

**UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y  
BROMATOLOGÍA



**ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENVASE-ALIMENTO:  
IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE SUSTANCIAS DE  
PARTIDA Y ADITIVOS EN ENVASES DE USO EN ALIMENTOS**

**JAIME LÓPEZ CERVANTES**

Memoria para optar al grado de Doctor

Universidad de Santiago de Compostela, Abril 2003



**Universidad de Santiago de Compostela**

**Facultad de Farmacia**

**Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología**



**ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENVASE-ALIMENTO:  
IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE SUSTANCIAS DE  
PARTIDA Y ADITIVOS EN ENVASES DE USO EN ALIMENTOS**

**Jaime López Cervantes**

Memoria para optar al grado de Doctor  
Universidad de Santiago de Compostela, Abril 2003



DÑA. PILAR BERMEJO BARRERA, Catedrática de Universidad y Directora del Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Santiago de Compostela,

INFORMA:

Que la memoria, titulada “**Estudio de la interacción envase-alimento: identificación y caracterización de sustancias de partida y aditivos en envases de uso en alimentos**”, que para optar al grado de Doctor presenta Jaime López Cervantes, ha sido realizada bajo la dirección del Catedrático de Universidad Jesús Simal Lozano y del Profesor Titular de Universidad Perfecto Paseiro Losada, en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia.

Y para que así conste, firmo el presente informe en Santiago de Compostela, abril de 2003.

Fdo. Dra. Doña Pilar Bermejo Barrera



Dr. PERFECTO PASEIRO LOSADA, Profesor Titular de Universidad y  
Dr. JESÚS SIMAL LOZANO Catedrático de Universidad ambos del  
Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la  
Universidad de Santiago de Compostela,

AUTORIZAN:

A Don JAIME LÓPEZ CERVANTES la presentación de la  
memoria, titulada **“Estudio de la interacción envase-alimento:  
identificación y caracterización de sustancias de partida y aditivos en  
envases de uso en alimentos”**, que ha realizado bajo su dirección en el  
Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la  
Facultad de Farmacia, para optar al grado de Doctor.

Y para que así conste, se firma el presente informe en Santiago  
de Compostela, Abril de 2003.

Fdo. Prof. Dr. Perfecto Paseiro Losada

Fdo. Prof. Dr. Jesús Simal Lozano





## Agradecimientos:

- Al Dr. PERFECTO PASEIRO LOSADA y al Dr. JESÚS SIMAL LOZANO directores de este trabajo, por el apoyo prestado durante mi estancia en sus laboratorios.
- Al grupo de Profesores Investigadores que forman parte del Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. A Raquel por su apoyo técnico prestado durante la realización del trabajo experimental.





## Agradecimientos Especiales:

- Al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP), dependiente de la Secretaría de Educación Pública del Gobierno de México, por el apoyo dado en la realización de este proyecto.
- Al Instituto Tecnológica de Sonora, México (ITSON), por las facilidades y apoyos que me han dado durante los últimos 17 años de trabajo conjunto.



Para:

