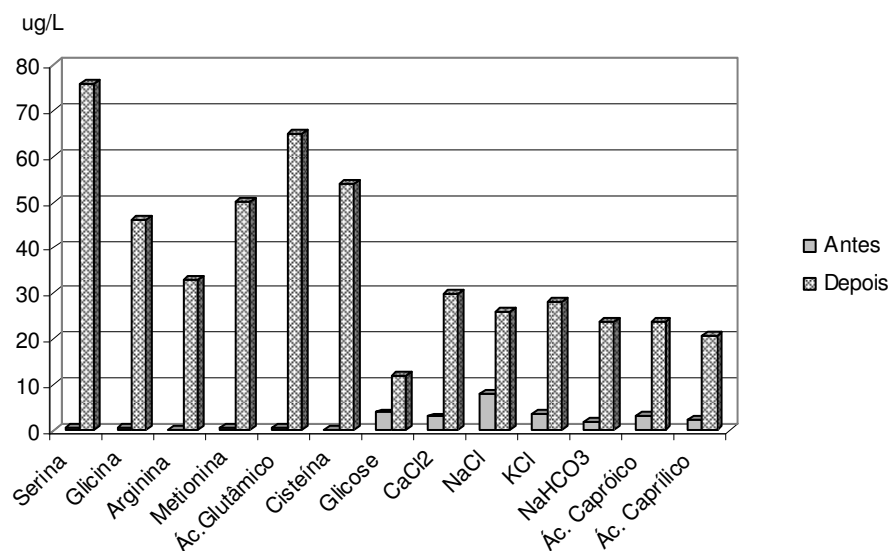


Figura 69 – Concentração de Zn nas ampolas de vidro transparentes antes e depois da esterilização

Observa-se, na figura 69, que a extração de Zn apresentou um comportamento semelhante em todos os tipos de embalagens. Destacando-se as soluções de serina, ácido glutâmico, cisteína, metionina, glicina seguidas das soluções de arginina e cloreto de cálcio. As demais extraíram em torno de 30 µg/L de Zn. A solução que menos extraiu Zn foi a glicose.

4.7 – Conclusões: Embalagens de vidro X Esterilização

Sem dúvida o zinco foi o elemento mais extraído do vidro, com uma concentração média em torno de 30 µg/L, muito mais elevada do que todos os outros metais. Apesar do zinco estar presente no vidro numa concentração aproximada de 0,06%, menor do que o alumínio (~0,6%) e o ferro (0,1%) (tabela 42), foi o elemento que sofreu a maior interação com as soluções durante a esterilização.

Não há na literatura dados que permitam avaliar a forma como o zinco se liga à estrutura de silicato do vidro. A forma mais provável seria não como um formador de rede como a sílica, mas como um modificador de rede, ligado eletrostaticamente à um oxigênio terminal [SHELBY, 1997].

Se esta é a forma como o zinco está presente na estrutura do vidro, ele, através de um processo simples de troca iônica pode ser removido para a solução.

4.8 – Estudo para verificar o efeito do tempo de armazenagem

A validade das soluções para NP é geralmente de 2 anos. Durante este tempo, os produtos ficam armazenados, em temperatura ambiente e sob abrigo da luz. Nestas condições, entretanto, o contato da solução com a embalagem permanece, e se o processo de extração existe, ele pode continuar ocorrendo durante o tempo de prateleira do produto. Para verificar a possibilidade da extração dos metais durante o armazenamento das soluções, envasou-se as soluções em estudo nas suas respectivas embalagens, e estas foram armazenadas em temperatura ambiente e na ausência de luz. Alíquotas das soluções foram retiradas periodicamente das embalagens durante o período de 90 dias e os metais foram determinados nestas alíquotas.

Neste ensaio soluções de aminoácidos, sais e outras substâncias empregadas no preparo das soluções parenterais foram armazenadas em embalagens de vidro de pequeno e grande volume, ampolas transparentes e âmbar.

4.8.1 – Embalagens de pequeno volume

Armazenou-se individualmente soluções de 6 aminoácidos, sais, glicose, vitaminas, lecitina de soja, carnitina, ácido caprílico e ácido caprótico e determinou-se a quantidade dos metais em estudo. A quantidade dos metais das soluções foi determinada ao longo do tempo retirando-se alíquotas durante o período de 90 dias e de 225 dias para as soluções de vitaminas. As vitaminas foram armazenadas apenas em embalagens de pequeno volume, já que comercialmente estas são armazenadas em frascos de vidro de pequeno volume.

No Apêndice 3 estão os resultados expressos em μg do metal/g de substância, relacionando a concentração utilizada das substâncias.

Nas figuras 70, 71, 72, 73, 74 e 75 estão os resultados da extração do Al, Cd, Pb, Cr, Fe e Zn pelas soluções em $\mu\text{g/L}$. Neste ensaio, as soluções foram preparadas nas concentrações em que são comumente comercializados.

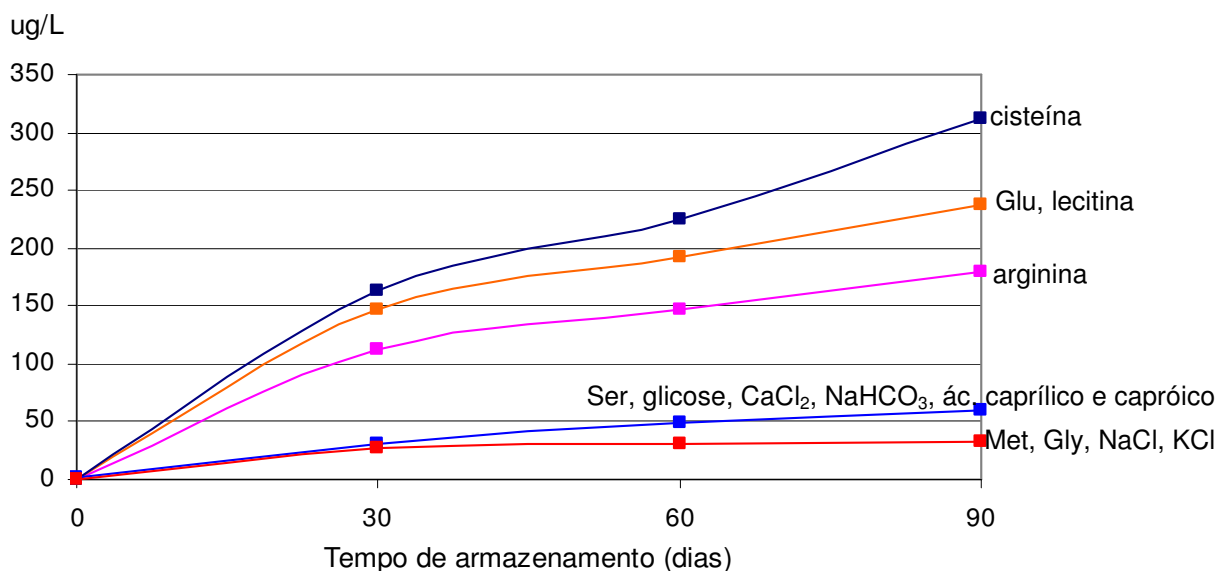


Figura 70 – Al extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 70 pode-se observar que os aminoácidos cisteína, ácido glutâmico, lecitina e arginina extraíram as maiores quantidades de Al dos frascos de vidro de pequeno volume. As demais soluções apresentaram comportamento semelhante

extraído entre 30 e 50 $\mu\text{g/L}$ de Al. Ao comparar os resultados da figura 70 com os resultados em $\mu\text{g/g}$, percebe-se que as soluções de cisteína e ácido glutâmico extraíram as maiores quantidades de Al das embalagens, semelhante aos resultados em $\mu\text{g/L}$.

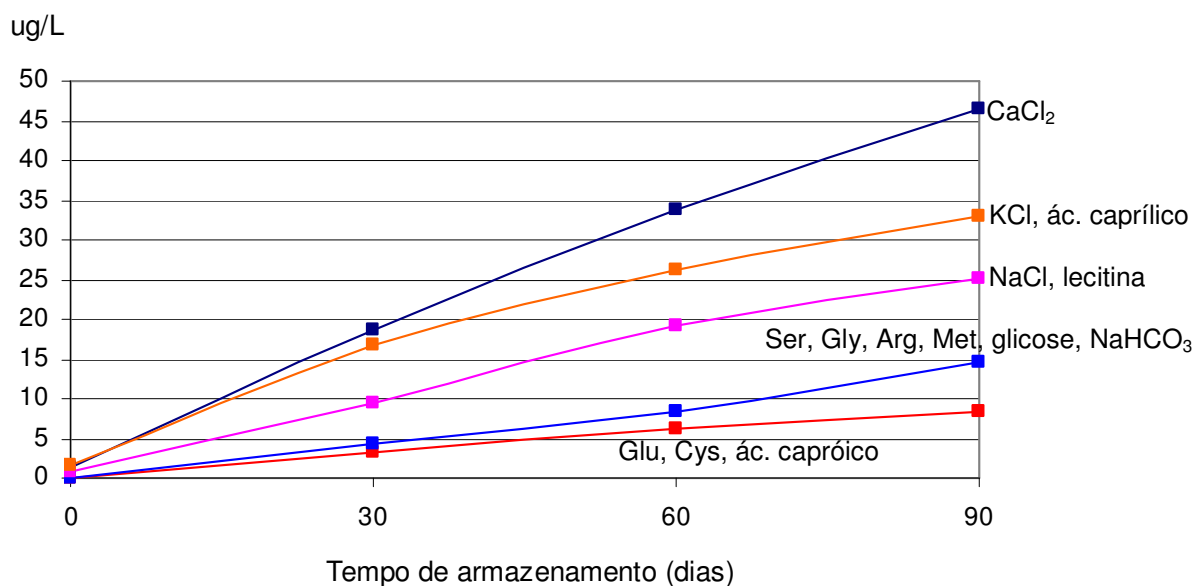


Figura 71 – Cd extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Observa-se na figura 71 que as soluções de cloreto de cálcio, cloreto de potássio ácido caprílico, cloreto de sódio e lecitina de soja extraíram as maiores quantidades de Cd das embalagens, semelhante aos resultados encontrados na esterilização das mesmas. As soluções que extraíram as menores quantidades de Cd foram ácido glutâmico, cisteína e ácido caprílico ($\sim 5 \mu\text{g/L}$). As soluções que extraíram a maior quantidade de Cd, quando os resultados foram expressos em $\mu\text{g/g}$, foram ácido caprílico e ácido caprílico, mostrando assim que a concentração das substâncias não influencia na extração dos metais.

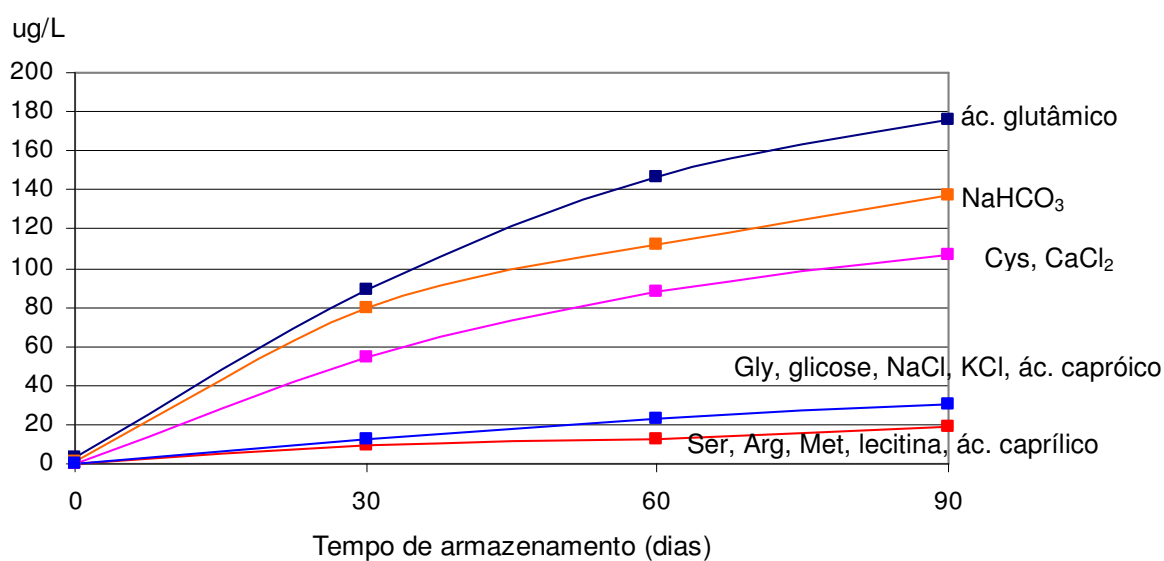


Figura 72 – Pb extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Observa-se na figura 72, que todas as soluções extraíram Pb das embalagens, as soluções de ácido glutâmico e bicarbonato de sódio extraíram as maiores quantidades de Pb (~180 µg/L) e as soluções de serina, arginina, metionina, lecitina e ácido caprílico extraíram as menores quantidades de Pb (~20 µg/L). No Apêndice 3, observa-se que as soluções de cisteína e ácido glutâmico extraíram as maiores quantidades de Pb das embalagens em relação à concentração das substâncias.

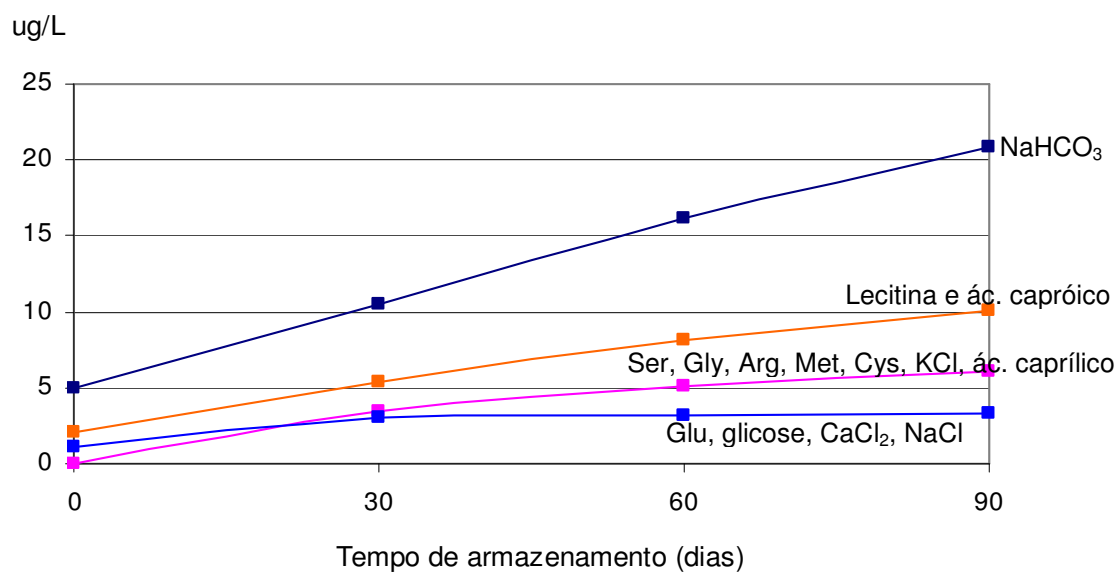


Figura 73 – Cr extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 73 observa-se que dos metais extraídos das embalagens o Cr apresentou as menores quantidades extraídas. Semelhante a esterilização, a solução que extraiu a maior quantidade de Cr foi o bicarbonato de sódio. As demais soluções extraíram quantidades menores entre 4 e 10 µg/L de Cr. As soluções que mais extraíram Cr, considerando a concentração das substâncias, foram o ácido caprílico e caprílico, diferente dos resultados em µg/L.

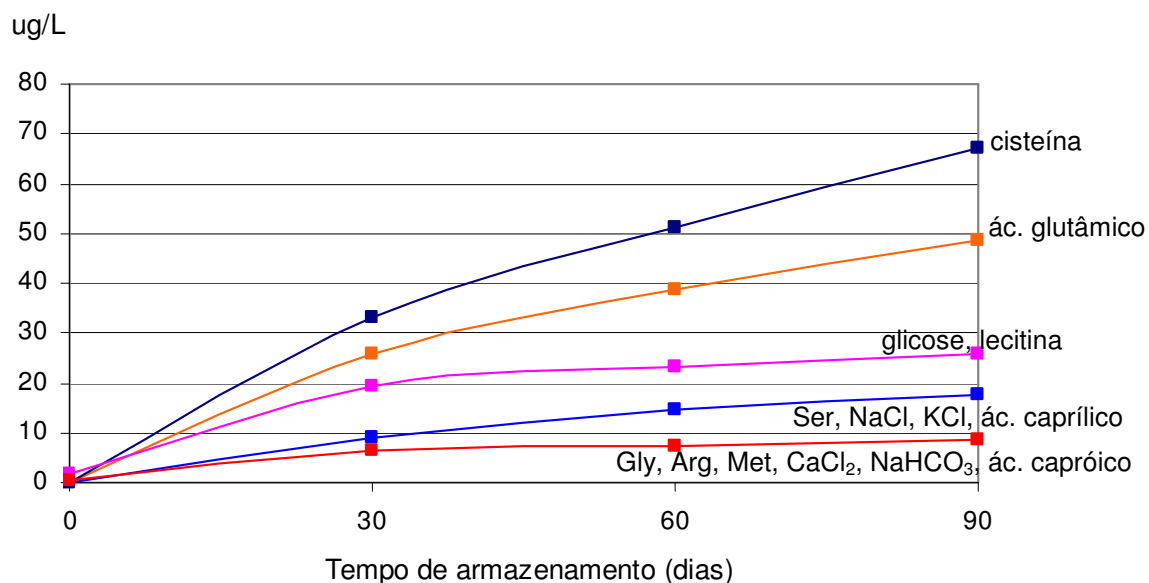


Figura 74 – Fe extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 74 observa-se que semelhante à esterilização, as soluções que extraíram as maiores quantidades de Fe foram cisteína e ácido glutâmico. As soluções que extraíram as menores quantidades de Fe foram glicina, arginina, metionina, cloreto de cálcio, bicarbonato de sódio e ácido caprílico (~10 µg/L). As soluções que extraíram a maior quantidade de Fe, considerando a concentração das soluções, foram cisteína e ácido glutâmico, mostrando que a concentração das substâncias pode influenciar na extração de Fe das embalagens.

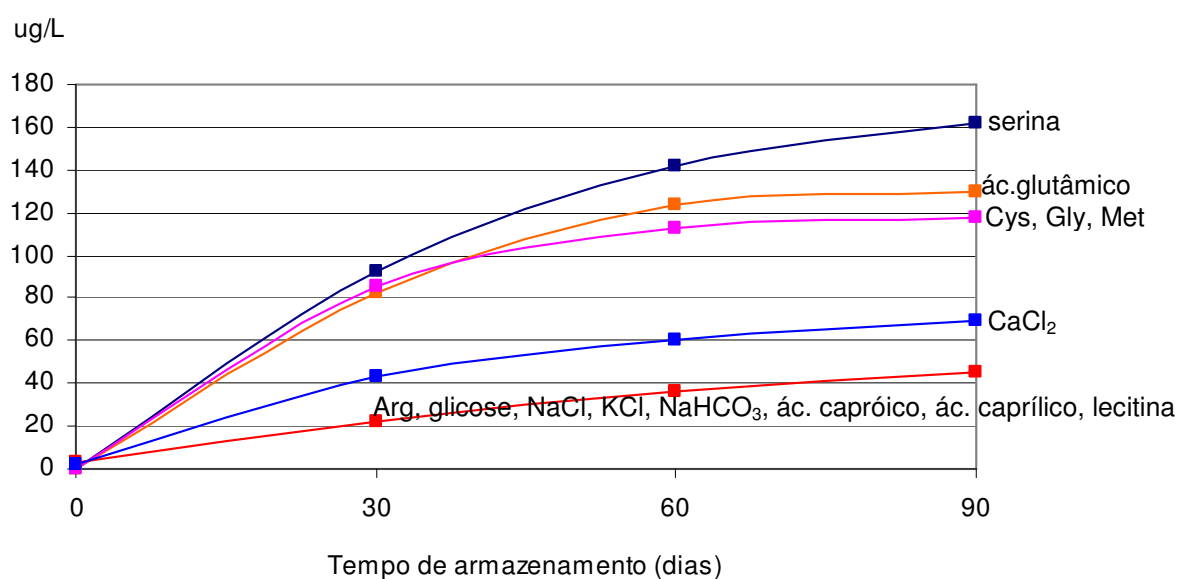


Figura 75 – Zinco extraído dos frascos de pequeno volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 75 observa-se que semelhante ao processo de esterilização, as soluções que extraíram as maiores quantidades de Zn foram serina, ácido glutâmico, seguidas da cisteína, glicina e metionina. As demais soluções extraíram quantidades menores entre 40 e 70 $\mu\text{g/L}$ de Zn. Considerando a concentração das substâncias (Apêndice 3), foram cisteína e serina, diferente dos resultados em $\mu\text{g/L}$.

Como o zinco é um elemento essencial, estas concentrações não oferecem riscos à saúde das pessoas, apesar dos pacientes entrarem em contato com grandes quantidades das soluções selecionadas neste estudo.

4.8.2 – Embalagens de grande volume

As soluções dos aminoácidos, sais, glicose e ácido caprílico e caprílico foram armazenadas individualmente e a quantidade dos metais em estudo foi determinada. A quantidade dos metais das soluções foi determinada ao longo do tempo retirando-

se alíquotas durante o período de 90 dias. No Apêndice 3 encontram-se os resultados em μg do metal/g da substância para verificar a importância da concentração na extração, já que as soluções foram preparadas nas mesmas concentrações em que são comercializadas.

Nas figuras 76, 77, 78, 79, 80 e 81 estão os resultados da extração do Al, Cd, Pb, Cr, Fe e Zn pelas soluções em $\mu\text{g/L}$ ao longo do tempo.

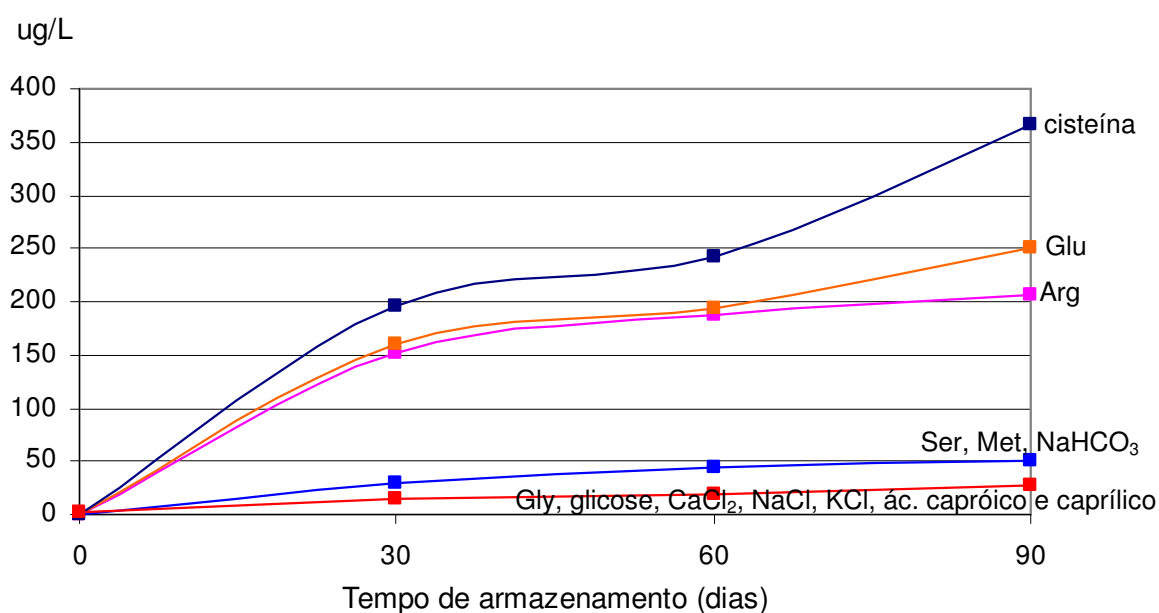


Figura 76 – Al extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 76 observa-se que o comportamento da extração a longo prazo, foi semelhante ao processo de esterilização. Observa-se também que a cisteína e ácido glutâmico extraíram as maiores quantidades de Al. As demais soluções extraíram entre 25 e 50 $\mu\text{g/L}$ de Al. Comparando os resultados em $\mu\text{g/L}$ com os em $\mu\text{g/g}$ (Apêndice 3) as soluções de ácido caprílico e caprílico extraíram a maior quantidade de Al das embalagens, discordando com o comportamento apresentado na figura 76.

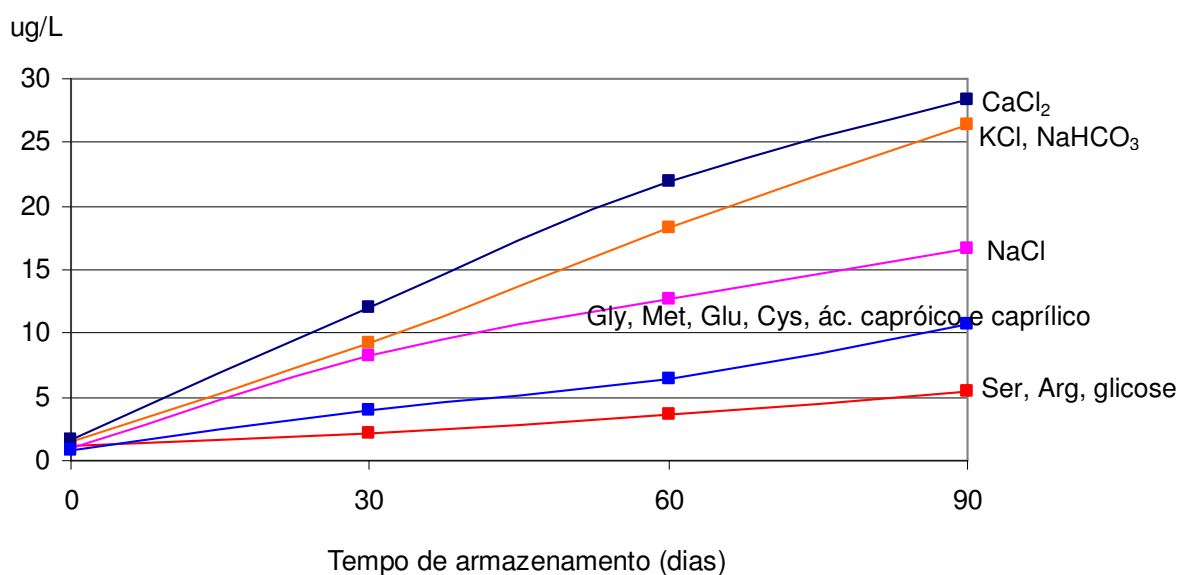


Figura 77 – Cd extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Conforme observa-se na figura 77, as soluções que extraíram as maiores quantidades de Cd das embalagens foram cloreto de cálcio, cloreto de potássio e bicarbonato de sódio (~30 $\mu\text{g/L}$). As soluções que extraíram as menores concentrações foram serina, arginina e glicose (~5 $\mu\text{g/L}$). Diferente foi o comportamento das soluções em $\mu\text{g/g}$ em que as soluções do ácido caprílico e ácido caprílico apresentaram as maiores extrações.

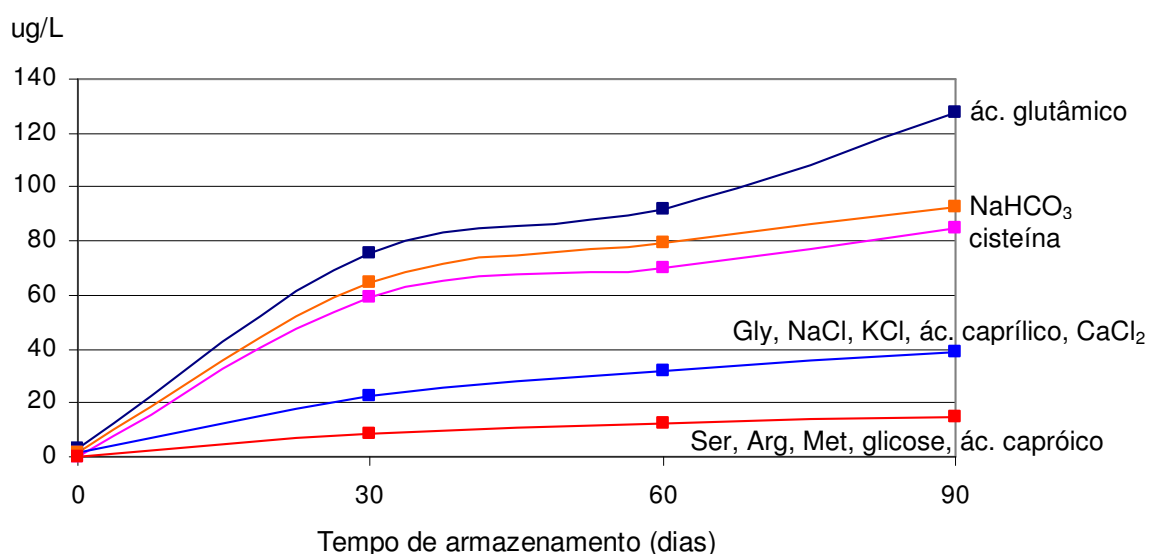


Figura 78 – Pb extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias.

A figura 78 mostra que semelhante ao processo de esterilização, as soluções que extraíram as maiores concentrações de Pb foram ácido glutâmico, bicarbonato de sódio e cisteína. Já as soluções de serina, arginina, metionina, glicose e ácido capróico extraíram as menores quantidades de Pb ($\sim 20 \mu\text{g/L}$). Ao comparar-se estes resultados com os em $\mu\text{g/g}$ observa-se que as soluções de cisteína e ácido glutâmico extraíram a maior quantidade de Pb das embalagens, mostrando assim um comportamento diferente dos resultados em $\mu\text{g/L}$.

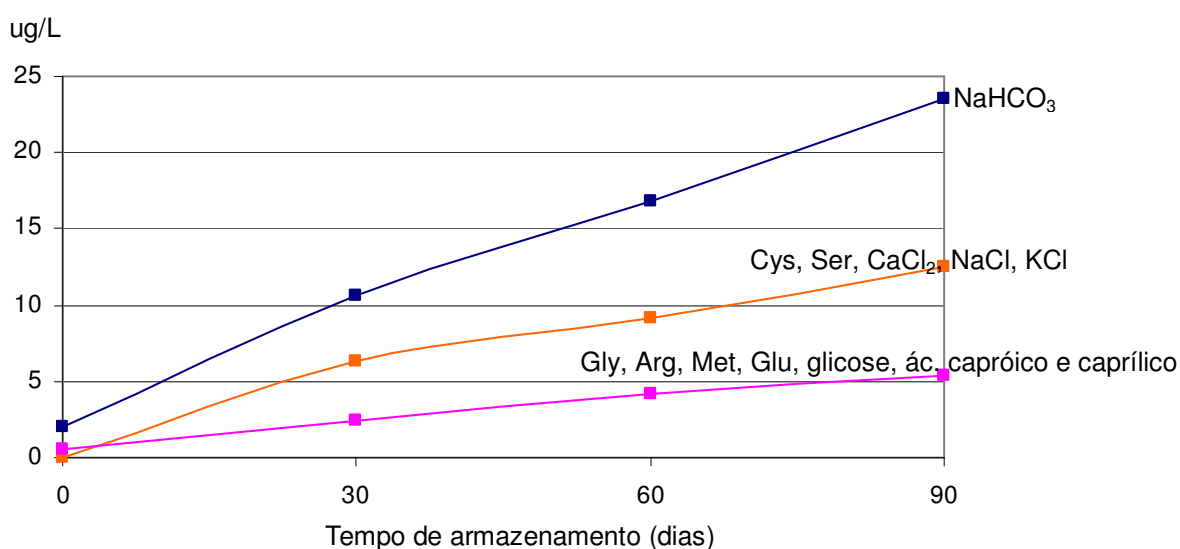


Figura 79 – Cr extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias.

O Cr foi o metal extraído em menores quantidades dos metais estudados. Observa-se na figura 79 que a solução de bicarbonato de sódio extraiu a maior quantidade de Cr da embalagem ($\sim 25 \mu\text{g/L}$). As demais soluções extraíram de 5 a $12 \mu\text{g/L}$ de Cr. Os resultados encontrados em $\mu\text{g/g}$ mostram um comportamento diferente ao mostrado na figura 79, pois as soluções que extraíram a maior quantidade de Cr foram a cisteína e a serina.

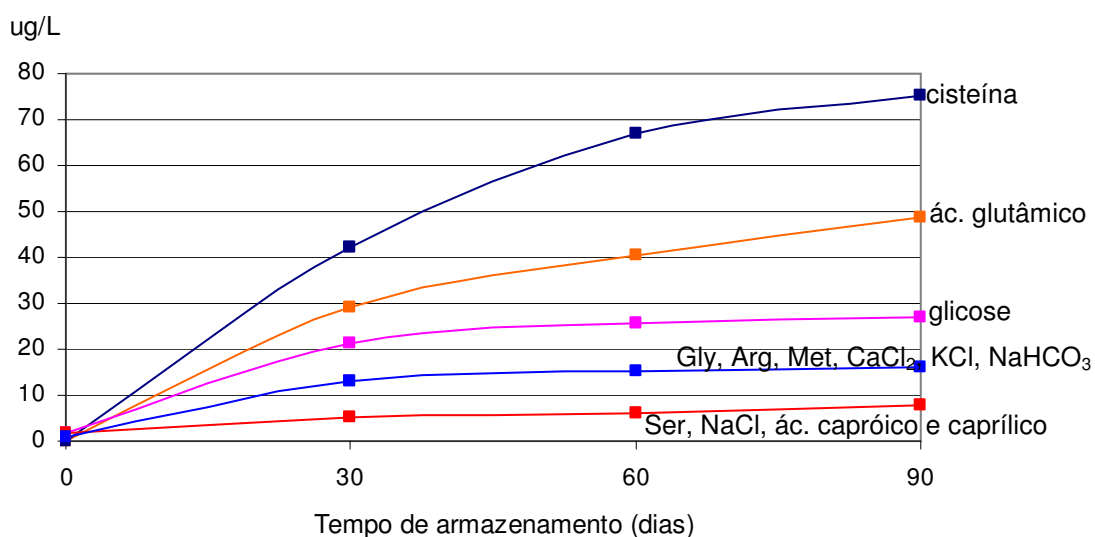


Figura 80 – Fe extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias.

De acordo com a figura 80, pode-se observar que a solução de cisteína extraiu a maior quantidade de Fe ($\sim 75 \mu\text{g/L}$), seguida da solução do ácido glutâmico ($\sim 50 \mu\text{g/L}$). A maioria das soluções extraiu entre 5 e $15 \mu\text{g/L}$ de Fe das embalagens.

Os resultados apresentados no Apêndice 3 em $\mu\text{g/g}$ mostraram um comportamento semelhante aos resultados em $\mu\text{g/L}$, onde as soluções de cisteína e ácido glutâmico extraíram a maior quantidade de Fe das embalagens, evidenciando que possivelmente a concentração das substâncias pode influenciar nas extrações de Fe das embalagens.

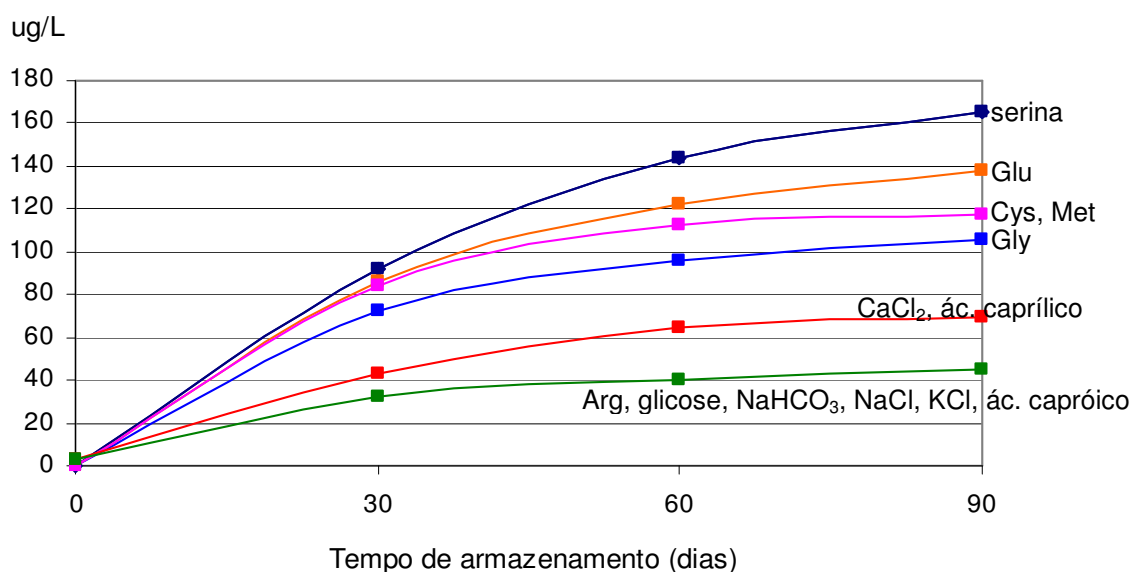


Figura 81 – Zn extraído dos frascos de grande volume por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 81 observa-se que as soluções de serina (~160 µg/L) e ácido glutâmico (~140 µg/L) seguidas de cisteína e metionina extraíram as maiores quantidades de Zn. Já as demais soluções extraíram quantidades menores de Zn (entre 40 e 70 µg/L). Os resultados expressos em µg/g apresentaram um comportamento diferente, onde as soluções que extraíram a maior quantidade de Zn foram cisteína e serina.

4.8.3 – Ampolas de vidro âmbar

Armazenou-se individualmente soluções dos aminoácidos, sais, glicose e ácido caprílico e capróico e determinou-se a quantidade dos metais em estudo. A quantidade dos metais das soluções foi determinada ao longo do tempo retirando-se alíquotas durante o período de 90 dias. No Apêndice 3 encontram-se os resultados expresso em µg/g considerando a concentração das substâncias.

Nas figuras 82, 83, 84, 85, 86 e 87 estão os resultados da extração do Al, Cd, Pb, Cr, Fe e Zn pelas soluções, expressos em $\mu\text{g/L}$.

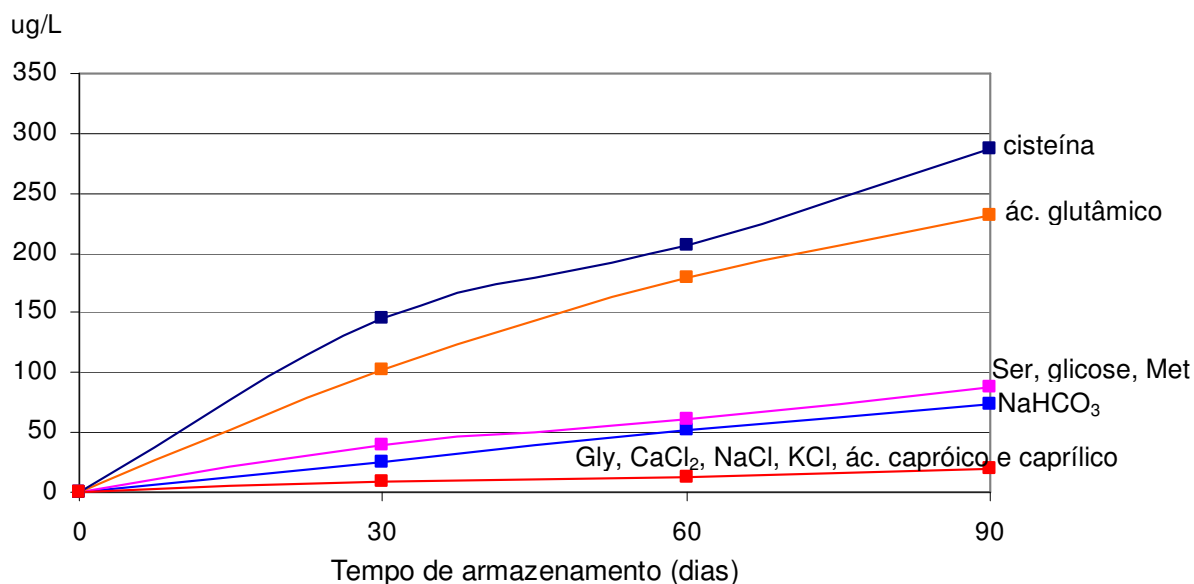


Figura 82 – Al extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias.

Observa-se na figura 82 que as soluções que extraíram as maiores concentrações de Al foram cisteína e ácido glutâmico. As soluções que extraíram as menores concentrações foram glicina, cloreto de cálcio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, e ácido caprílico e caprílico ($\sim 25 \mu\text{g/L}$). Os resultados em $\mu\text{g/g}$ no Apêndice 3, mostraram que as soluções de cisteína e ácido caprílico extraíram a maior quantidade de Al, diferente dos resultados encontrados em $\mu\text{g/L}$, indicando que a concentração das soluções não é o fator determinante para a extração do metal das embalagens.

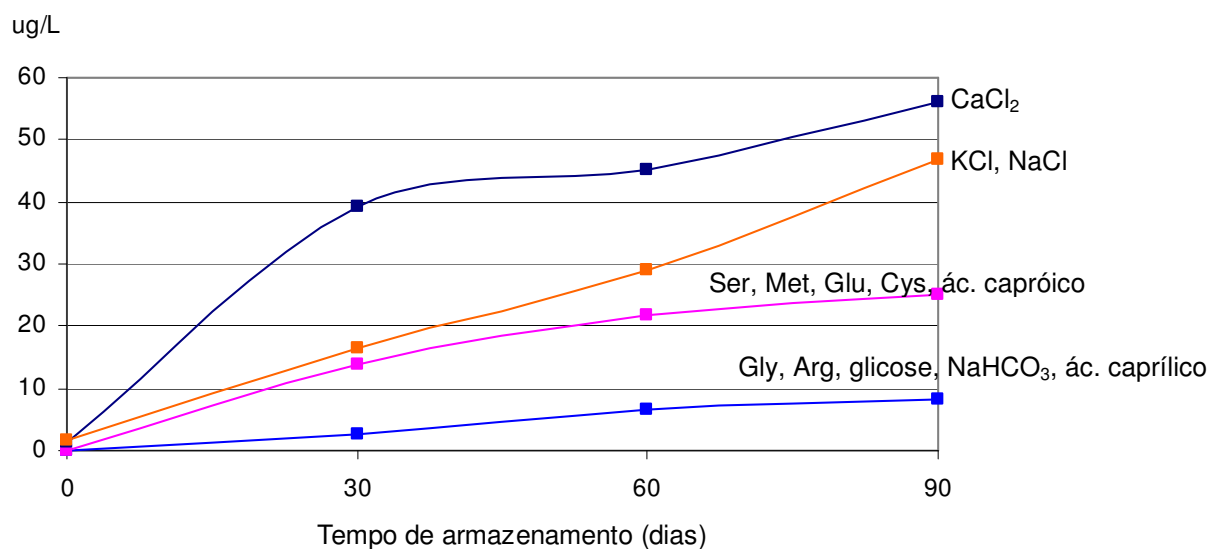


Figura 83 – Cd extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias.

Conforme mostra-se na figura 95, as soluções de cloreto de cálcio, cloreto de potássio e cloreto de sódio extraíram as maiores concentrações de Cd das embalagens. As soluções de glicina, arginina, glicose, bicarbonato de sódio e ácido caprílico extraíram a menores quantidades de Cd (~10 µg/L). Os resultados em µg/g mostram um comportamento diferente, onde as soluções de ácido caprílico, cloreto de sódio e ácido caprílico extraíram as maiores quantidades de Cd.

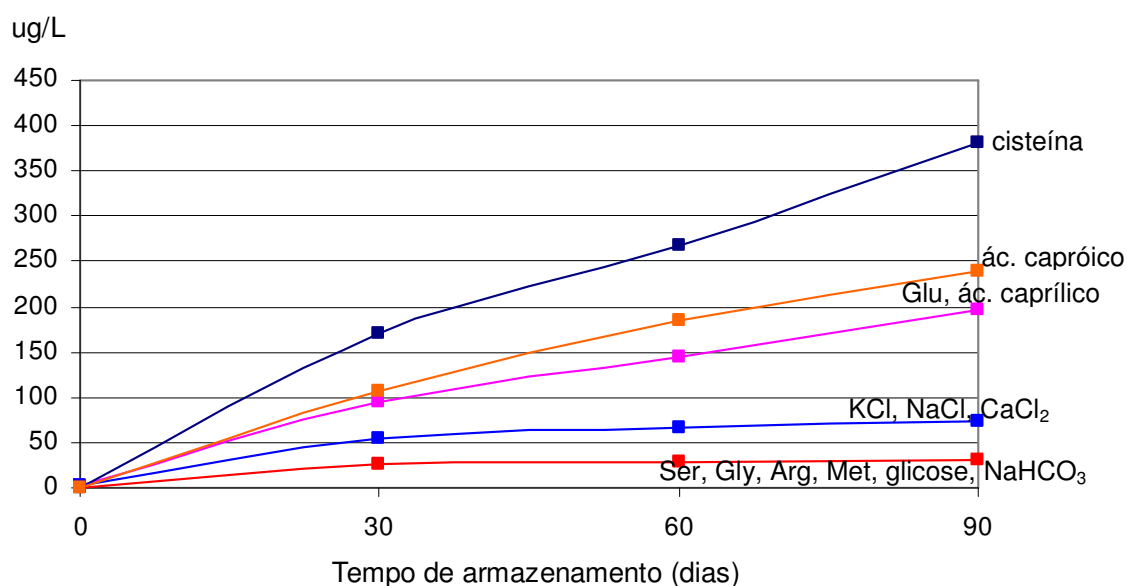


Figura 84 – Pb extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias.

De acordo com a figura 84, pode-se observar que a solução de cisteína seguida do ácido caprónico, ácido glutâmico e ácido caprílico, extraíram as maiores quantidades de Pb. As soluções de serina, glicina, arginina, metionina, glicose e bicarbonato de sódio extraíram as menores quantidades de Pb (~40 µg/L). Os resultados em µg/g mostram que as soluções de cisteína e ácido glutâmico extraíram as maiores quantidades de Pb das ampolas âmbar, provavelmente as concentrações das substâncias não influenciarem na extração do metal.

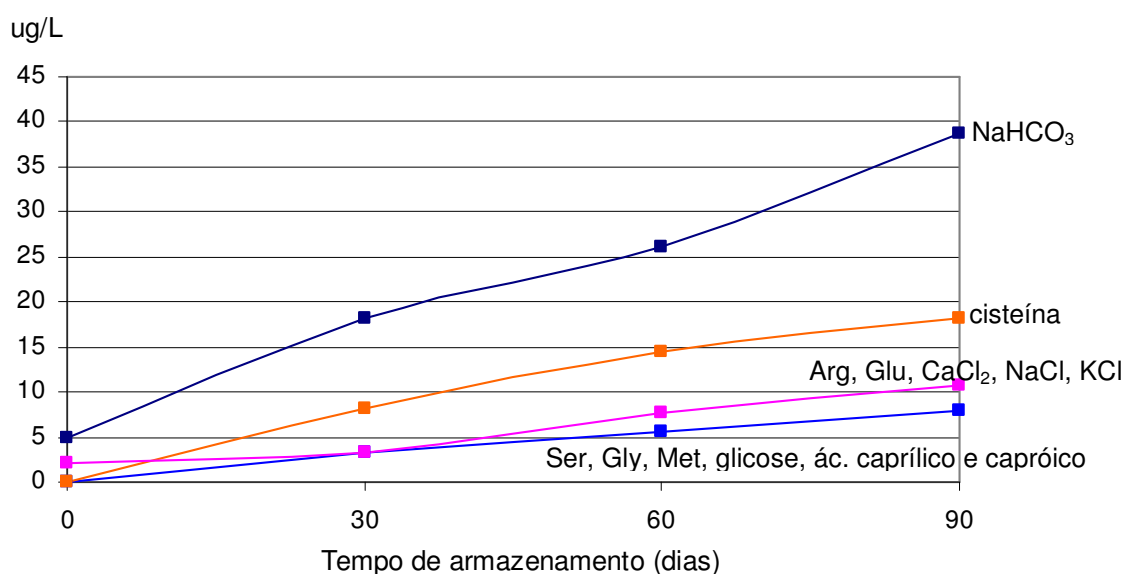


Figura 85 – Cr extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 85 pode-se observar que a solução de bicarbonato de sódio extraiu a maior quantidade de Cr das embalagens de vidro, semelhante ao comportamento apresentado nas demais embalagens. As soluções que menos extraíram o cromo das embalagens foram serina, glicina, metionina, glicose, ácido caprílico e capróico ($\sim 10 \mu\text{g/L}$). Os resultados em $\mu\text{g/g}$ mostram que as soluções que extraíram mais Cr em função da concentração das substâncias foram cisteína, ácido caprílico e ácido capróico, percebe-se assim que a concentração não influencia diretamente na extração de Cr das ampolas âmbar.

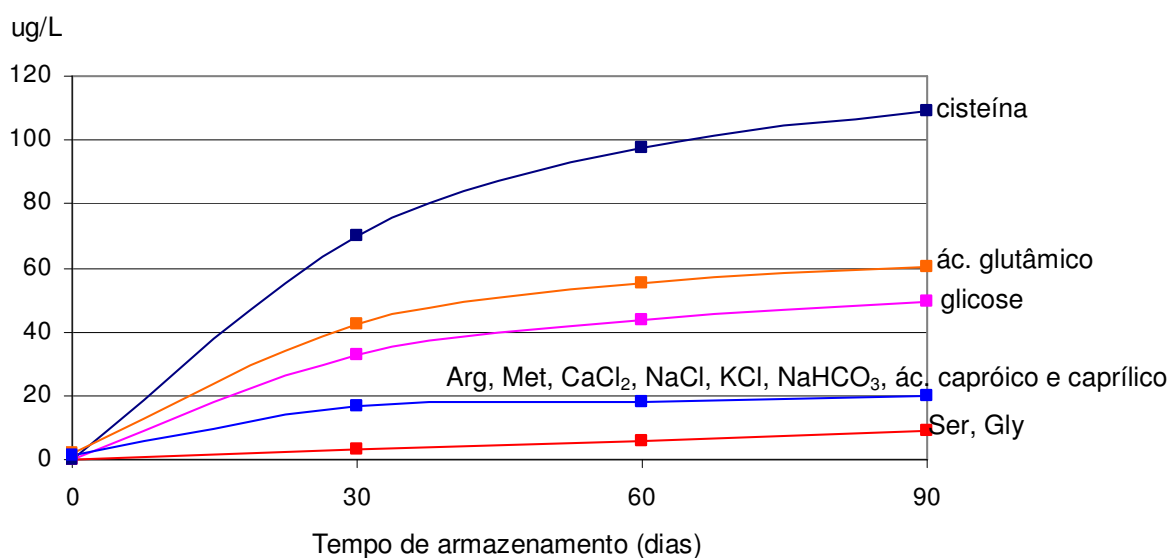


Figura 86 – Fe extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 86 observa-se que a solução de cisteína extraiu a maior quantidade de Fe das embalagens ($\sim 110 \mu\text{g/L}$). As soluções de serina e glicina extraíram as menores quantidades de Fe das embalagens ($\sim 10 \mu\text{g/L}$). Com os resultados em $\mu\text{g/g}$ pode-se perceber que as soluções de cisteína e ácido glutâmico extraíram a maior quantidade de Fe das ampolas, diferente aos resultados encontrados em $\mu\text{g/L}$.

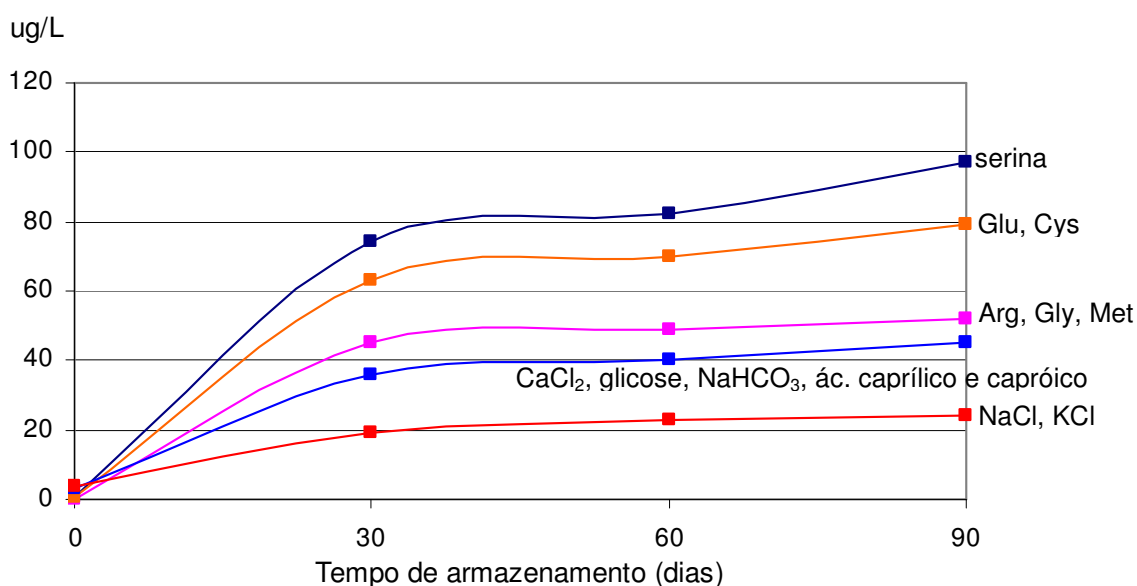


Figura 87 – Zn extraído das ampolas âmbar por diferentes substâncias em 90 dias.

De acordo com a figura 87, as soluções que extraíram as maiores quantidades de Zn das embalagens foram serina, ácido glutâmico e cisteína. As demais soluções extraíram Zn entre 22 e 45 µg/L das embalagens. Os resultados em µg/g mostraram que as soluções de cisteína e serina extraíram as maiores quantidades de Zn das embalagens.

4.8.4 – Ampolas de vidro transparentes

Armazenou-se individualmente soluções de 6 aminoácidos, sais, glicose e ácido caprílico e caprílico e determinou-se a quantidade dos metais em estudo. A quantidade dos metais das soluções foi determinada ao longo do tempo retirando-se alíquotas durante o período de 90 dias.

Nas figuras 88, 89, 90, 91, 92 e 93 estão os resultados da extração do alumínio, cádmio, chumbo, cromo, ferro e zinco pelas soluções em µg/L. Neste ensaio, as soluções foram preparadas nas concentrações em que são comumente comercializados.

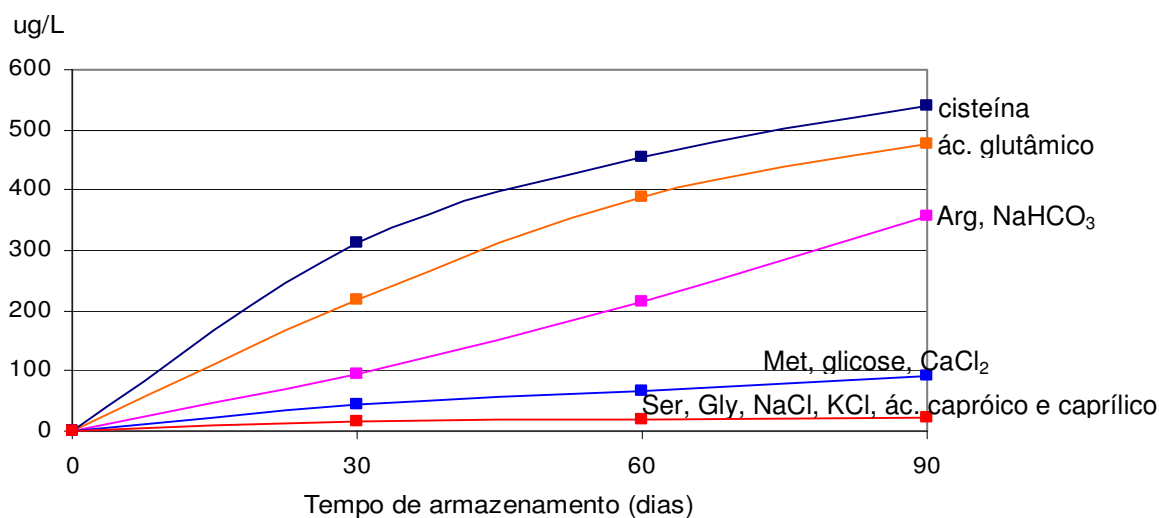


Figura 88 – Al extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 88 pode-se observar que as soluções de cisteína e ácido glutâmico seguidas de arginina e bicarbonato de sódio extraíram as maiores concentrações de Al das embalagens. As demais soluções extraíram aproximadamente 100 µg/L. Os resultados em µg/g mostraram que as soluções de cisteína e ácido glutâmico extraíram as maiores quantidades de Al, semelhante ao comportamento apresentado na figura 88.

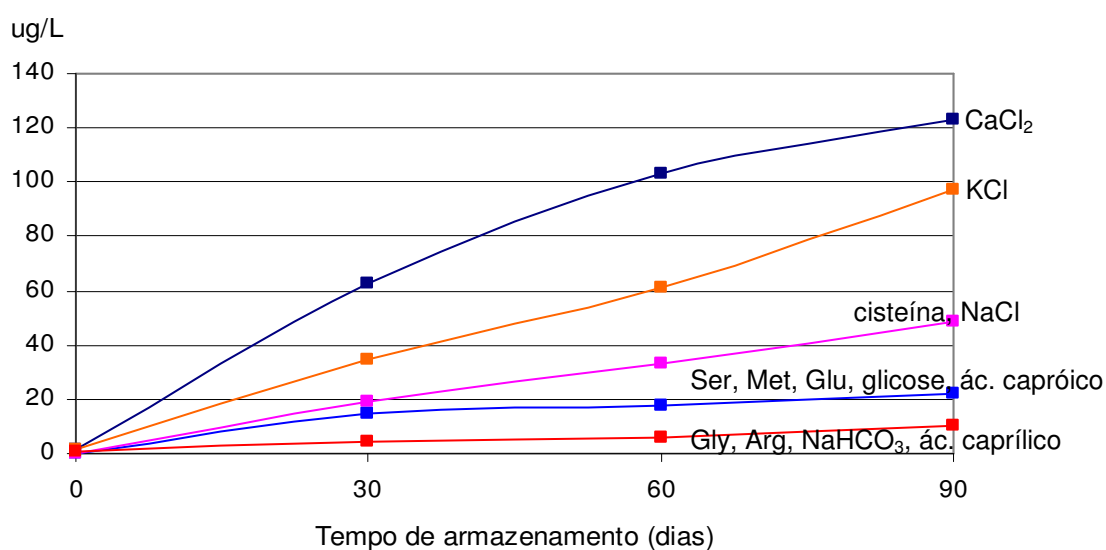


Figura 89 – Cd extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias.

Semelhante aos resultados da esterilização, as soluções que extraíram as maiores concentrações de Cd foram cloreto de cálcio e cloreto de potássio. Na figura 89 observou-se que as soluções que extraíram as menores quantidades de Cd foram glicina, arginina, bicarbonato de sódio e ácido caprílico (~10 µg/L). Os resultados em µg/g mostraram que o ácido caprílico e ácido capróico extraíram as maiores quantidades de Cd, evidenciando que a concentração possivelmente não influencia na extração de Cd das embalagens.

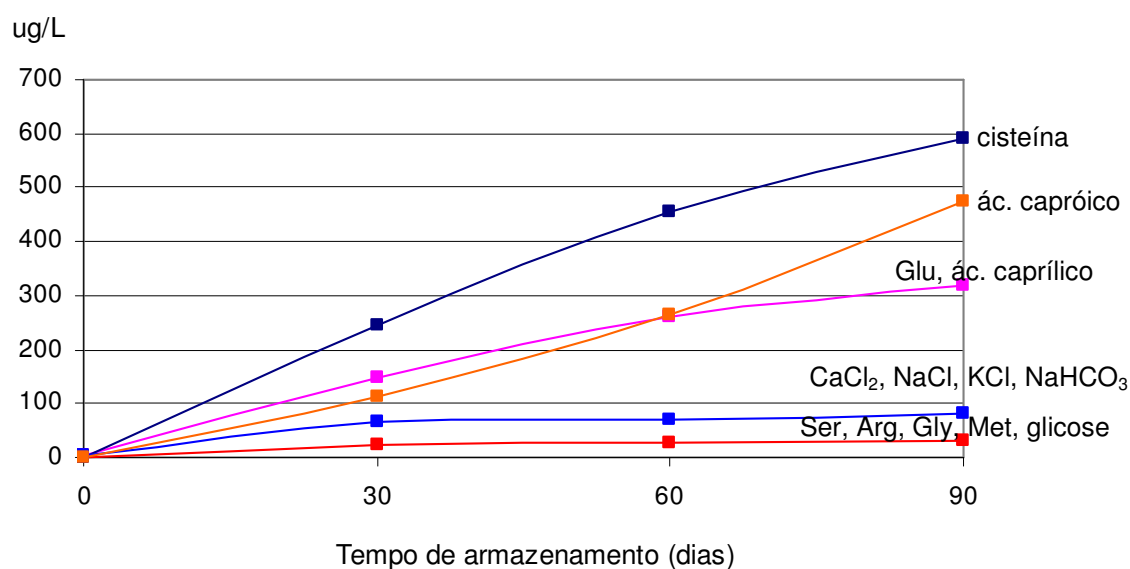


Figura 90 – Pb extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 90 pode-se observar que as soluções de cisteína e ácido capróico extraíram a maiores quantidades de Pb das embalagens. As soluções de serina, arginina, glicina, metionina e glicose extraíram as menores quantidades de Pb (~90 µg/L). Com os resultados em µg/g pode-se perceber que as soluções que extraíram mais Pb foram as soluções de cisteína e ácido glutâmico, mostrando que as concentrações podem não influenciar na extração de Pb das ampolas transparentes.

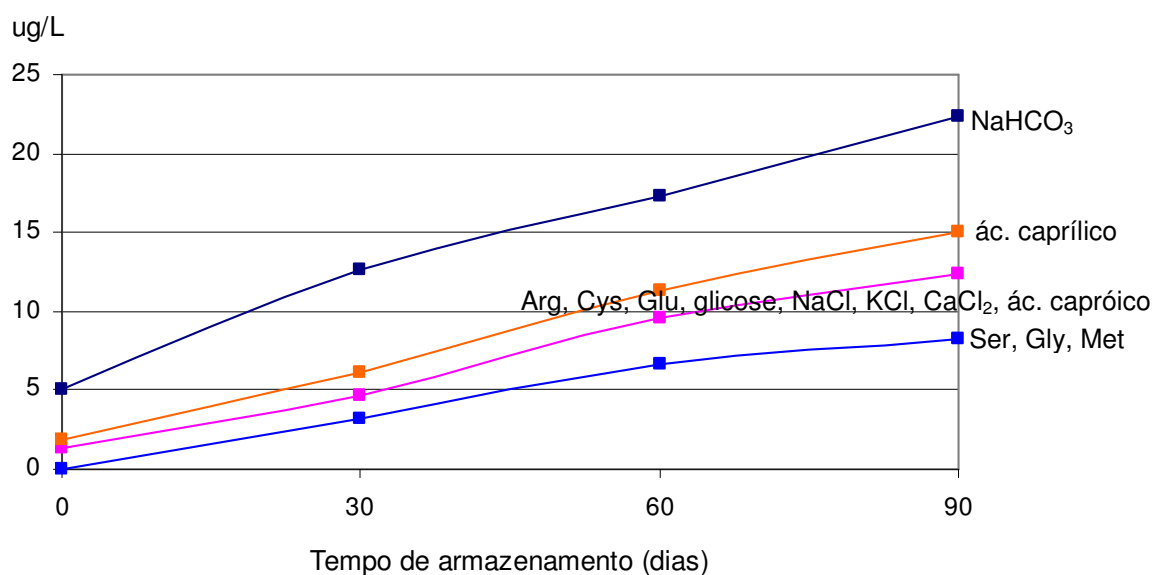


Figura 91 – Cr extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 91 pode-se observar que semelhante ao processo de esterilização, a solução de bicarbonato de sódio extraiu a maior quantidade de Cr das embalagens (~25 µg/L). As demais soluções apresentaram um comportamento semelhante extraído entre 9 e 15 µg/L de Cr. Os resultados em µg/g mostraram que as soluções que extraíram a maior quantidade de Cr das embalagens foram o ácido capróico e caprílico. Ao comparar estes resultados evidencia-se que as concentrações das substâncias, possivelmente não influenciam na extração do metal.

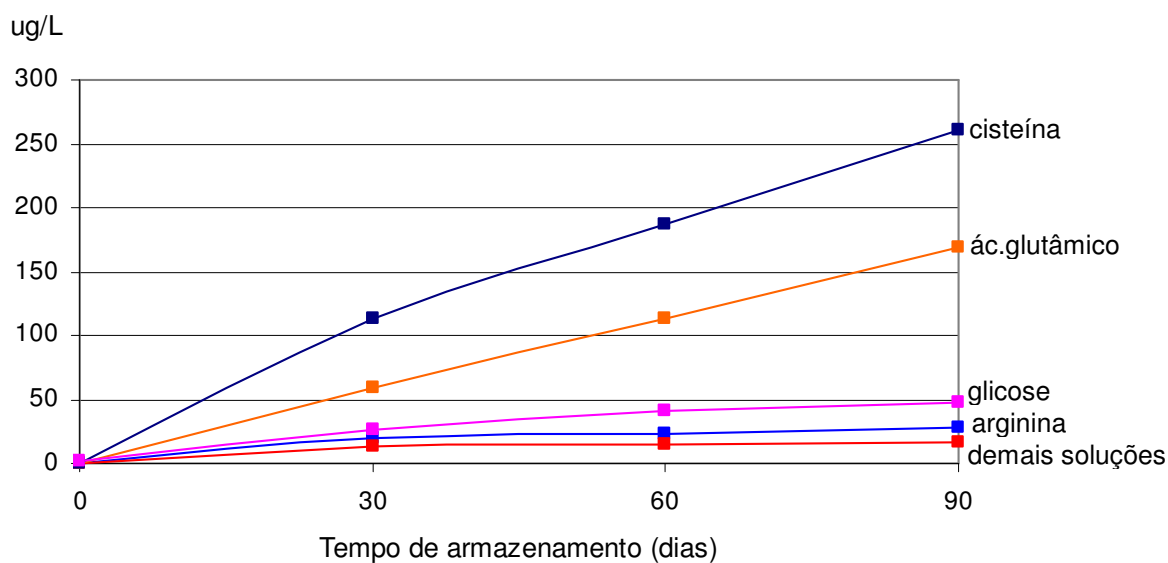


Figura 92 – Fe extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 92 pode-se observar que as soluções de cisteína e ácido glutâmico extraíram as maiores quantidades de Fe das embalagens, este comportamento é semelhante aos resultados expressos em $\mu\text{g/g}$. As demais soluções extraíram abaixo de $50 \mu\text{g/L}$ de Fe.

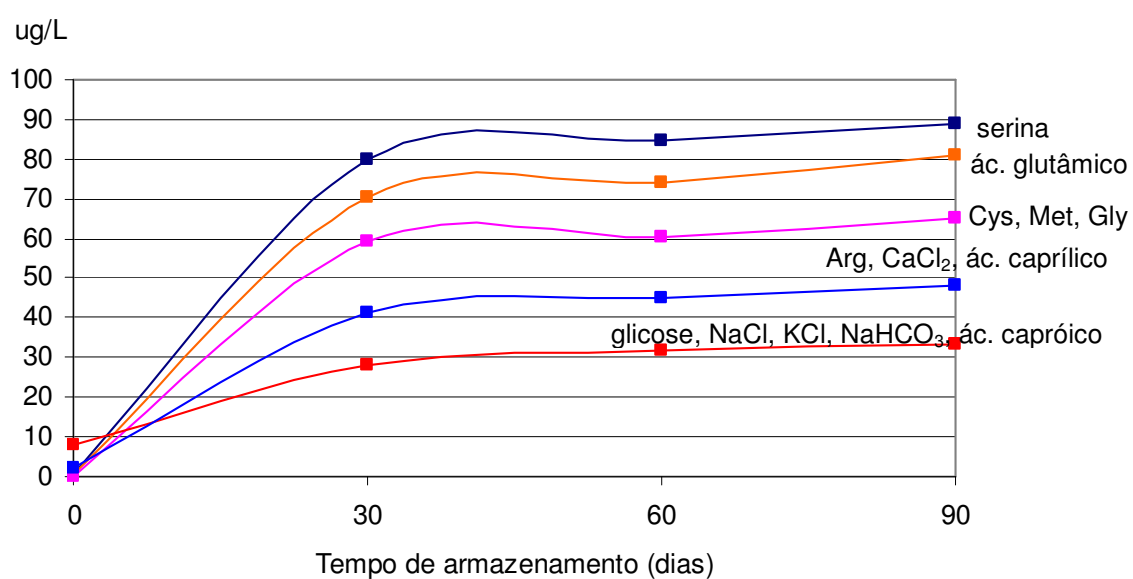


Figura 93 – Zn extraído das ampolas transparentes por diferentes substâncias em 90 dias.

Na figura 93 pode-se observar que as soluções de serina e ácido glutâmico seguidas de cisteína, metionina e glicina extraíram as maiores quantidades de Zn das embalagens. As soluções que extraíram as menores quantidades foram glicose, cloreto de sódio, cloreto de potássio, bicarbonato de sódio e ácido capróico (~30 µg/L). Os resultados em µg/g mostraram que as soluções que extraíram mais Zn das embalagens foram cisteína e serina, diferente do comportamento apresentado em µg/L.

4.9 – Conclusões: Embalagens de vidro X Armazenamento

Os ensaios de armazenamento a longo prazo mostraram que o processo de extração dos metais do vidro é praticamente constante, ou seja, durante todo o período investigado as concentrações dos metais em solução, dependendo do componente da solução, aumentaram continuamente. Como já comentado anteriormente, para que ocorra uma extração significativa dos metais é necessário que haja em solução alguma espécie que promova esta extração. Os aminoácidos cisteína e ácido glutâmico foram responsáveis pela extração de grandes quantidades de Al e Pb, os metais com as maiores taxas de extração. Os óxidos de Al e Pb podem ser constituintes declarados do vidro [SHELBY, 1997]. Entretanto, enquanto que o uso do óxido de Al não causa maiores preocupações, o uso do óxido de Pb vem sendo limitado, devido à conhecida toxicidade do Pb. É provável que a elevada quantidade de Pb encontrada nas ampolas tanto âmbar quanto transparente se deva ao uso do óxido para compor a massa vítrea. O óxido de Pb é utilizado para reduzir a temperatura de fusão do vidro, o que no caso das ampolas é muito importante devido à necessidade de fusão do vidro após o envase do medicamento para selar a ampola.

4.10 – Sumário final dos resultados

Teor de metais nas embalagens

| Metal | Embalagem |
|---------------------------------|------------------------|
| Al | AA>AT>GV>PV>PP>PVC>EVA |
| BA | PVC>PP>EVA>AA>AT>PV>GV |
| Cd | AT>AE>GV>PV>PVC>PP>EVA |
| PB | AE>PV>GV>AT>PP>PVC>EVA |
| Cr | GV>AT>AE>PV>EVA>PP>PVC |
| Fé | AE>PV>AT>GV>PP>PVC>EVA |
| Mn | GV>PV>PP>PVC>EVA>AE>AT |
| Zn | AE>PV>AT>GV>PVC>EVA>PP |
| Embalagem X Extração dos metais | |
| Metais em geral | AA>AT>PV>GV>PP>PVC>EVA |

AA: ampola âmbar; AT: ampola transparente; GV: grande volume; PV: pequeno volume; PVC: polivinil cloreto; PP: polipropileno; EVA: etileno acetato de vinila

Interação dos aminoácidos X Metais: Esterilização

| Metais | |
|--------|--------------------------|
| Al | Cys> Glu> Asp> Arg> His |
| Ba | Phe> His> Leu> Arg> Asp |
| Cd | Phe > Glu> Asp> Met> Arg |
| Cr | His> Asp> Glu> Cys> Pro |
| Fé | Cys> Glu> Arg |
| PB | Glu> Cys> Asp> Arg> Pro |
| Zn | Ser> Cys> Glu> Gly> Met |

Interação dos aminoácidos X Metais: Longo prazo

| Metais | |
|--------|-----------------------------------|
| Al | Cys > Glu> Arg> Met> Ser |
| Ba | Arg> Asp> Glu> Orn> Phe |
| Cd | Phe > Cys> Asp> Arg |
| Cr | His> Asp> Glu> Cys> Pro |
| Fe | Cys> Glu> Arg> Met> Gly |
| Pb | Cys> Asp> Glu> Arg> Pro |
| Zn | Pro> Gly> Cys> Ser> Tyr> Asp> Glu |

5 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Este trabalho teve por objetivo verificar se há interação entre os componentes das soluções de nutrição parenteral e o vidro ou o plástico das embalagens utilizadas para estas soluções, e se a contaminação das soluções por metais poderia ter o recipiente como origem. E também para verificar a contribuição do processo de esterilização e do tempo de armazenamento destas soluções (validade do produto) no nível de contaminação por metais.

Com o intuito de confirmar a origem dos metais das embalagens, determinou-se a quantidade de metais que estavam presentes nas embalagens de vidro e plástico.

A matéria-prima das soluções preparadas neste estudo foi também analisada para verificar o grau de contaminação das mesmas. Observou-se que as matérias-primas apresentam uma baixa contaminação por metais, não sendo, portanto, uma fonte de contaminação significativa para as soluções. As embalagens, tanto de vidro quanto dos diferentes plásticos, contêm todos os metais analisados. A presença de alumínio, bário e ferro nas embalagens de vidro era esperada, pois estes são constituintes do vidro. O nível de metais nas embalagens plásticas é surpreendente, pois eles não são considerados impurezas de materiais plásticos.

Em todos os ensaios realizados observou-se que as soluções interagem com a superfície da embalagem, liberando metais em maior ou menor proporção, dependendo do metal e dos constituintes da solução.

5.1 – Embalagens plásticas

A maioria dos estudos sobre contaminação de soluções de NP têm sido realizados investigando a interação das embalagens de vidro com as soluções, pois os plásticos são materiais orgânicos e, portanto, considerados livres de contaminações por metais.

Este estudo mostrou que as embalagens plásticas também contribuem para a contaminação de soluções parenterais.

Os plásticos apresentam um comportamento geral semelhante. A figura 94 mostra a quantidade dos metais investigados encontrados como contaminantes nas embalagens plásticas utilizadas na nutrição parenteral.

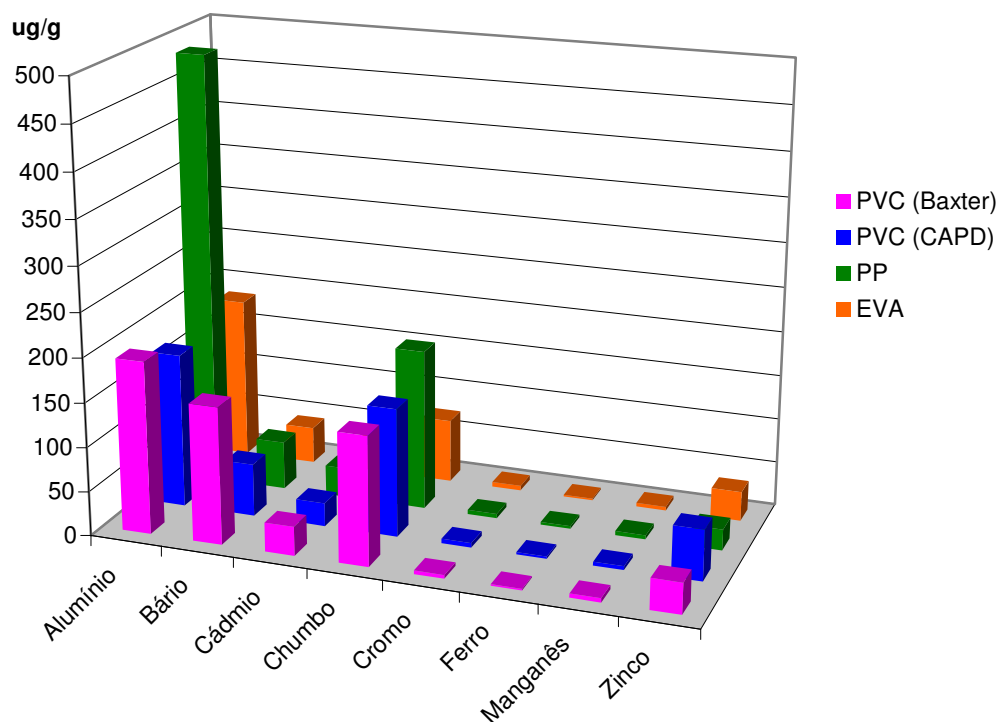


Figura 94 – Metais presentes nas embalagens plásticas para nutrição parenteral

Pode-se observar que na figura 94, que o alumínio existe em maior concentração em todos os tipos de plásticos, seguido pelo chumbo. As embalagens de PP tiveram as concentrações mais altas de alumínio (~0,5 mg/g), isto deve-se possivelmente ao fato de ser adicionado, nestas embalagens, talco que contém grande quantidade de alumínio (8 % de Al_2O_3) [Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, 2008]. As embalagens de PP também apresentaram concentrações mais altas de chumbo (0,2 mg/g). Outros metais como bário, cádmio e zinco, apesar de estarem em concentrações menores, estão presentes em todos os plásticos investigados.

As embalagens de PET não são utilizadas no armazenamento de soluções parenterais, mas são utilizadas para armazenar alguns medicamentos, incluindo xaropes e muitas formulações líquidas. Para comparar com as demais embalagens, determinou-se os metais e observou-se que as embalagens contém uma quantidade

muito maior de metais do que as embalagens formadas pelos demais polímeros já mencionados.

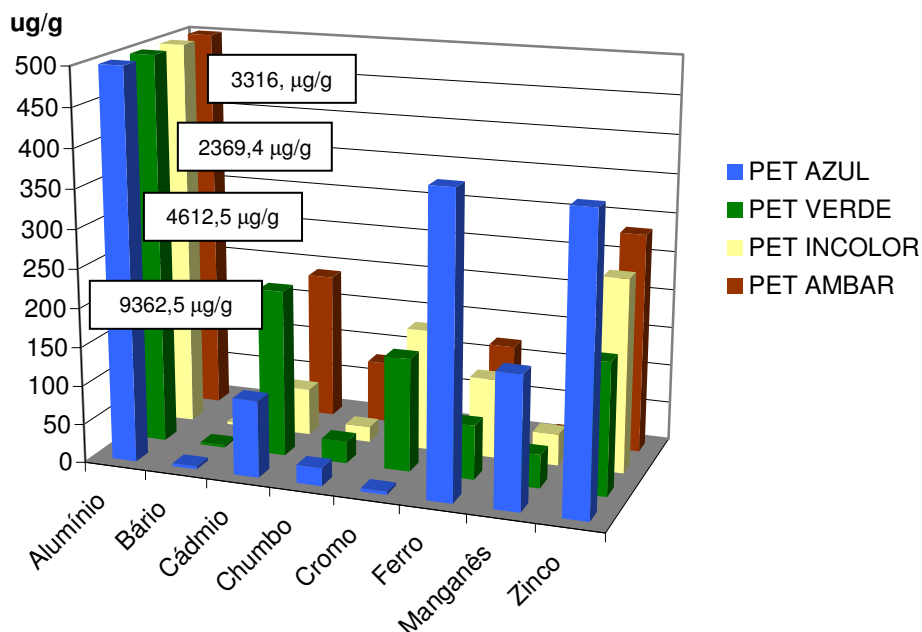


Figura 95 – Metais presentes nas embalagens de PET

Como pode-se observar na figura 95, as embalagens de PET possuem alumínio, cádmio, ferro, manganês e zinco em concentração elevada, ou seja, há uma grande quantidade de impurezas nessas embalagens. Apesar das mesmas não serem utilizadas para envasar formulações farmacêuticas de uso parenteral, estas embalagens podem contribuir com metais tóxicos para os usuários dos medicamentos e alimentos armazenados nas mesmas.

5.1.1 – Esterilização e ensaio de longo prazo

O ensaio de esterilização possibilitou verificar se o aquecimento das soluções promoveria a extração dos metais para as soluções.

Os resultados obtidos mostraram que mesmo quando a água pura é esterilizada em embalagens dos diferentes plásticos, há a liberação de espécies

metálicas. Dentre as embalagens investigadas as de polipropileno liberaram os metais para a solução em maior quantidade que as demais embalagens.

Os resultados encontrados após o processo de esterilização das soluções mostram diferenças entre as concentrações encontradas para os metais selecionados. Na maioria dos casos houve um aumento da extração dos metais pela presença dos constituintes das soluções. Os metais cromo e manganês foram extraídos em níveis mais baixos, provavelmente devido às suas baixas concentrações nos polímeros.

Os aminoácidos, ácido aspártico, ácido glutâmico, n-acetil tirosina, histidina e arginina foram aqueles que mais extraíram metais das embalagens de PVC e EVA. Isto deve-se possivelmente ao caráter básico ou ácido destes aminoácidos. A possibilidade de atuarem como quelantes promove a extração dos metais em maior extensão quando comparados com outros aminoácidos.

A maior interação com as embalagens de PP ocorreu nas soluções de bicarbonato de sódio, sulfato de magnésio e glicose. Esta interação deve-se, possivelmente, ao fato destes sais terem caráter básico ou ácido. Observou-se, também, que concentrações menores destas soluções extraem quantidades maiores dos metais, provavelmente devido à disponibilidade de troca entre os íons em solução e as moléculas presentes no polímero em estudo.

5.2 – Embalagens de vidro

Apesar de pouco, o vidro tem sido mais investigado do que o plástico como fonte de contaminação de metais em produtos farmacêuticos. A maioria dos estudos é realizada investigando a interação das embalagens de vidro com as soluções de NP, principalmente a migração de alumínio e arsênio [BINOTTO, 2001; BECKER, 2002].

Dos metais investigados, apenas o alumínio e o bário são constituintes de todos os tipos de vidro. Ferro e manganês são encontrados nas ampolas âmbar e teoricamente, cádmio e chumbo não deveriam estar presentes.

A figura 96 mostra a quantidade dos metais encontrados nas embalagens de vidro utilizadas no armazenamento das soluções de NP.

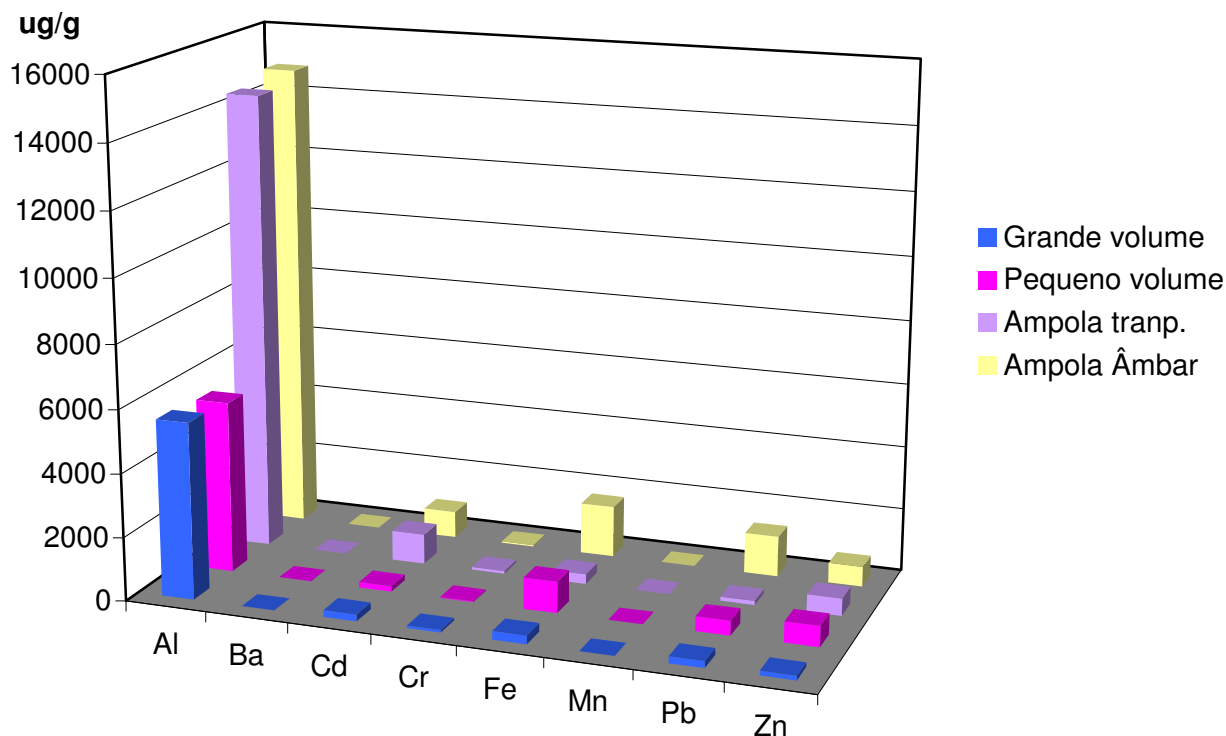


Figura 96 – Metais presentes nas embalagens de vidro

Como era de se esperar, o alumínio é o elemento presente em maior concentração, isto porque ele faz parte do vidro como constituinte. O ferro, na forma de óxidos, também pode ser constituinte dos vidros âmbar. Tanto no vidro comum como nas ampolas, é o óxido de ferro que confere a cor característica destes vidros.

5.2.1 – Esterilização e ensaio a longo prazo

Diferente do plástico, o vidro tem em sua estrutura óxidos de vários metais. A esterilização pode facilitar a migração dos metais do vidro para as soluções em contato com a superfície do vidro. Com os resultados obtidos, observou-se um

comportamento semelhante para os diferentes tipos de embalagens utilizadas para o armazenamento das soluções parenterais.

O ensaio de esterilização apenas com água ultra pura mostrou que, para todas as embalagens, houve a migração principalmente de zinco e alumínio para a solução.

Observou-se que as embalagens de pequeno e grande volume apresentaram resultados parecidos, possivelmente devido serem fabricadas com o mesmo tipo de vidro.

As ampolas âmbar e transparentes também apresentam semelhança nos resultados, diferindo apenas nas concentrações de alumínio e ferro, que são maiores nas ampolas âmbar. Isto possivelmente deve-se ao fato de adicionar-se quantidades maiores de alumínio e ferro nas ampolas âmbar.

Os metais com a menor taxa de lixiviação foram o cromo, que apresentou extrações semelhantes para todas as embalagens e o ferro, que apresentou uma maior lixiviação em ampolas âmbar.

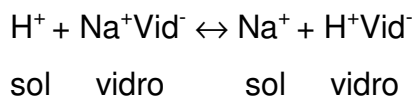
As soluções que extraíram a maioria dos metais foram a cisteína, ácido glutâmico, ácido caprílico e cloreto de cálcio.

5.3 – Interações dos metais com os constituintes das soluções

Apesar dos vidros usados para armazenar medicamentos possuírem uma elevada resistência hidrolítica, não se deve assumir que vidros em geral não são solúveis em soluções aquosas. Estes vidros podem se dissolver se expostos às soluções alcalinas, havendo a dissolução da superfície do vidro pelo ataque às ligações químicas. Quando em contato com soluções ácidas é favorecida a troca de íons metálicos do meio para o vidro e vice-versa.

A superfície do vidro é quimicamente reativa devido aos grupos Si-OH. Estes grupos são trocadores iônicos efetivos. Os eletrodos de vidro sensíveis ao pH funcionam sob esta característica, onde átomos de oxigênio carregados

negativamente podem se ligar a cátions de tamanho conveniente, por exemplo, sódio, e que podem ser trocados pelos prótons da solução, como na reação:



O processo de troca pode ser observado na figura abaixo [SKOOG, 1997]

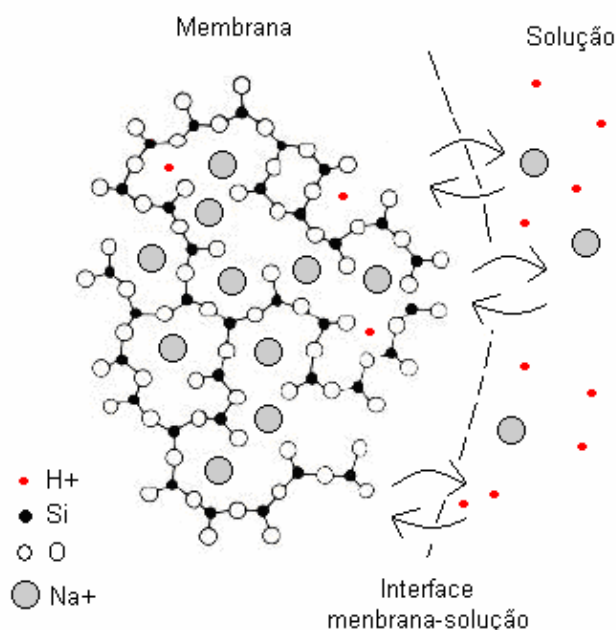


Figura 97: Troca iônica na interface membrana/solução. Prótons trocam com o íon Na⁺ da estrutura do silicato em uma membrana de vidro.

A contaminação observada para as soluções salinas pode ser explicada em função de seu pH onde há reações de troca iônica entre os cátions no vidro e os cátions em solução.

Os aminoácidos extraíram vários metais das embalagens plásticas e de vidro. Porém a ação destes aminoácidos não pode ser relacionada com o pH, já que as soluções de aminoácidos não possuem pH extremos. Também não pode ser considerado um processo de troca iônica, como ocorre com os sais, onde os cátions das solução podem ser trocados com os cátions da superfície do vidro. O que provavelmente ocorre é a formação de complexos destes aminoácidos com os metais.

O modo mais comum de coordenação de aminoácidos envolve a formação de quelatos. Os modos de coordenação variam, entretanto, com a natureza do aminoácido e do íon metálico, assim como em função do pH. A coordenação dos aminoácidos aos íons metálicos pode se dar de duas maneiras: no caso de íons duros, a coordenação se dá preferencialmente pelo carboxilato, ao passo que para íons moles, a coordenação por meio do enxofre da cisteína ou da metionina é mais provável. A definição de íons duros e moles é de 1963, quando Ralph G. Pearson descreveu a interação entre ácidos e bases de Lewis, íons metálicos e ligantes respectivamente. Segundo sua classificação, íons duros possuem pequeno raio e grande carga, não possuem pares de elétrons livres na camada de valência, tem alta eletronegatividade e baixa polarizabilidade de sua nuvem eletrônica. Os ligantes duros não estão com suas densidades eletrônicas polarizadas, por isso a combinação de ambos, íons metálicos e ligantes duros, formam complexos estabilizados por força eletrostática. Já os íons moles possuem grande raio e pequena carga, têm pares de elétrons não compartilhados na camada de valência (elétrons p ou d) e são altamente polarizados, por isso formam complexos estáveis com ligantes moles que também possuem sua nuvem eletrônica polarizada, aumentando assim o caráter covalente da ligação [PEARSON, 1963; PEARSON, 1968].

Para PEARSON, certos íons e ligantes dispõem de uma classificação intermediária sendo, por isso, capazes de interagir reacionalmente bem com ambas as espécies, moles e duras. Na prática, a teoria de Pearson indica apenas possíveis combinações favoráveis entre íons metálicos e ligantes.

A seletividade, entre íons metálicos e ligantes no meio biológico depende não somente da natureza dos dois, mas também de vários outros fatores como, por exemplo, estados de oxidação, geometria de coordenação, tamanho do íon e pH do meio [PEARSON, 1968; COWAN, 1993].

Na tabela 26 estão classificados exemplos específicos de ácidos e bases duros, intermediários e moles [PEARSON, 1968].

Tabela 26: Classificação dos ácidos e bases de Lewis usando o critério duros e moles

| | Ácidos | Bases |
|---------------|--|--|
| Duros | H^+ , Li^+ , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Al^{3+} , Ln^{3+} , Cr^{3+} , Co^{3+} , Fe^{3+} , VO^{2+} , MoO_3^{3+} | H_2O , ROH , RNH_2 , RCO_2^- , Cl^- , F^- , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} |
| Intermediário | Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Sn^{2+} , Ru^{2+} , SO_2 , NO^+ | Imidazol, piridina |
| Moles | Cu^+ , Ag^+ , Au^+ , Tl^+ , Hg^+ , Cd^{2+} , Pd^{2+} , Pt^{2+} , Hg^{2+} | RSH , R_2S , CN^- , I^- , $S_2O_3^-$ |

R: representa uma cadeia lateral orgânica

A teoria de Pearson de ácidos e bases duros e moles (HSAB) não elimina a possibilidade de interação de íons metálicos e ligantes de classificações diferentes, mas os complexos formados serão de baixa estabilidade. Existem íons e ligantes que possuem uma classificação intermediária, ou seja, interagem tanto com espécies duras como moles.

São conhecidas muitas constantes de estabilidade de complexos formados entre aminoácidos e íons de metais de transição, porém para elementos como o alumínio, bário e ferro os estudos com constantes de estabilidade são mais raros. [SMITH & MARTELL, 1998]

Diversos aminoácidos formam complexos estáveis com os metais do estudo. As constantes de estabilidade entre estes metais e os aminoácidos, estão expressas na Tabela 27.

Tabela 27 – Constantes de estabilidade conhecidas dos aminoácidos com os metais

| Aminoácidos \ Metal | Al (logk) | Ba (logk) | Cd (logk) | Cr (logk) | Fe (logk) | Mn (logk) | Pb (logk) | Zn (logk) |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Arginina | -- | -- | 3,27 | -- | -- | 2,55 | -- | 4,10 |
| Asparagina | 6,65 | -- | 3,87 | 6,97 | -- | 3,10 | 4,91 | 5,07 |
| Ácido aspártico | 2,17 | 1,10 | 4,35 | 4,67 | -- | 3,70 | 4,50 | 5,87 |
| Ácido glutâmico | 2,30 | 1,28 | 3,80 | 4,53 | -- | -- | 4,55 | 4,49 |
| Fenilalanina | -- | -- | 3,62 | -- | -- | -- | 4,63 | -- |
| Glicina | -- | 0,77 | 4,25 | 4,21 | -- | 2,80 | 4,72 | 4,96 |
| Histidina | -- | -- | 9,08 | -- | -- | 4,10 | 10,27 | 9,16 |
| Isoleucina | -- | -- | 3,64 | -- | -- | -- | -- | 4,40 |
| Leucina | -- | -- | 3,86 | 3,16 | -- | -- | -- | 4,59 |
| Lisina | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 4,89 |
| Metionina | -- | -- | 3,68 | 8,30 | -- | 2,77 | 4,39 | 4,38 |
| Ornitina | -- | -- | -- | -- | -- | -- | -- | 3,75 |
| Prolina | -- | -- | 4,27 | -- | -- | 3,34 | -- | 5,27 |
| Serina | 4,79 | -- | 4,15 | 8,00 | -- | 3,81 | 4,41 | 5,84 |
| Tirosina | -- | -- | -- | -- | -- | 2,73 | -- | 4,21 |
| Treonina | 5,71 | -- | 3,90 | 8,17 | -- | 2,59 | 4,43 | 4,43 |
| Triptofano | -- | -- | 4,48 | -- | -- | 2,54 | 5,08 | 4,69 |

T= 25⁰C; espécie 1:1 (ML) (M – metal, L - ligante)

--: não possui constante de estabilidade conhecida

6 CONCLUSÕES

As embalagens para formulações parenterais, sejam elas de plástico ou de vidro, contribuem para a contaminação das soluções com metais. Tanto o processo de esterilização como o tempo de armazenagem a longo prazo, influenciam no aumento da contaminação.

Em cada tipo de solução provavelmente ocorre um mecanismo diferenciado de liberação dos metais, como troca iônica com os íons das soluções salinas e o vidro. Ou ainda complexação, quando as soluções possuem constituintes que atuam como ligantes. De uma forma ou de outra todas as soluções interagem com a superfície do vidro e dos polímeros, levando à contaminação destas principalmente por alumínio, chumbo, e zinco.

Para elementos como manganês, cromo e ferro a extração não foi muito significativa, provavelmente devido à baixa concentração destes elementos nas embalagens.

Das embalagens plásticas investigadas neste estudo, o EVA pode ser escolhido como o polímero mais inerte, já que apresentou resultados semelhantes ao PVC na esterilização e em relação ao tempo de prateleira, ou seja, ao ensaio de longo prazo, as embalagens de EVA liberaram as menores quantidades de metais para a solução.

Já as embalagens de PP, do ponto de vista da contaminação, são as menos adequadas para armazenar soluções parenterais, pois liberam grandes quantidades de metais, tanto na esterilização quanto ao longo prazo.

As embalagens de PET, apesar de não serem usadas em formulações parenterais, requerem maior investigação, pois possuem uma grande quantidade de metais, tais como alumínio, titânio e estanho, e são utilizadas em outros tipos de formulações farmacêuticas como os xaropes, que são ingeridos pelo paciente.

Apesar de serem encontradas quantidades elevadas de zinco e ferro nas extrações, estes elementos não oferecem riscos aos pacientes, já que são considerados elementos essenciais. Já as extrações de alumínio, cádmio e chumbo oferecem sérios riscos de intoxicação, pois são muito tóxicos, podendo acarretar vários danos ao organismo.

APÊNDICES

Apêndice 1

Reagentes Utilizados

| Reagente | Concentração | Fabricante |
|---------------------------|-------------------|----------------|
| Ácidos e Solventes | | |
| Ácido Fluorídrico | Concentrado (48%) | Merck |
| Ácido Nítrico destilado | Concentrado (65%) | Merck |
| Ácido Sulfúrico | Concentrado (98%) | Merck |
| Metanol | 1 % (v/v) | Merck |
| Aminoácidos | | |
| | g/L | |
| Ácido Aspártico | 4,9 | Aldrich |
| Ácido Glutâmico | 2,3 | Merck |
| Arginina | 3,6 | Vetec |
| Asparagina | 1,3 | Merck |
| Cisteína | 1,4 | Merck |
| Cistina | 2,4 | Merck |
| Fenilalanina | 1,7 | Aldrich |
| Glicina | 4,9 | Aldrich |
| Histidina | 2,8 | Aldrich |
| Isoleucina | 3,3 | Aldrich |
| Leucina | 2,3 | Merck |
| Lisina | 2,8 | Riedel-de Hæen |
| Metionina | 1,5 | Sigma |
| N-acetil-tirosina | 1,6 | Belga |
| Ornitina | 2,1 | Vetec |
| Prolina | 3,2 | Merck |
| Serina | 2,2 | Sigma |
| Tirosina | 1,8 | Aldrich |
| Treonina | 2,5 | Sigma |
| Triptofano | 1,8 | Sigma |

| Reagente | Concentração | Fabricante |
|--------------------------|--------------|------------|
| Sais, outras substâncias | % | |
| Bicarbonato de sódio | 8,4 e 10 | Merck |
| Cloreto de cálcio | 10 | Merck |
| Cloreto de potássio | 6, 10 e 20 | Merck |
| Cloreto de sódio | 0,9, 10 e 20 | Merck |
| Glicose | 10 e 25 | Merck |
| Hidrogeno fosfato de Mg | 1 | Merck |
| Nitrato de amônio | 1 | Merck |
| Nitrato de sódio | 4 | Merck |
| Sulfato de magnésio | 10 e 25 | Merck |
| Manitol | 0,5 e 12,5 | Sigma |
| Sorbitol | 0,5 | Sigma |
| Ácido Caprílico | 1 | Aldrich |
| Ácido Capróico | 1 | Aldrich |

| Reagente | Concentração | Fabricante |
|-----------------|--------------------|-------------|
| Soluções padrão | mg L ⁻¹ | |
| Alumínio (Al) | 1000 | NIST, Merck |
| Antimônio (Sb)* | 1000 | Merck |
| Bário (Ba) | 1000 | NIST, Merck |
| Bismuto (Bi)** | 1000 | Merck |
| Cádmio (Cd) | 1000 | NIST, Merck |
| Cobalto (Co)* | 1000 | Merck |
| Chumbo (Pb) | 1000 | NIST, Merck |
| Cromo (Cr) | 1000 | NIST, Merck |
| Estanho (Sn)* | 1000 | Merck |
| Ferro (Fe) | 1000 | NIST, Merck |
| Manganês (Mn) | 1000 | NIST, Merck |
| Rênio (Re)** | 1000 | Merck |
| Rutênio (Ru)** | 1000 | Merck |
| Titânio (Ti)* | 1000 | Merck |
| Vanádio (V)* | 1000 | Merck |
| Zinco (Zn) | 1000 | NIST, Merck |

*: padrão utilizado nas medidas por ICP-MS

** : padrão interno utilizado ns medidas por ICP-MS

Apêndice 2

Resultados da extração de metais em embalagens plásticas, em µg/g

Embalagens de PVC

Tabela 28 – Alumínio extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Aminoácido | Al extraído (µg/g de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|------|------|------|------|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 1,0 | 1,8 | 2,9 | 5,0 | 6,4 | 7,9 |
| Ácido Glutâmico | 0,2 | 1,2 | 1,7 | 3,3 | 7,9 | 8,0 |
| Arginina | 0,2 | 1,1 | 1,6 | 3,2 | 4,7 | 7,1 |
| Asparagina | 2,3 | 5,8 | 9,2 | 11,1 | 14,3 | 16,8 |
| Cisteína | 7,1 | 10,7 | 12,9 | 15,0 | 21,4 | 29,9 |
| Fenilalanina | 0,3 | 1,3 | 3,5 | 3,6 | 5,0 | 13,8 |
| Glicina | 0,6 | 1,4 | 2,0 | 2,4 | 4,0 | 5,2 |
| Histidina | 0,3 | 0,5 | 0,7 | 1,7 | 4,5 | 8,5 |
| Isoleucina | 0,2 | 0,6 | 0,9 | 0,9 | 1,2 | 1,8 |
| Leucina | 0,5 | 0,7 | 1,2 | 1,9 | 2,4 | 2,9 |
| Lisina | 0,7 | 0,8 | 1,8 | 3,6 | 4,5 | 5,2 |
| Metionina | 0,5 | 1,0 | 2,3 | 3,7 | 5,1 | 6,2 |
| N-acetil tirosina | 4,4 | 7,5 | 9,4 | 17,5 | 20,4 | 23,0 |
| Ornitina | 0,4 | 0,6 | 0,9 | 2,2 | 3,2 | 3,8 |
| Prolina | 0,1 | 0,4 | 1,0 | 2,7 | 5,4 | 6,7 |
| Serina | 0,9 | 1,8 | 2,7 | 3,6 | 7,8 | 11,5 |
| Tirosina | 0,3 | 1,0 | 1,4 | 3,8 | 5,3 | 5,8 |
| Treonina | 1,2 | 3,0 | 4,8 | 8,7 | 12,4 | 22,5 |
| Triptofano | 0,3 | 1,0 | 1,8 | 4,9 | 6,1 | 6,9 |

Tabela 29 – Bário extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Aminoácido | Ba extraído ($\mu\text{g/g}$ de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|--|------|------|------|------|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 3,1 | 4,5 | 5,5 | 7,3 | 11,2 | 13,3 |
| Ácido Glutâmico | 5,5 | 7,2 | 7,5 | 17,0 | 21,2 | 40,7 |
| Arginina | 3,4 | 4,9 | 5,0 | 11,5 | 20,7 | 27,7 |
| Asparagina | 10,5 | 11,2 | 12,9 | 28,2 | 39,5 | 50,0 |
| Cisteína | 4,3 | 6,4 | 7,9 | 9,3 | 14,3 | 20,0 |
| Fenilalanina | 7,4 | 9,8 | 10,1 | 11,5 | 12,5 | 15,8 |
| Glicina | 1,9 | 3,4 | 3,5 | 7,1 | 8,1 | 9,2 |
| Histidina | 4,5 | 5,9 | 6,4 | 11,9 | 16,9 | 19,8 |
| Isoleucina | 3,3 | 4,9 | 5,8 | 8,5 | 9,9 | 14,6 |
| Leucina | 6,0 | 7,3 | 8,3 | 9,3 | 10,7 | 13,0 |
| Lisina | 4,4 | 6,4 | 6,4 | 7,6 | 8,8 | 10,6 |
| Metionina | 5,7 | 14,6 | 16,7 | 22,1 | 26,1 | 31,7 |
| N-acetil tirosina | 6,3 | 11,3 | 15,0 | 17,5 | 23,9 | 30,8 |
| Ornitina | 4,2 | 8,2 | 11,6 | 16,1 | 29,9 | 34,2 |
| Prolina | 2,6 | 5,9 | 6,3 | 10,0 | 11,3 | 14,1 |
| Serina | 2,8 | 7,2 | 9,1 | 15,1 | 21,3 | 23,8 |
| Tirosina | 4,7 | 7,8 | 12,1 | 18,1 | 23,4 | 32,2 |
| Treonina | 3,5 | 6,0 | 8,8 | 14,3 | 18,4 | 20,1 |
| Triptofano | 5,2 | 7,2 | 9,2 | 11,8 | 14,4 | 17,4 |

Tabela 30 – Cádmiu extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Aminoácido | Cd extraído ($\mu\text{g/g}$ de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|--|-----|-----|------|------|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 1,0 | 1,6 | 2,0 | 3,1 | 3,4 | 3,9 |
| Ácido Glutâmico | 2,2 | 3,5 | 4,3 | 6,5 | 7,3 | 9,2 |
| Arginina | 0,2 | 0,3 | 0,7 | 1,3 | 3,6 | 9,3 |
| Asparagina | 2,5 | 3,5 | 4,1 | 5,2 | 6,8 | 7,1 |
| Cisteína | 4,4 | 5,1 | 6,2 | 6,7 | 11,3 | 11,7 |
| Fenilalanina | 0,4 | 0,6 | 0,6 | 0,8 | 0,9 | 1,6 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 1,0 | 1,1 | 1,1 | 1,1 |
| Histidina | 1,9 | 2,7 | 3,1 | 3,4 | 3,9 | 5,1 |
| Isoleucina | 0,4 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,9 |
| Leucina | 1,0 | 1,1 | 1,2 | 1,2 | 1,4 | 1,5 |
| Lisina | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,6 | 0,7 | 0,9 |
| Metionina | 2,7 | 5,3 | 9,3 | 12,6 | 13,3 | 15,0 |
| N-acetil tirosina | 4,7 | 7,0 | 9,6 | 13,6 | 14,3 | 14,7 |
| Ornitina | 1,5 | 2,2 | 2,5 | 4,0 | 5,5 | 5,9 |
| Prolina | 0,4 | 0,5 | 0,7 | 0,9 | 1,0 | 1,4 |
| Serina | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,1 | 1,2 | 2,7 |
| Tirosina | 1,2 | 1,4 | 1,5 | 1,6 | 2,7 | 4,8 |
| Treonina | 0,6 | 0,7 | 0,8 | 1,0 | 1,1 | 2,0 |
| Triptofano | 2,1 | 2,4 | 2,7 | 2,9 | 3,3 | 3,5 |

Tabela 31 – Chumbo extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento

| Aminoácido | Pb extraído (µg/g de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|------|------|------|------|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 3,9 | 5,2 | 8,2 | 10,2 | 14,3 | 18,5 |
| Ácido Glutâmico | 6,1 | 7,0 | 14,7 | 19,6 | 22,7 | 26,3 |
| Arginina | 3,6 | 5,4 | 6,1 | 7,1 | 11,1 | 11,9 |
| Asparagina | 13,2 | 14,1 | 30,6 | 31,8 | 41,9 | 47,3 |
| Cisteína | 6,0 | 12,3 | 13,3 | 14,7 | 14,9 | 15,9 |
| Fenilalanina | 5,4 | 6,0 | 9,1 | 11,0 | 11,6 | 12,4 |
| Glicina | 1,2 | 2,9 | 4,4 | 5,5 | 6,6 | 8,3 |
| Histidina | 12,1 | 16,4 | 21,6 | 25,5 | 35,7 | 44,8 |
| Isoleucina | 2,9 | 4,4 | 4,6 | 5,4 | 6,1 | 6,5 |
| Leucina | 3,4 | 4,1 | 5,3 | 6,7 | 7,7 | 10,0 |
| Lisina | 3,6 | 5,4 | 7,6 | 8,8 | 11,5 | 15,1 |
| Metionina | 7,9 | 10,9 | 11,7 | 13,0 | 18,1 | 19,6 |
| N-acetil tirosina | 12,8 | 18,0 | 21,0 | 23,2 | 25,5 | 39,8 |
| Ornitina | 6,8 | 8,6 | 9,7 | 14,4 | 16,9 | 19,3 |
| Prolina | 5,2 | 6,3 | 6,9 | 6,8 | 8,8 | 9,4 |
| Serina | 5,4 | 7,3 | 10,3 | 12,9 | 14,6 | 27,2 |
| Tirosina | 12,7 | 15,1 | 17,0 | 18,8 | 30,6 | 42,0 |
| Treonina | 3,2 | 5,9 | 6,6 | 7,2 | 7,3 | 8,8 |
| Triptofano | 6,5 | 13,3 | 13,6 | 13,6 | 16,2 | 19,7 |

Tabela 32 – Cromo extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento

| Aminoácido | Cr extraído (µg/g de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|-----|-----|-----|-----|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 1,4 | 3,3 | 3,6 | 4,9 | 5,7 | 5,9 |
| Ácido Glutâmico | 2,5 | 3,5 | 4,3 | 6,5 | 7,4 | 11,1 |
| Arginina | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| Asparagina | 1,3 | 1,6 | 2,5 | 4,5 | 5,2 | 7,1 |
| Cisteína | 1,3 | 2,4 | 3,7 | 5,9 | 6,0 | 6,5 |
| Fenilalanina | 0,3 | 0,4 | 1,8 | 2,3 | 3,5 | 5,9 |
| Glicina | 0,4 | 0,8 | 1,2 | 1,7 | 2,4 | 2,5 |
| Histidina | 2,5 | 5,7 | 6,2 | 7,7 | 8,9 | 8,3 |
| Isoleucina | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,6 | 0,7 | 0,8 |
| Leucina | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| Lisina | 1,5 | 2,2 | 3,3 | 4,1 | 5,2 | 5,4 |
| Metionina | 1,5 | 3,1 | 4,1 | 5,9 | 7,3 | 8,4 |
| N-acetil tirosina | 1,6 | 1,7 | 1,9 | 2,3 | 2,8 | 6,0 |
| Ornitina | 2,0 | 2,2 | 2,2 | 4,3 | 4,6 | 8,0 |
| Prolina | 1,1 | 1,1 | 1,3 | 1,4 | 1,7 | 1,9 |
| Serina | 0,9 | 2,3 | 4,1 | 5,5 | 7,0 | 7,5 |
| Tirosina | 0,7 | 1,4 | 2,8 | 4,0 | 4,5 | 5,0 |
| Treonina | 0,4 | 0,5 | 0,5 | 0,8 | 0,9 | 1,2 |
| Triptofano | 0,4 | 1,7 | 2,6 | 3,2 | 3,5 | 4,1 |

Tabela 33 – Manganês extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento

| Aminoácido | Mn extraído (µg/g de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|------|------|------|-----|-----|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | n.d. | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 1,1 | 1,2 |
| Ácido Glutâmico | n.d. | 0,1 | 0,3 | 0,4 | 0,7 | 0,9 |
| Arginina | n.d. | n.d. | 0,2 | 0,4 | 0,5 | 0,7 |
| Asparagina | n.d. | n.d. | n.d. | 0,2 | 0,4 | 1,3 |
| Cisteína | n.d. | n.d. | n.d. | 0,4 | 0,6 | 1,3 |
| Fenilalanina | n.d. | n.d. | n.d. | 0,1 | 0,3 | 1,7 |
| Glicina | 0,2 | 0,6 | 0,8 | 1,1 | 1,6 | 1,8 |
| Histidina | n.d. | n.d. | n.d. | 0,1 | 0,2 | 0,6 |
| Isoleucina | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,1 | 0,3 |
| Leucina | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. | 0,1 | 0,3 |
| Lisina | n.d. | n.d. | n.d. | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| Metionina | n.d. | n.d. | 0,5 | 1,1 | 1,9 | 2,4 |
| N-acetil tirosina | n.d. | n.d. | 0,1 | 0,5 | 0,5 | 0,9 |
| Ornitina | 0,3 | 1,0 | 1,4 | 2,4 | 2,9 | 3,8 |
| Prolina | n.d. | 0,1 | 0,1 | 0,3 | 0,4 | 0,8 |
| Serina | n.d. | n.d. | n.d. | 0,1 | 0,2 | 0,6 |
| Tirosina | n.d. | n.d. | n.d. | 0,2 | 0,3 | 0,7 |
| Treonina | n.d. | n.d. | n.d. | 0,1 | 0,2 | 0,4 |
| Triptofano | n.d. | n.d. | n.d. | 0,2 | 0,2 | 0,7 |

n.d.: não detectado

Tabela 34 – Zinco extraído das embalagens de PVC pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Aminoácido | Zn extraído ($\mu\text{g/g}$ de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|--|------|------|-------|-------|-------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 3,4 | 6,2 | 8,8 | 70,4 | 126,8 | 161,4 |
| Ácido Glutâmico | 13,0 | 16,3 | 28,4 | 44,3 | 139,4 | 319,7 |
| Arginina | 3,1 | 7,2 | 8,0 | 19,3 | 34,0 | 48,8 |
| Asparagina | 10,7 | 23,1 | 27,4 | 31,5 | 87,5 | 283,6 |
| Cisteína | 13,7 | 20,6 | 26,7 | 29,0 | 191,7 | 291,9 |
| Fenilalanina | 9,8 | 22,2 | 22,4 | 25,5 | 305,5 | 232,9 |
| Glicina | 3,1 | 7,2 | 7,5 | 9,8 | 98,1 | 169,9 |
| Histidina | 4,5 | 9,3 | 9,8 | 11,1 | 45,3 | 165,3 |
| Isoleucina | 3,9 | 9,2 | 10,2 | 17,7 | 80,2 | 103,5 |
| Leucina | 7,9 | 10,2 | 13,5 | 15,0 | 115,4 | 180,5 |
| Lisina | 8,0 | 9,8 | 11,6 | 14,1 | 35,0 | 60,6 |
| Metionina | 19,9 | 24,5 | 27,3 | 66,7 | 192,4 | 277,1 |
| N-acetil tirosina | 15,3 | 21,3 | 23,4 | 27,3 | 199,9 | 257,3 |
| Ornitina | 8,8 | 14,6 | 17,2 | 18,2 | 152,8 | 207,0 |
| Prolina | 10,5 | 16,5 | 18,3 | 32,2 | 108,0 | 258,2 |
| Serina | 12,1 | 20,2 | 21,0 | 152,3 | 245,2 | 405,7 |
| Tirosina | 11,3 | 22,7 | 25,5 | 218,3 | 347,1 | 486,8 |
| Treonina | 9,5 | 15,9 | 17,7 | 92,0 | 238,1 | 335,3 |
| Triptofano | 17,7 | 24,6 | 25,3 | 27,3 | 327,5 | 225,1 |

Embalagens plásticas de PP

Tabela 35 – Alumínio extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Al extraído ($\mu\text{g/g}$ da substância) | | | |
|-------------------------|--|------|------|------|
| | 30 | 90 | 180 | 225 |
| NaHCO ₃ 8,4% | 0,4 | 0,6 | 0,9 | 1,7 |
| NaHCO ₃ 10% | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,9 |
| MgSO ₄ 10% | 0,3 | 0,5 | 0,9 | 1,2 |
| MgSO ₄ 25% | 0,1 | 0,3 | 0,8 | 0,8 |
| Manitol 0,5% | 1,6 | 1,7 | 1,9 | 2,3 |
| Manitol 12,5% | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Sorbitol 0,5% | 0,7 | 0,7 | 2,0 | 2,5 |
| Glicose 10% | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Glicose 25% | n.d. | n.d. | n.d. | n.d. |
| NaCl 0,9% | 1,3 | 2,1 | 2,4 | 3,0 |
| NaCl 10% | 0,7 | 0,9 | 1,0 | 1,1 |
| NaCl 20% | 0,2 | 0,4 | 0,5 | 0,8 |
| KCl 6% | 1,0 | 1,3 | 1,5 | 2,0 |
| KCl 10% | 0,5 | 0,8 | 1,0 | 1,3 |
| KCl 20% | 0,3 | 0,4 | 0,6 | 0,9 |

n.d.: não detectado

Tabela 36 – Bário extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Ba extraído ($\mu\text{g/g}$ da substância) | | | |
|-------------------------|--|------|------|------|
| | 30 | 90 | 180 | 225 |
| NaHCO ₃ 8,4% | 0,5 | 0,9 | 1,3 | 1,5 |
| NaHCO ₃ 10% | 0,6 | 0,9 | 1,1 | 1,3 |
| MgSO ₄ 10% | 0,1 | 0,4 | 0,7 | 1,2 |
| MgSO ₄ 25% | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| Manitol 0,5% | 1,8 | 8,4 | 9,2 | 10,0 |
| Manitol 12,5% | 0,1 | 0,1 | 0,5 | 0,9 |
| Sorbitol 0,5% | 1,7 | 3,7 | 5,8 | 11,9 |
| Glicose 10% | 0,2 | 0,3 | 0,5 | 1,0 |
| Glicose 25% | n.d. | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| NaCl 0,9% | 3,7 | 11,0 | 20,1 | 29,1 |
| NaCl 10% | 0,6 | 1,7 | 3,2 | 5,9 |
| NaCl 20% | 0,3 | 1,2 | 2,3 | 4,5 |
| KCl 6% | 0,6 | 2,0 | 5,4 | 13,6 |
| KCl 10% | 0,4 | 1,1 | 3,0 | 3,5 |
| KCl 20% | 0,3 | 0,8 | 1,73 | 2,04 |

Tabela 37 – Cádmio extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Cd extraído ($\mu\text{g/g}$ da substância) | | | |
|-------------------------|--|------|------|------|
| | 30 | 90 | 180 | 225 |
| NaHCO ₃ 8,4% | 1,1 | 1,1 | 1,3 | 1,9 |
| NaHCO ₃ 10% | 0,9 | 1,2 | 1,8 | 1,8 |
| MgSO ₄ 10% | 1,3 | 1,8 | 2,7 | 3,0 |
| MgSO ₄ 25% | 0,7 | 1,0 | 1,4 | 1,9 |
| Manitol 0,5% | 2,4 | 2,9 | 4,0 | 4,5 |
| Manitol 12,5% | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Sorbitol 0,5% | 6,0 | 6,7 | 7,0 | 7,1 |
| Glicose 10% | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Glicose 25% | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| NaCl 0,9% | 11,4 | 15,3 | 22,2 | 43,9 |
| NaCl 10% | 1,1 | 2,6 | 3,0 | 8,0 |
| NaCl 20% | 0,6 | 1,1 | 1,4 | 2,7 |
| KCl 6% | 2,1 | 2,6 | 4,3 | 6,4 |
| KCl 10% | 1,2 | 1,9 | 2,6 | 7,4 |
| KCl 20% | 0,7 | 1,5 | 2,1 | 3,4 |

Tabela 38 – Chumbo extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Pb extraído ($\mu\text{g/g}$ da substância) | | | |
|-------------------------|--|------|------|------|
| | 30 | 90 | 180 | 225 |
| NaHCO ₃ 8,4% | 2,2 | 4,4 | 5,3 | 7,2 |
| NaHCO ₃ 10% | 2,9 | 4,5 | 5,0 | 6,5 |
| MgSO ₄ 10% | 2,6 | 5,8 | 6,8 | 7,6 |
| MgSO ₄ 25% | 0,7 | 0,7 | 0,8 | 0,8 |
| Manitol 0,5% | 11,1 | 12,1 | 22,5 | 33,6 |
| Manitol 12,5% | 1,3 | 3,1 | 3,6 | 4,7 |
| Sorbitol 0,5% | 9,7 | 10,0 | 10,5 | 11,2 |
| Glicose 10% | 1,5 | 2,0 | 5,5 | 8,0 |
| Glicose 25% | 0,7 | 1,4 | 1,8 | 2,1 |
| NaCl 0,9% | 24,7 | 36,5 | 8,6 | 42,1 |
| NaCl 10% | 1,7 | 2,3 | 3,0 | 3,3 |
| NaCl 20% | 1,1 | 1,9 | 2,6 | 3,2 |
| KCl 6% | 2,5 | 2,5 | 7,0 | 8,4 |
| KCl 10% | 1,2 | 2,6 | 6,5 | 8,7 |
| KCl 20% | 0,7 | 1,4 | 1,7 | 2,1 |

Tabela 39 – Cromo extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Cr extraído ($\mu\text{g/g}$ da substância) | | | |
|-------------------------|--|-----|-----|-----|
| | 30 | 90 | 180 | 225 |
| NaHCO ₃ 8,4% | 1,1 | 2,4 | 2,8 | 3,1 |
| NaHCO ₃ 10% | 1,4 | 1,4 | 3,7 | 4,2 |
| MgSO ₄ 10% | 1,3 | 1,5 | 5,7 | 5,9 |
| MgSO ₄ 25% | 2,2 | 1,3 | 0,2 | 2,7 |
| Manitol 0,5% | 1,6 | 1,9 | 2,5 | 3,7 |
| Manitol 12,5% | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,4 |
| Sorbitol 0,5% | 5,2 | 6,0 | 6,3 | 7,3 |
| Glicose 10% | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| Glicose 25% | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| NaCl 0,9% | 3,5 | 5,1 | 7,8 | 9,0 |
| NaCl 10% | 0,7 | 0,8 | 1,0 | 1,1 |
| NaCl 20% | 0,6 | 0,7 | 0,7 | 0,8 |
| KCl 6% | 4,0 | 5,5 | 5,7 | 5,7 |
| KCl 10% | 1,2 | 2,5 | 3,4 | 4,4 |
| KCl 20% | 1,1 | 2,4 | 3,3 | 4,2 |

Tabela 40 – Zinco extraído das embalagens de PP por sais, glicose e outras substâncias ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Zn extraído ($\mu\text{g/g}$ da substância) | | | |
|-------------------------|--|------|------|------|
| | 30 | 90 | 180 | 225 |
| NaHCO ₃ 8,4% | 4,8 | 5,0 | 8,1 | 9,9 |
| NaHCO ₃ 10% | 2,2 | 3,4 | 4,5 | 6,4 |
| MgSO ₄ 10% | 1,4 | 2,7 | 2,9 | 3,1 |
| MgSO ₄ 25% | 0,8 | 1,8 | 2,3 | 3,0 |
| Manitol 0,5% | 4,7 | 5,2 | 5,9 | 7,0 |
| Manitol 12,5% | 1,3 | 1,6 | 1,6 | 1,6 |
| Sorbitol 0,5% | 6,2 | 10,2 | 10,5 | 11,1 |
| Glicose 10% | 1,3 | 2,2 | 2,2 | 2,4 |
| Glicose 25% | 0,9 | 1,4 | 2,6 | 2,8 |
| NaCl 0,9% | 9,6 | 11,4 | 17,1 | 22,5 |
| NaCl 10% | 0,8 | 1,1 | 1,5 | 1,9 |
| NaCl 20% | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,9 |
| KCl 6% | 1,1 | 1,6 | 1,9 | 2,3 |
| KCl 10% | 0,6 | 0,9 | 1,0 | 1,3 |
| KCl 20% | 0,3 | 0,5 | 0,6 | 0,6 |

Embalagens plásticas de EVA

Tabela 41 – Alumínio extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Al extraído ($\mu\text{g/g}$ de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|--|------|------|------|------|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 2,1 | 2,3 | 3,1 | 3,4 | 5,0 | 6,6 |
| Ácido Glutâmico | 1,2 | 2,2 | 3,9 | 5,5 | 10,3 | 15,2 |
| Arginina | 0,6 | 0,7 | 1,3 | 1,6 | 2,3 | 2,9 |
| Asparagina | 4,8 | 9,8 | 10,9 | 12,1 | 16,5 | 22,9 |
| Cisteína | 1,7 | 3,3 | 5,0 | 6,2 | 11,2 | 16,1 |
| Fenilalanina | 2,7 | 3,7 | 5,2 | 6,8 | 8,4 | 9,1 |
| Glicina | 0,7 | 0,9 | 1,1 | 1,2 | 1,3 | 1,4 |
| Glicose 10% | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Histidina | 5,7 | 8,1 | 8,4 | 9,4 | 10,2 | 13,6 |
| Isoleucina | 1,0 | 1,6 | 2,0 | 2,6 | 3,7 | 4,4 |
| Leucina | 1,2 | 1,7 | 2,0 | 3,0 | 3,9 | 4,8 |
| Lisina | 0,7 | 0,8 | 1,2 | 2,1 | 2,8 | 3,2 |
| Metionina | 2,2 | 2,8 | 3,2 | 3,5 | 4,2 | 5,9 |
| N-acetil tirosina | 8,2 | 12,4 | 14,1 | 15,9 | 21,0 | 26,4 |
| Ornitina | 1,3 | 1,4 | 1,5 | 2,2 | 2,8 | 3,3 |
| Prolina | 0,9 | 1,5 | 4,0 | 4,5 | 6,4 | 8,6 |
| Serina | 1,2 | 1,4 | 2,2 | 2,9 | 3,4 | 3,6 |
| Tirosina | 1,1 | 1,2 | 1,6 | 2,0 | 2,7 | 2,9 |
| Treonina | 1,1 | 2,0 | 3,6 | 5,1 | 9,5 | 12,4 |
| Triptofano | 1,8 | 2,1 | 2,3 | 2,6 | 3,7 | 4,0 |
| KCl 10% | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| NaCl 10% | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |

Tabela 42 – Bário extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Ba extraído (µg/g de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|------|------|------|------|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 1,4 | 1,5 | 2,5 | 3,8 | 4,6 | 6,2 |
| Ácido Glutâmico | 2,7 | 4,0 | 5,5 | 6,1 | 6,7 | 8,5 |
| Arginina | 5,3 | 5,7 | 6,2 | 7,4 | 9,3 | 11,6 |
| Asparagina | 2,8 | 3,6 | 4,8 | 6,3 | 8,0 | 9,4 |
| Cisteína | 1,0 | 3,5 | 4,3 | 6,4 | 7,3 | 10,4 |
| Fenilalanina | 17,8 | 19,2 | 19,7 | 28,7 | 35,1 | 50,9 |
| Glicina | 3,6 | 3,9 | 4,6 | 5,3 | 6,8 | 7,4 |
| Glicose 10% | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Histidina | 8,1 | 9,5 | 10,8 | 11,7 | 14,4 | 22,7 |
| Isoleucina | 2,5 | 2,8 | 3,8 | 6,3 | 7,8 | 10,6 |
| Leucina | 9,3 | 11,6 | 12,2 | 13,1 | 15,8 | 18,5 |
| Lisina | 2,9 | 3,3 | 3,6 | 4,5 | 8,1 | 14,1 |
| Metionina | 11,0 | 12,9 | 15,0 | 17,2 | 21,9 | 26,4 |
| N-acetil tirosina | 4,0 | 5,6 | 8,0 | 10,3 | 20,7 | 23,4 |
| Ornitina | 4,3 | 7,8 | 11,7 | 12,6 | 14,4 | 19,0 |
| Prolina | 0,9 | 1,4 | 2,3 | 3,0 | 3,2 | 4,9 |
| Serina | 1,0 | 2,1 | 2,5 | 4,1 | 4,8 | 6,7 |
| Tirosina | 1,7 | 2,2 | 3,1 | 3,6 | 4,7 | 7,5 |
| Treonina | 0,4 | 1,2 | 1,8 | 2,3 | 3,0 | 3,6 |
| Triptofano | 1,5 | 1,9 | 3,2 | 4,3 | 4,5 | 5,7 |
| KCl 10% | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| NaCl 10% | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 |

Tabela 43 – Cádmio extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Cd extraído (µg/g de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|------|------|------|------|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 0,4 | 0,5 | 1,6 | 1,7 | 4,1 | 8,7 |
| Ácido Glutâmico | 7,9 | 9,4 | 11,7 | 14,7 | 16,2 | 20,2 |
| Arginina | 0,8 | 0,9 | 1,1 | 1,3 | 1,7 | 2,3 |
| Asparagina | 5,5 | 6,1 | 7,4 | 7,9 | 8,7 | 11,2 |
| Cisteína | 0,5 | 0,9 | 1,7 | 2,3 | 3,3 | 4,9 |
| Fenilalanina | 24,5 | 24,8 | 26,1 | 28,7 | 29,2 | 29,6 |
| Glicina | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 | 0,3 | 0,4 |
| Glicose 10% | 0,3 | 0,3 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| Histidina | 0,5 | 1,0 | 1,4 | 1,6 | 3,0 | 3,3 |
| Isoleucina | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 0,6 | 0,9 | 1,1 |
| Leucina | 0,4 | 0,5 | 0,7 | 0,9 | 1,6 | 1,9 |
| Lisina | 1,5 | 2,0 | 2,4 | 3,1 | 3,6 | 4,4 |
| Metionina | 2,7 | 2,8 | 3,6 | 4,1 | 4,4 | 4,6 |
| N-acetil tirosina | 1,0 | 1,1 | 1,1 | 1,2 | 1,4 | 1,9 |
| Ornitina | 0,4 | 0,6 | 0,9 | 1,2 | 1,3 | 1,5 |
| Prolina | 0,2 | 0,5 | 0,8 | 1,2 | 1,3 | 1,7 |
| Serina | 0,5 | 1,3 | 2,2 | 2,3 | 2,9 | 3,1 |
| Tirosina | 0,7 | 1,3 | 1,5 | 1,8 | 2,0 | 2,2 |
| Treonina | 0,2 | 0,4 | 0,5 | 0,7 | 0,8 | 1,0 |
| Triptofano | 0,5 | 0,6 | 1,0 | 1,3 | 1,7 | 1,8 |
| KCl 10% | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| NaCl 10% | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |

Tabela 44 – Chumbo extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Pb extraído ($\mu\text{g/g}$ de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|--|------|-------|-------|-------|-------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 11,3 | 21,6 | 44,1 | 74,9 | 212,3 | 149,3 |
| Ácido Glutâmico | 23,0 | 53,0 | 112,1 | 170,3 | 257,2 | 301,9 |
| Arginina | 21,0 | 23,5 | 26,9 | 72,0 | 86,3 | 112,3 |
| Asparagina | 4,8 | 57,0 | 66,1 | 91,8 | 198,7 | 276,3 |
| Cisteína | 8,9 | 70,2 | 88,8 | 247,7 | 406,4 | 641,3 |
| Fenilalanina | 22,7 | 24,8 | 25,7 | 27,3 | 32,5 | 40,1 |
| Glicina | 14,3 | 14,4 | 15,2 | 16,2 | 17,3 | 22,6 |
| Glicose 10% | 1,3 | 1,4 | 1,5 | 1,6 | 1,9 | 2,0 |
| Histidina | 54,2 | 54,8 | 56,6 | 57,2 | 58,1 | 62,7 |
| Isoleucina | 15,6 | 16,0 | 16,6 | 18,0 | 18,6 | 19,5 |
| Leucina | 18,6 | 22,4 | 25,8 | 26,2 | 27,6 | 29,1 |
| Lisina | 17,8 | 19,8 | 20,3 | 21,5 | 21,9 | 23,1 |
| Metionina | 29,5 | 34,3 | 35,1 | 36,5 | 38,9 | 40,1 |
| N-acetil tirosina | 27,4 | 36,8 | 37,6 | 43,4 | 49,7 | 58,3 |
| Ornitina | 19,7 | 23,8 | 25,9 | 26,4 | 26,8 | 27,1 |
| Prolina | 12,3 | 14,4 | 46,6 | 78,2 | 121,1 | 141,5 |
| Serina | 18,9 | 20,5 | 20,9 | 21,4 | 21,6 | 22,4 |
| Tirosina | 4,3 | 53,2 | 62,6 | 79,7 | 99,3 | 112,4 |
| Treonina | 14,9 | 16,7 | 17,0 | 18,6 | 19,0 | 19,7 |
| Triptofano | 2,1 | 38,8 | 52,4 | 93,1 | 118,1 | 144,3 |
| KCl 10% | 0,3 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,5 | 0,7 |
| NaCl 10% | 0,2 | 0,4 | 0,4 | 0,5 | 0,5 | 0,7 |

Tabela 45 – Cromo extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Cr extraído (µg/g de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|-----|------|------|------|------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 1,2 | 3,1 | 5,4 | 7,2 | 9,8 | 12,1 |
| Ácido Glutâmico | 2,1 | 4,6 | 6,7 | 9,4 | 12,8 | 14,6 |
| Arginina | 1,3 | 1,3 | 1,4 | 1,4 | 1,5 | 1,6 |
| Asparagina | 2,5 | 2,8 | 3,1 | 3,7 | 4,3 | 4,5 |
| Cisteína | 3,4 | 3,6 | 3,6 | 3,9 | 4,3 | 4,4 |
| Fenilalanina | 2,6 | 2,7 | 3,0 | 3,5 | 3,7 | 4,0 |
| Glicina | 0,9 | 1,0 | 1,2 | 1,4 | 1,5 | 1,5 |
| Glicose 10% | n.d. | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Histidina | 4,4 | 7,3 | 12,6 | 17,4 | 23,8 | 27,0 |
| Isoleucina | 1,8 | 2,8 | 4,6 | 6,1 | 7,4 | 8,8 |
| Leucina | 1,9 | 2,1 | 2,2 | 2,4 | 2,5 | 2,7 |
| Lisina | 1,8 | 1,9 | 2,1 | 2,2 | 2,2 | 2,4 |
| Metionina | 3,0 | 3,3 | 3,4 | 3,5 | 3,6 | 3,9 |
| N-acetil tirosina | 3,2 | 3,4 | 3,6 | 3,8 | 3,9 | 4,2 |
| Ornitina | 2,6 | 2,9 | 3,2 | 3,4 | 3,5 | 3,9 |
| Prolina | 1,7 | 2,9 | 4,6 | 6,1 | 8,4 | 9,1 |
| Serina | 2,1 | 2,5 | 2,7 | 2,9 | 3,0 | 3,5 |
| Tirosina | 2,0 | 2,3 | 2,7 | 3,3 | 3,5 | 4,2 |
| Treonina | 1,7 | 1,9 | 2,2 | 2,3 | 2,5 | 2,6 |
| Triptofano | 1,7 | 2,0 | 2,3 | 2,7 | 2,9 | 3,1 |
| KCl 10% | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| NaCl 10% | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,2 | 0,3 |

Tabela 46 – Zinco extraído das embalagens de EVA pelos aminoácidos ao longo de 225 dias de armazenamento.

| Substância | Zn extraído (µg/g de aminoácido) | | | | | |
|-------------------|----------------------------------|------|------|-------|-------|-------|
| | 15 | 45 | 90 | 135 | 180 | 225 |
| Ácido Aspártico | 5,5 | 8,0 | 10,1 | 12,7 | 14,4 | 33,1 |
| Ácido Glutâmico | 8,1 | 9,4 | 14,4 | 19,9 | 32,0 | 55,8 |
| Arginina | 5,2 | 11,8 | 20,7 | 26,5 | 34,8 | 45,8 |
| Asparagina | 3,3 | 3,3 | 4,0 | 4,6 | 4,7 | 4,8 |
| Cisteína | 6,6 | 7,0 | 7,3 | 7,5 | 7,9 | 8,2 |
| Fenilalanina | 7,4 | 15,1 | 17,8 | 21,4 | 25,5 | 45,6 |
| Glicina | 2,6 | 3,4 | 4,0 | 5,0 | 5,8 | 13,3 |
| Glicose 10% | 0,4 | 0,4 | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 0,7 |
| Histidina | 8,0 | 9,6 | 21,2 | 22,8 | 26,5 | 49,9 |
| Isoleucina | 2,9 | 3,1 | 4,4 | 5,8 | 6,4 | 12,9 |
| Leucina | 4,3 | 5,1 | 6,8 | 15,9 | 18,7 | 29,6 |
| Lisina | 3,3 | 6,9 | 9,2 | 11,5 | 14,2 | 23,1 |
| Metionina | 23,5 | 50,2 | 76,5 | 106,0 | 124,2 | 134,0 |
| N-acetil tirosina | 14,2 | 22,4 | 24,1 | 36,5 | 43,8 | 86,4 |
| Ornitina | 4,5 | 6,0 | 7,5 | 12,6 | 14,6 | 31,7 |
| Prolina | 4,0 | 5,3 | 8,4 | 10,9 | 14,3 | 39,3 |
| Serina | 4,8 | 5,6 | 6,6 | 14,8 | 17,2 | 38,8 |
| Tirosina | 2,0 | 2,6 | 3,0 | 3,8 | 4,4 | 5,1 |
| Treonina | 10,3 | 28,1 | 47,3 | 54,5 | 59,6 | 75,7 |
| Triptofano | 2,8 | 3,1 | 3,8 | 3,9 | 4,3 | 4,5 |
| KCl 10% | 0,3 | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 0,9 | 1,2 |
| NaCl 10% | 0,6 | 0,7 | 0,7 | 0,8 | 0,9 | 1,5 |

Apêndice 3

Resultados da extração de metais em embalagens de vidro, em µg/g

Frascos de pequeno volume

Tabela 47 – Alumínio extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Al extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|------|------|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,1 | 0,4 | 0,5 |
| Glicina | 0,6 | 1,3 | 3,3 |
| Arginina | 3,1 | 4,1 | 5,0 |
| Metionina | 0,8 | 1,4 | 2,9 |
| Ácido Glutâmico | 6,4 | 8,4 | 10,3 |
| Cisteína | 11,6 | 16,1 | 22,3 |
| Glicose | 0,1 | 0,1 | 0,3 |
| NaCl | 0,3 | 0,2 | 0,3 |
| KCl | 0,4 | 0,5 | 0,6 |
| CaCl ₂ | 0,1 | 0,5 | 0,5 |
| NaHCO ₃ | 0,2 | 0,2 | 0,4 |
| Ácido caprílico | 1,9 | 2,5 | 2,7 |
| Ácido capróico | 2,7 | 3,0 | 3,3 |

Tabela 48 – Cádmiu extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Cd extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|------|------|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,1 | 0,2. | 0,4 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | 0,1. | 0,1 | 0,1. |
| Metionina | 0,2. | 0,4 | 0,6 |
| Ácido Glutâmico | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| Cisteína | 0,3 | 0,6 | 1,0 |
| Glicose | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| NaCl | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| KCl | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| CaCl ₂ | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| NaHCO ₃ | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Ácido caprílico | 0,3 | 0,6 | 1,3 |
| Ácido capróico | 0,4 | 0,9 | 1,3 |

n.d.: não detectado

Tabela 49 – Chumbo extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Pb extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,2 | 0,2 | 0,4 |
| Glicina | 0,4 | 0,6 | 0,7 |
| Arginina | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| Metionina | 0,6 | 0,8 | 1,1 |
| Ácido Glutâmico | 3,9 | 6,4 | 7,3 |
| Cisteína | 3,9 | 6,3 | 7,6 |
| Glicose | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| NaCl | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| KCl | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| CaCl ₂ | 0,6 | 0,8 | 1,0 |
| NaHCO ₃ | 0,8 | 1,1 | 1,4 |
| Ácido caprílico | 1,4 | 1,8 | 2,3 |
| Ácido capróico | 1,2 | 2,3 | 3,0 |

n.d.: não detectado

Tabela 50 – Cromo extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento

| Substâncias | Cr extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|------|------|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Metionina | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| Ácido Glutâmico | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Cisteína | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Glicose | n.d. | n.d. | n.d. |
| CaCl ₂ | n.d. | n.d. | n.d. |
| NaCl | n.d. | n.d. | n.d. |
| KCl | n.d. | n.d. | 0,1 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Ácido caprílico | 0,5 | 0,8 | 1,0 |
| Ácido capróico | 0,4 | 0,7 | 1,0 |

n.d.: não detectado

Tabela 51 – Ferro extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Fe extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,4 | 0,7 | 0,8 |
| Glicina | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Metionina | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| Ácido Glutâmico | 1,1 | 1,7 | 2,1 |
| Cisteína | 2,4 | 3,7 | 4,8 |
| Glicose | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| NaCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| KCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| CaCl ₂ | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Ácido caprílico | 0,7 | 0,7 | 0,8 |
| Ácido capróico | 0,8 | 1,0 | 1,0 |

n.d.: não detectado

Tabela 52 – Zinco extraído das embalagens de pequeno volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Zn extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 4,2 | 6,4 | 7,4 |
| Glicina | 1,5 | 1,9 | 2,2 |
| Arginina | 1,0 | 1,1 | 1,1 |
| Metionina | 3,5 | 5,0 | 6,0 |
| Ácido Glutâmico | 3,6 | 5,4 | 5,6 |
| Cisteína | 6,1 | 8,0 | 8,4 |
| Glicose | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| NaCl | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| KCl | 0,3 | 0,3 | 0,4 |
| CaCl ₂ | 0,5 | 0,8 | 0,8 |
| NaHCO ₃ | 0,3 | 0,5 | 0,5 |
| Ácido caprílico | 2,2 | 3,7 | 4,5 |
| Ácido capróico | 4,3 | 6,0 | 6,9 |

Frascos de grande volume

Tabela 53 – Alumínio extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Al extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|------|------|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Metionina | 0,3 | 0,5 | 0,7 |
| Ácido Glutâmico | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| Cisteína | 0,2 | 0,5 | 0,7 |
| Glicose | n.d. | n.d. | n.d. |
| NaCl | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| KCl | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| CaCl ₂ | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| NaHCO ₃ | n.d. | 0,2 | 0,3 |
| Ácido caprílico | 0,4 | 0,5 | 0,9 |
| Ácido capróico | 0,4 | 0,7 | 1,1 |

Tabela 54 – Cádmio extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Cd extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|------|------|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | n.d. | n.d. | n.d. |
| Glicina | n.d. | n.d. | 0,1 |
| Arginina | n.d. | n.d. | 0,1 |
| Metionina | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Ácido Glutâmico | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Cisteína | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Glicose | n.d. | n.d. | n.d. |
| NaCl | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| KCl | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| CaCl ₂ | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| NaHCO ₃ | n.d. | 0,2 | 0,3 |
| Ácido caprílico | 0,4 | 0,5 | 0,9 |
| Ácido capróico | 0,4 | 0,7 | 1,1 |

n.d.: não detectável

Tabela 55 – Chumbo extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Pb extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| Glicina | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| Arginina | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| Metionina | 0,4 | 0,6 | 0,9 |
| Ácido Glutâmico | 3,27 | 4,0 | 5,6 |
| Cisteína | 4,2 | 5,0 | 6,0 |
| Glicose | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| NaCl | 0,3 | 0,3 | 0,4 |
| KCl | 0,2 | 0,3 | 0,4 |
| CaCl ₂ | 0,5 | 0,5 | 0,6 |
| NaHCO ₃ | 0,6 | 0,8 | 0,9 |
| Ácido caprílico | 0,9 | 1,3 | 1,5 |
| Ácido capróico | 0,6 | 1,7 | 1,9 |

Tabela 56 – Cromo extraído das embalagens de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Cr extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|------|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Metionina | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| Ácido Glutâmico | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Cisteína | 0,5 | 0,7 | 0,9 |
| Glicose | n.d. | n.d. | 0,1 |
| CaCl ₂ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| NaCl | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| KCl | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Ácido caprílico | 0,3 | 0,3 | 0,4 |
| Ácido capróico | 0,3 | 0,3 | 0,4 |

n.d.: não detectado

Tabela 57 – Fe extraído dos frascos de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Fe extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,4 | 0,4 | 0,5 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Metionina | 0,3 | 0,5 | 0,6 |
| Ácido Glutâmico | 1,3 | 1,4 | 2,1 |
| Cisteína | 3,0 | 4,8 | 5,4 |
| Glicose | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| NaCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| KCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| CaCl ₂ | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Ácido caprílico | 1,3 | 1,5 | 1,6 |
| Ácido capróico | 0,7 | 0,8 | 0,9 |

n.d.: não detectado

Tabela 58 – Zinco extraído dos frascos de grande volume ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Zn extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 4,2 | 6,5 | 7,5 |
| Glicina | 1,5 | 2,0 | 2,2 |
| Arginina | 0,6 | 1,0 | 1,1 |
| Metionina | 3,1 | 5,0 | 6,5 |
| Ácido Glutâmico | 3,8 | 5,3 | 6,0 |
| Cisteína | 6,0 | 8,0 | 8,4 |
| Glicose | 0,3 | 0,4 | 0,6 |
| NaCl | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| KCl | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| CaCl ₂ | 0,4 | 0,7 | 0,7 |
| NaHCO ₃ | 0,3 | 0,3 | 0,4 |
| Ácido caprílico | 2,6 | 3,9 | 6,6 |
| Ácido capróico | 3,3 | 4,0 | 4,5 |

Ampolas âmbar

Tabela 59 – Alumínio extraído das ampolas âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Al extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,6 | 0,7 | 0,7 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Arginina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Metionina | 0,9 | 1,0 | 1,2 |
| Ácido Glutâmico | 0,4 | 0,7 | 0,8 |
| Cisteína | 1,0 | 1,5 | 1,8 |
| Glicose | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| NaCl | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| KCl | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| CaCl ₂ | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Ácido caprílico | 1,0 | 1,2 | 1,5 |
| Ácido capróico | 0,3 | 0,5 | 0,6 |

Tabela 60 – Cádmiu extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Cd extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|------|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Glicina | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | n.d. | n.d. | 0,1 |
| Metionina | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Ácido Glutâmico | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Cisteína | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| Glicose | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| NaCl | 0,4 | 0,5 | 0,6 |
| KCl | 0,4 | 0,4 | 0,4 |
| CaCl ₂ | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| NaHCO ₃ | n.d. | 0,17 | 0,1 |
| Ácido caprílico | 1,0 | 1,2 | 1,5 |
| Ácido capróico | 0,3 | 0,5 | 0,6 |

n.d.: não detectado

Tabela 61 – Chumbo extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Pb extraído (µg/g de substância) | | |
|--------------------|----------------------------------|------|------|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,6 | 0,9 | 1,0 |
| Glicina | 0,4 | 0,4 | 0,5 |
| Arginina | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Metionina | 1,7 | 1,9 | 2,1 |
| Ácido Glutâmico | 4,1 | 6,3 | 8,6 |
| Cisteína | 12,1 | 19,2 | 27,3 |
| Glicose | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| NaCl | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| KCl | 0,5 | 0,7 | 0,7 |
| CaCl ₂ | 0,5 | 0,5 | 0,6 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| Ácido caprílico | 2,6 | 4,5 | 6,9 |
| Ácido capróico | 2,0 | 3,0 | 5,4 |

n.d.: não detectado

Tabela 62 – Cromo extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Cr extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,2 | 0,2 | 0,4 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Arginina | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| Metionina | 0,2 | 0,4 | 0,5 |
| Ácido Glutâmico | 0,1 | 0,4 | 0,6 |
| Cisteína | 0,6 | 1,0 | 1,3 |
| Glicose | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| NaCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| KCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| CaCl ₂ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| NaHCO ₃ | 0,2 | 0,3 | 0,4 |
| Ácido caprílico | 0,3 | 0,8 | 1,1 |
| Ácido capróico | 0,3 | 0,5 | 1,1 |

n.d.: não detectado

Tabela 63 – Ferro extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento

| Substâncias | Fe extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|---------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| n.d.: não detectado | | | |
| Serina | 0,2 | 0,3 | 0,4 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | 0,2 | 0,2 | 0,4 |
| Metionina | 0,7 | 0,8 | 0,9 |
| Ácido Glutâmico | 1,7 | 2,6 | 3,5 |
| Cisteína | 5,0 | 7,0 | 7,8 |
| Glicose | 0,3 | 0,5 | 0,6 |
| NaCl | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| KCl | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| CaCl ₂ | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Ácido caprílico | 1,4 | 1,7 | 1,9 |
| Ácido capróico | 1,2 | 1,4 | 1,6 |

Tabela 64 – Zinco extraído das ampolas de vidro âmbar ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Zn extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 3,4 | 3,7 | 4,4 |
| Glicina | 0,9 | 1,0 | 1,1 |
| Arginina | 1,3 | 1,4 | 1,4 |
| Metionina | n.d. | 3,3 | 3,5 |
| Ácido Glutâmico | 2,7 | 3,0 | 3,4 |
| Cisteína | 5,2 | 5,4 | 5,6 |
| Glicose | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| NaCl | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| KCl | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| CaCl ₂ | 0,4 | 0,4 | 0,5 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,3 | 0,4 |
| Ácido caprílico | 2,5 | 2,7 | 2,9 |
| Ácido capróico | 3,1 | 3,3 | 3,4 |

n.d.: não detectado

Ampolas transparentes

Tabela 65 – Alumínio extraído das ampolas transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Al extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,2 | 0,3 | 0,4 |
| Glicina | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| Metionina | 0,4 | 1,1 | 1,3 |
| Ácido Glutâmico | 0,8 | 1,4 | 3,1 |
| Cisteína | 0,6 | 1,0 | 4,2 |
| Glicose | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| NaCl | 0,2 | 0,3 | 0,3 |
| KCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| CaCl ₂ | 0,6 | 1,0 | 1,2 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Ácido caprílico | 1,4 | 2,7 | 3,0 |
| Ácido capróico | 1,5 | 2,2 | 2,8 |

Tabela 66 – Cádmió extraído das ampolas transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Cd extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| Glicina | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Metionina | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Ácido Glutâmico | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Cisteína | 0,2 | 0,3 | 0,5 |
| Glicose | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| NaCl | 0,6 | 1,0 | 1,2 |
| KCl | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| CaCl ₂ | 0,4 | 0,6 | 1,0 |
| NaHCO ₃ | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| Ácido caprílico | 1,9 | 2,5 | 2,9 |
| Ácido capróico | 0,5 | 0,6 | 1,0 |

n.d.: não detectado

Tabela 67 – Chumbo extraído das ampolas transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Pb extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|------|------|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 1,1 | 1,5 | 2,1 |
| Glicina | 0,5 | 0,5 | 0,6 |
| Arginina | 0,2 | 0,2 | 0,3 |
| Metionina | 1,7 | 1,9 | 2,1 |
| Ácido Glutâmico | 6,5 | 11,3 | 13,8 |
| Cisteína | 17,6 | 32,5 | 42,2 |
| Glicose | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| NaCl | 0,5 | 0,6 | 0,7 |
| KCl | 0,4 | 0,5 | 0,5 |
| CaCl ₂ | 0,7 | 0,7 | 0,8 |
| NaHCO ₃ | 1,0 | 1,1 | 1,2 |
| Ácido caprílico | 1,3 | 4,4 | 4,7 |
| Ácido capróico | 2,2 | 5,1 | 9,6 |

Tabela 68 – Cromo extraído das ampolas transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Cr extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,2 |
| Arginina | 0,1 | 0,3 | 0,3 |
| Metionina | 0,2 | 0,4 | 0,6 |
| Ácido Glutâmico | 0,2 | 0,4 | 0,6 |
| Cisteína | 0,4 | 0,6 | 0,8 |
| Glicose | n.d. | 0,1 | 0,1 |
| NaCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| KCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| CaCl ₂ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Ácido caprílico | 0,6 | 0,8 | 1,2 |
| Ácido capróico | 0,6 | 1,1 | 1,5 |

n.d.: não detectado

Tabela 69 – Ferro extraído das ampolas transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Fe extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|------|------|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 0,3 | 0,5 | 0,7 |
| Glicina | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Arginina | 0,5 | 0,6 | 0,8 |
| Metionina | 0,8 | 1,0 | 1,1 |
| Ácido Glutâmico | 2,6 | 4,9 | 7,4 |
| Cisteína | 8,0 | 13,4 | 18,6 |
| Glicose | 0,3 | 0,4 | 0,5 |
| NaCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| KCl | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| CaCl ₂ | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| NaHCO ₃ | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| Ácido caprílico | 1,1 | 1,3 | 1,4 |
| Ácido capróico | 0,8 | 0,9 | 1,0 |

n.d.: não detectado

Tabela 70 – Zinco extraído das ampolas de vidro transparentes ao longo de 90 dias de armazenamento.

| Substâncias | Zn extraído ($\mu\text{g/g}$ de substância) | | |
|--------------------|--|-----|-----|
| | 30 | 60 | 90 |
| Serina | 3,6 | 3,9 | 4,1 |
| Glicina | 1,2 | 1,3 | 1,3 |
| Arginina | 1,1 | 1,2 | 1,3 |
| Metionina | 3,4 | 3,7 | 4,2 |
| Ácido Glutâmico | 3,1 | 3,2 | 3,5 |
| Cisteína | 4,2 | 4,3 | 4,9 |
| Glicose | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| NaCl | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| KCl | 0,3 | 0,4 | 0,4 |
| CaCl ₂ | 0,4 | 0,4 | 0,5 |
| NaHCO ₃ | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Ácido caprílico | 2,4 | 2,9 | 3,1 |
| Ácido capróico | 3,2 | 3,5 | 4,1 |

Apêndice 4

Composição das embalagens plásticas utilizadas para armazenar as soluções parenterais

| Solução comercial | Marca da solução | Tipo de embalagem |
|-------------------------|------------------|-------------------|
| Água para injeção | Fresenius | Plástica (PP) |
| NaHCO ₃ 8,4% | Ariston | Plástica (PP) |
| KCl 10% | Equiplex | Plástica (PP) |
| NaCl 0,9% | B. braun | Plástica (PP) |
| NaCl 20% | Isofarma | Plástica (PVC) |
| NaCl 20% | Hipofarma | Plástica (PP) |
| Fosfato de K 2 mEq/L | Áster | Plástica (PP) |
| Glicose 5% | Endomed | Plástica (PP) |
| Glicose 10% | Fresenius | Plástica (PVC) |
| Glicose 25% | Halex Istar | Plástica (PVC) |
| Glicose 50% | B. braun | Plástica (PVC) |
| Glicose 50% | Halex Istar | Plástica (PP) |
| Kabiven 900 Kcal | Fresenius | Plástica (PP) |
| Kabiven 1000 Kcal | Fresenius | Plástica (PP) |
| Endonidazol | Fresenius | Plástica (PP) |
| Haes Steril 10% | Fresenius | Plástica (PP) |
| Hisocel 3,5% | Fresenius | Plástica (PP) |
| Voluven 6% | Fresenius | Plástica (PVC) |
| Manitol 20% | Endomed | Plástica (PP) |

Apêndice 5

Composição das embalagens de vidro utilizadas para armazenar as soluções parenterais

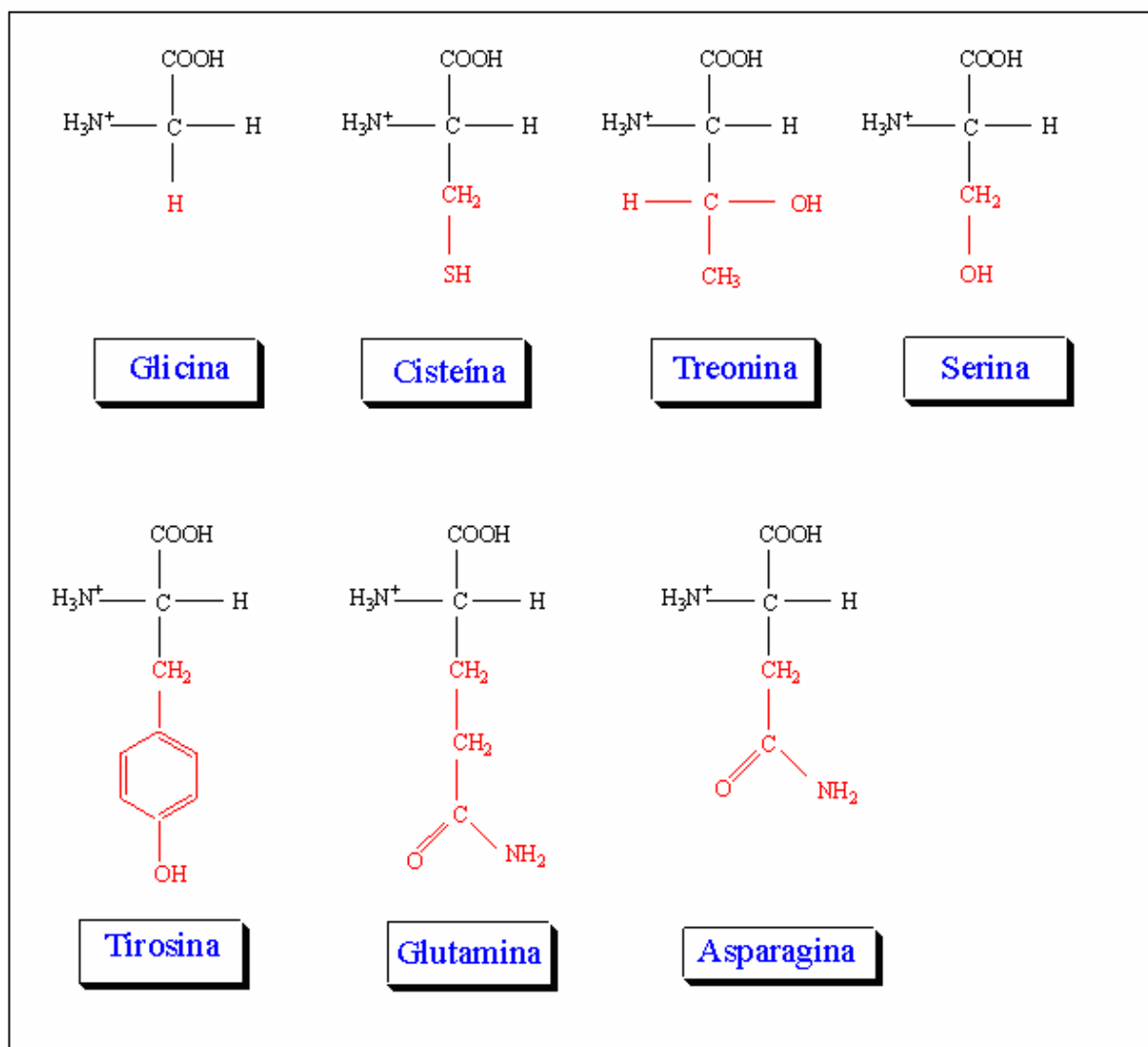
| Solução comercial | Marca da solução | Tipo de embalagem |
|-------------------------|------------------|-----------------------------|
| Aminoped 10% | Fresenius | Frasco de 1000 mL (GV) |
| Aminoplamal 10% | Fresenius | Frasco de 1000 mL (GV) |
| Aminosteril 10% | Fresenius | Frasco de 1000 mL (GV) |
| Aminosteril Hepat. 8% | Fresenius | Frasco de 1000 mL (GV) |
| Lipofundin | B. Braun | Frasco de 100 mL (GV) |
| Lipovenos | B. Braun | Frasco de 100 mL (GV) |
| N-acetil cisteína | Darrow | Ampola Âmbar (10 mL) |
| Nefroamino | B. Braun | Frasco de 500 mL (GV) |
| Ped element | Darrow | Ampola transparente (10 mL) |
| Acetato de Zn 4,6% | B. Braun | Ampola transparente (10 mL) |
| Água injetável | EMS | Ampola transparente (10 mL) |
| Gluconato de cálcio | Hipofarma | Ampola transparente (20 mL) |
| NaHCO ₃ 8,4% | Halex Istar | Ampola transparente (15 mL) |
| MgSO ₄ 10% | Hipofarma | Ampola transparente (10 mL) |
| Aderogil D ₃ | Aventis | Ampola transparente (10 mL) |
| Complexo B | Ariston | Ampola âmbar (10 mL) |
| Complexo B | Hipolabor | Ampola âmbar (10 mL) |
| Complexo B | Luper | Ampola âmbar (10 mL) |
| Bplexaron | Ariston | Ampola âmbar (10 mL) |
| Dextrovitase | Aché | Ampola transparente (20 mL) |
| Frutovena | Farmalab | Ampola transparente (20 mL) |
| Vitamina A (Adefort) | Gross | Ampola âmbar (5 mL) |
| Vitamina A (Arovit) | Roche | Ampola âmbar (5 mL) |
| Opoplex | ICN farmacêutica | Frasco de 20 mL (PV) |
| Cernevit | Baxter | Frasco de 10 mL (PV) |
| Citoneurin | Merck | Ampola transparente (10 mL) |
| Vitamina B12 | Neoquímica | Ampola âmbar (10 mL) |
| Vitamina C | SEM | Ampola âmbar (20 mL) |

| | | |
|-----------------------|-----------|----------------------|
| Vitamina C (0,5g/5mL) | Hipolabor | Ampola âmbar (20 mL) |
| Vitamina C (1g/5mL) | Hipolabor | Ampola âmbar (20 mL) |
| Xantinon B12 | BYK | Ampola âmbar (10 mL) |

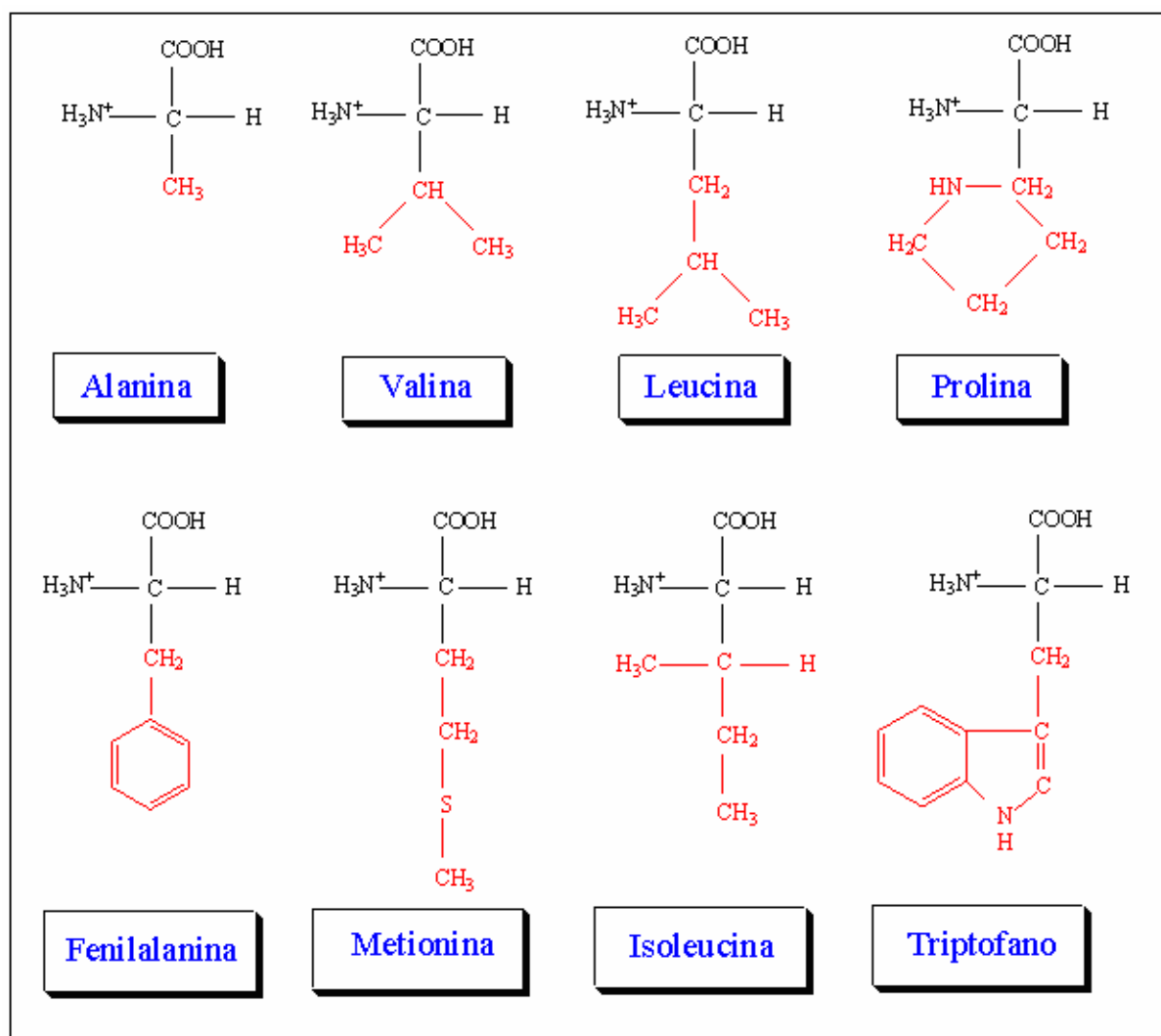
Apêndice 6

Estrutura e classificação dos aminoácidos

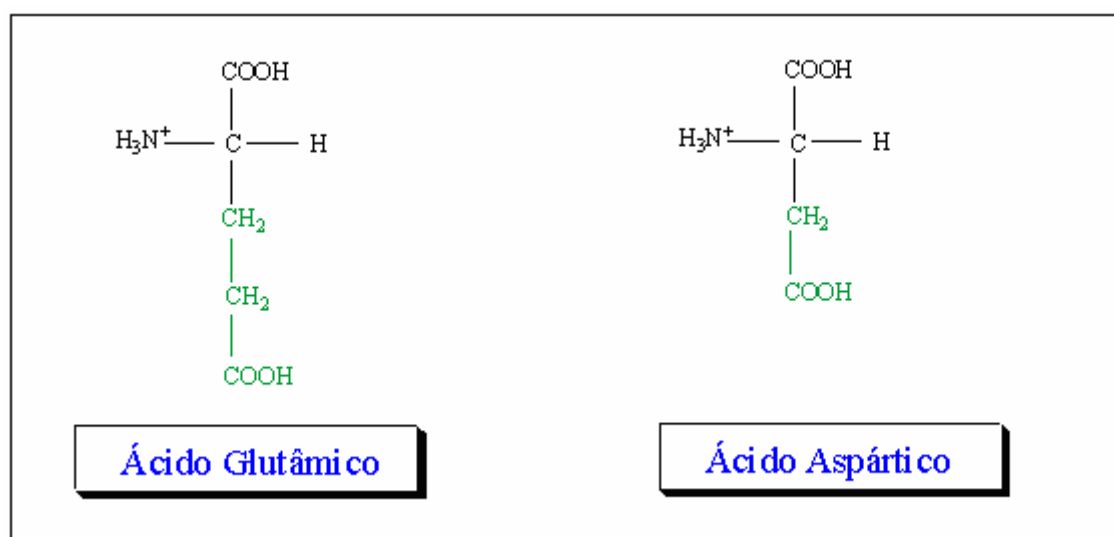
Aminoácidos polares

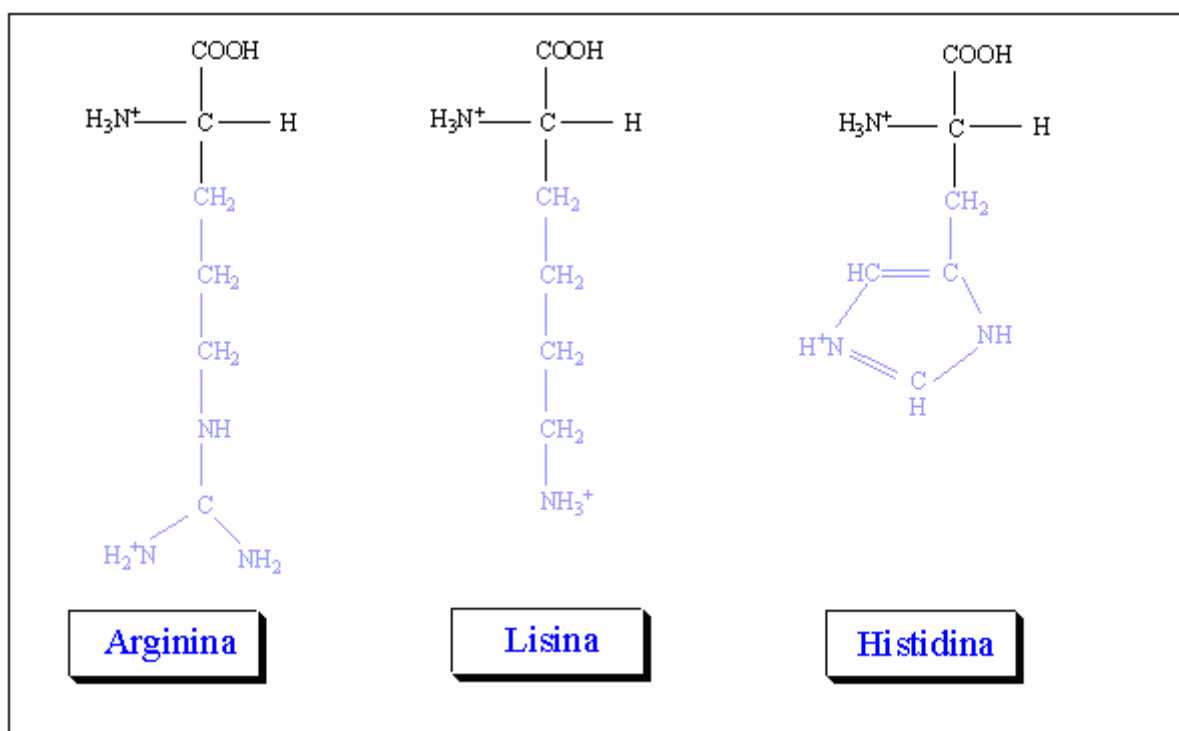


Aminoácidos apolares



Aminoácidos Ácidos



Aminoácidos Básicos

Apêndice 7

Limites estabelecidos pelas Farmacopéias para metais em embalagens plásticas

| Embalagem | Farmacopéia Britânica | Farmacopéia Americana | Farmacopéia Japonesa |
|-----------|--|-----------------------|-----------------------|
| PVC | <ul style="list-style-type: none"> - Bário: até 5 ppm - Cádmio: até 0,6 ppm - Estanho: até 20 ppm - Cálcio: até 0,7 ppm - Chumbo: até 2 ppm - Zinco: até 2 ppm | Não há especificações | Não há especificações |
| PP | <ul style="list-style-type: none"> - Alumínio: até 1 ppm - Cromo: até 0,05 ppm - Titânio: até 1 ppm - Vanádio: até 0,1 ppm - Zinco: até 1 ppm | Não há especificações | Não há especificações |
| EVA | Não há especificações | Não há especificações | Não há especificações |

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, R. A., Chromium metabolism and its role in the disease process in man. **Clin Physiol Biochem** v. 4, p. 31-41, 1986.

AVIS, K. E., LACHMAN, L., LIEBERMAN, H. A., Pharmaceutical dosage forms: Parenteral medications, v. 2, Ed. **Marcel Dekker Inc**, New York, 1986.

BECKER, E., **Investigação sobre a origem da contaminação pelas espécies de arsênio em soluções de nutrição parenteral**, Dissertação de mestrado, UFSM, 2002.

BERTINI, I., GRAY, H. B., LIPPARD, S. J., VALENTINE, J. S., **Bioinorganic Chemistry**, University Science Books, California, 1994.

BINOTTO, R., **Investigação sobre a origem da contaminação por alumínio em soluções de nutrição parenteral**, Dissertação de Mestrado, UFSM, 2001.

BOHRER, D., NASCIMENTO, P. C., BINOTTO, R., POMBLUM, S. C., Influence of the glass packing on the contamination of pharmaceutical products by aluminium. Part I: salts, glucose, heparin and albumin. **J Trace Elem Med Biol**, v. 15(2-3), p. 95-101, 2001.

British Pharmacopeia (BP), London, version 7.0, 2003.

BROWN, M. L., Present knowledge in nutrition, 6^a edition, Washington, DC: **International Life Sciences Institute Nutrition Foundation**, p. 401-402, 1990.

BRZÓSKA, M. M., MONIUSZKO-JAKONIUK, J., Interactions between cadmium and zinc in the organism, **Food and Chemical Toxicology**, v. 39 (10), p. 967-980, 2001.

BUCHMAN, A. L., NEELY, M., GROSSIE, V.B., TRUONG, L., LYKISSA, E. AND AHN, C., Organ Heavy-Metal accumulation during Parenteral Nutrition is associated with pathologic abnormalities in rats, **Nutrition**, v. 17, p.600, 2001.

CASTELLI, M., ROSSI, B., CORSETTI, F., MANTOVANI, A., SPERA, G., LUBRANO, C., SILVESTRONI, L., PATRIARCA, M., CHIODO, F., MENDITTO A., Levels of cadmium and lead in blood: an application of valited methods I a group of patients with endocrine/metabolic disorders from the Rome area, **Microchemical Journal**, v. 79, p. 349-355, 2005.

COUTINHO, F. M. B., GOMES, A. S., TEIXEIRA, V. G., Resinas poliméricas para separação e pré-concentração de chumbo, **Química Nova**, v. 27(2), p. 277, 2004.

COWAN, J. A., **Inorganic Biochemistry: An Introduction**, Editora New York: VCH, p. 7-9, 1993.

CHAPPUIS, P. ARNAUD, J. JAUDON, M. C., ZAWISLAK, R., BELLANGER, J., Concentration of zinc, copper, selenium and aluminum un parenteral nutritive solutions. **Annales of Biologie Clinique**, v. 49(8), p. 421-427, 1991.

Deutsch Arzneibuch (DAB), Deutschen Apotheker Verlag, Stuttgart, 2005.

DUFFY, J. A., BAUCKE, F. G. K., Effect of glass composition and basicity on reduction of metal ions to the metallic state in melts, **Physics and Chemistry of Glasses**, v. 38 (1), p. 25-26, 1997.

FISCHER, J. E., **Nutrição Parenteral**, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1978.

FREY, O. R., MAYER, L., Polyethylene vial of calcium gluconate reduce aluminum contamination of TPN, **The annals of Pharmacotherapy**, v. 34, p. 811-812, 2000.

GARCIA, T. A., CORREDOR, L., Biochemical changes in the kidneys after perinatal intoxication with lead and/or cadmium and their antagonistic effects when coadministered, **Ecotox Environ safe**, v. 57, p.184, 2004.

GOYER, R. A., Toxic and essential metal interactions, Annual Review of **Nutrition** v. 17, p. 37-50, 1997.

GREGER, J. L., SUTHERLAND, J. E., Aluminum exposure and metabolism, **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 34(5), p. 439-474, 1997.

Guidance for industry, container closure systems for packaging human drugs and biologics, chemistry, manufacturing and control documentation, **Food and drug Administration**, 1999.

GUVENC, H., KARATAS, F., GUVENC, M., AYGUN, A. D., BEKTAS, S., Low levels of manganese in mothers and their newborns in pregnancies with a neural tube defect. **Pediatrics**, v. 95 (6), 872-879, 1995.

HARRARI, B., GUIRAUD, P., ROCHAT, M. H., ALARY, J. AND FAVIER, A., Interactions related to trace elements in parenteral nutrition, **Pharm Acta Helv**, v.70, p.269, 1995.

HOWARD, A. G., STATHAM, P. J., **Inorganic trace analysis: Philosophy and practice**, Ed. John Wiley & Sons Ltd, England, 1193.

HULL, T. R., PRICE, D., LIU, Y., CLAIRE, L., WILLS, J. B., An investigation into the composition and burning behavior of Ethylene-vinyl acetate copolymer nanocomposite materials. **Polymer Degradation and Stability**, v. 82, p. 365-371, 2003.

ILLIG, H. J., ABC Gals, **Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie**, Leipzig, 1983.

ITO, M., USHIDA, K., NAKAO, N., KIKUCHI, N., NOZAKI, R. and WASHIO, M.; Dechlorination of poly (vinyl chloride) by microwave irradiation: a simple examination

using a commercial microwave oven. **Polymer Degradation and Stability**, v. 91 (8), p. 1694-1700, 2006.

KLEIN, G. L., LEICHTNER, A. M., HEYMAN, M. B., Aluminum in large and small volume parenterals used in total parenteral nutrition: Response to the food and drug administration notice of proposed rule by the North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition, **J Ped Gastroen Nutr**, v. 27(4), p. 457, 1998.

KLEIN, G. L., ALFREY, A. C., SHIKE, A., Parenteral drug products containing aluminum as an ingredient or a contaminant: response to FDA notice of intent, **American Journal Clinical Nutrition**, v. 53, p. 399-402, 1991.

LANGE, J., **Rohstoffe der Glasindustrie 3. Uberarb Aufl** – Leipzig, Stuttgart: Dt Verl für Grundstoffindustrie, 1993.

LEUNG, F. Y., Trace elements in parenteral micronutrition. **Clinical Biochemistry**, v. 28(6), p. 561-566, 1995.

MANO, E. B., **Introdução a Polímeros**, Editora Edgard Blücher Ltda., 1985.

MERIAN, E., **Metals and Compounds in the environment**, VCH Publishers, Inc., New York, 1991.

MERCK INDÚSTRIAS QUÍMICAS, Catálogo de Reagentes, Extran.

MERTZ, W., Chromium in human nutrition: a review **Journal Nutrition**, v. 123 (4), 626-633, 1993.

PAVANETTO, F., GENTA, I., CONTI, B., MODENA, T., MONTANARI, L., Aluminum, cadmium and lead in large volume parenterals contamination levels and sources, **Int J. Pharm**, v. 54(2), p. 143, 1989.

PEARSON, R. G., Hard and Soft Acids and Bases, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 85, n° 22, p. 3533-3539, 1963.

PEARSON, R. G., Hard and Soft Acids and Bases, HSBA, Part I, Fundamental Principles, **J. Chem. Ed.**, v. 45, nº 9, p. 581-587, 1968.

PEARSON, R. G., Hard and Soft Acids and Bases, HSBA, Part II, Underlying theories, **J. Chem. Ed.**, v. 45, nº 10, p. 643-648, 1968.

PFAENDER, H. Schott **Glaslexikon, mvg** – Moderne Verlagsgesellschaft, Berlim, 1989.

POLAK, Y. N. S., **Enfermagem em Nutrição Parenteral: uma revisão da prática segundo OREM**, Ed. Relisul, Curitiba, 1991.

Portaria nº 272, de 08 de abril de 1998. Aprova o regulamento técnico para fixar os requisitos mínimos exigidos para a terapia de nutrição parenteral. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária.

PLUHATOR-MURTON, M. M., FEDORAK, R. N., AUDETTE, R. J., MARRIAGE, B. J., YATSCOFF, R. W., GRARULICH, L. M., Trace element contamination of total parenteral nutrition 2. Effect of storage duration and temperature, **J. Parenteral Enteral Nutrition**, v. 23(4), p. 228-232, 1999.

PLUHATOR-MURTON, M. M., FEDORAK, R. N., AUDETTE, R. J., MARRIAGE, B. J., YATSCOFF, R. W., GRARULICH, L. M., Trace element contamination of total parenteral nutrition 1. Contribution of component solutions, **Journal Parenteral Enteral Nutrition**, v. 23, p. 222, 1999.

SCHOLZE, H., **Glas Natur, Struktur und Eigenschaften**, Springes-Verlag Berlim, Heidelberg, 1988.

Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas (SENAI), disponível em <www.sbrt.ibict.br/resposta.do>, acessado em 22 de janeiro de 2008.

SHELBY, J. E., **Introduction to glass science and technology**, The Royal Society of Chemistry, USA, 1997.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., **Fundamentals of Analytical Chemistry**, Seventh Edition, Saunders College Publishing, USA, 1997.

SHILS, M. E., OLSON, J. A., SHIKE, M., **Modern nutrition in health and disease**, 18^a edition, 1994.

SMITH, R. M., MARTELL, A. E., **NIST Critically Selected Stability Constants of Metals Complex Database**, 1998.

STUHNE-SEKALEC, L., XU, S. X., PARKERS, J. G., OLIVIERI, N. F., TEMPLETON, D. M., Speciation of tissue and cellular iron with on-line detection by inductively coupled plasma-mass spectrometry, **Analytical Biochemistry**, v, 205 (2), p. 278-284, 1992.

The United States Pharmacopeia (USP), p. 23, 1781.

TOMA, H. E., **Química Bioinorgânica**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1984.

WAITABERG, D. L., **Nutrição Enteral e Parenteral na prática clínica**, Ed Atheneu 2^a ed., Rio de Janeiro, 1995.

VALLEE, M. L., FALCHUK, K. H., The biochemical basis of zinc physiology, **Physiology Review**, v. 73, p. 79-118, 1993.