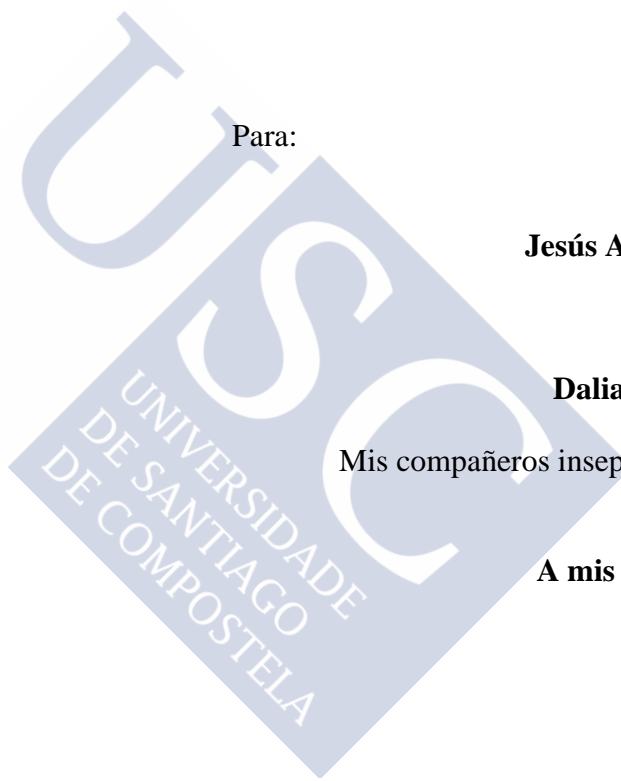
**Jesús Antonio**

Y

**Dalia Isabel**

Mis compañeros inseparables

**A mis padres**





## **ÍNDICE GENERAL**

1. RESUMEN.....	1
2. INTERACCIÓN ENVASE-ALIMENTO.....	25
2.1 Consideraciones previas.....	27
2.1.1 Definiciones de envases.....	29
2.1.2 Necesidades del consumidor.....	33
2.2. Envases activos.....	33
2.2.1 Absorbedores de oxígeno.....	37
2.2.2 Aspectos legales del envase activo.....	39
2.3. Envases de plástico.....	41
2.3.1 Cloruro de polivinilo (PVC).....	42
2.3.2 Tereftalato de polietileno (PET).....	44
2.3.3 Aditivos en plásticos.....	44
2.3.4 Plastificantes.....	45
2.3.5 Migración.....	47
2.4 Legislación europea sobre envases.....	51
2.4.1 Directivas sobre materiales y artículos en contacto con alimentos.....	53
2.4.2 Listas positivas.....	64
2.4.3 Migración global (OM).....	65
2.4.4 Migración específica.....	66
2.4.5 Legislación de envases activos.....	67
2.5 Referencias.....	71
3. OBJETIVOS.....	81
4. EVALUATING THE MIGRATION OF INGREDIENTS FROM ACTIVE PACKAGING AND DEVELOPMENT OF DEDICATED METHODS: A STUDY OF TWO IRON-BASED	

OXYGEN ABSORBERS.....	85
4.1 Abstract.....	87
4.2 Introduction.....	88
4.3 Experimental.....	93
4.3.1 Products studied.....	93
4.3.2 Foods, food simulants, and reagents.....	93
4.3.3 Apparatus.....	95
4.3.4 Test procedures.....	96
4.3.5 Analyses.....	97
4.4 Results and discussion.....	99
4.4.1 Identification of migrants.....	99
4.4.2 Migration into acetic acid.....	99
4.4.3 Migration into water.....	103
4.4.4 Selection of quantification methods.....	103
4.4.5 Overall migration.....	104
4.4.6 Migration of NaCl into simulants.....	106
4.4.7 Migration of iron into simulants.....	108
4.4.8 Migration into real foods.....	109
4.4.9 Migration of NaCl into real foods.....	110
4.4.10 Migration of iron in foodstuffs.....	112
4.5 Conclusions.....	114
4.6 References.....	116
5. DETERMINATION OF BISPHENOL A IN, AND ITS MIGRATION FROM, PVC CLINGFILM USED FOR FOOD PACKAGING.....	121
5.1 Abstract.....	123
5.2 Introduction.....	125



5.3 Materials and Methods.....	128
5.3.1 Reagents.....	128
5.3.2 Samples.....	128
5.3.3 Apparatus and Operating Conditions.....	129
5.3.4 Preliminary studies.....	133
5.3.5 Identification of BPA by GC-MS.....	135
5.3.6 Identification of BPA by LC-MS.....	135
5.3.7 Determination of BPA by HPLC-FL and HPLC-UV.....	135
5.3.8 Determination of BPA contents of PVC clingfilms.....	137
5.3.9 Determination of migration from PVC clingfilms into official EU food simulants.....	137
5.4 Results and Discussion.....	138
5.4.1 Identification of clingfilm material by FTIR.....	138
5.4.2 Preliminary studies.....	139
5.4.3 Identification of BPA by GC-MS.....	143
5.4.4 Identification of BPA by LC-MS.....	144
5.4.5 Determination of BPA by HPLC-FL or HPLC-UV.....	145
5.4.6 BPA contents of PVC clingfilms.....	147
5.4.7 Migration from PVC clingfilms into official EU food simulants.....	148
5.5 Conclusions.....	151
5.6 References.....	152
6. EFFECTS OF COMPRESSION, STACKING, VACUUM PACKING AND TEMPERATURE ON THE MIGRATION OF BISPHENOL A FROM POLYVINYL CHLORIDE PACKAGING SHEETING INTO FOOD SIMULANTS.....	159
6.1 Summary.....	161

6.2 Introduction.....	162
6.3 Experimental data.....	163
6.3.1 Reagents, simulants and samples.....	163
6.3.2 Migration tests.....	165
6.3.3 Apparatus.....	166
6.3.4 Statistical methods.....	167
6.4 Results and discussion.....	169
6.4.1 Calibration and quality parameters.....	169
6.4.2 Extraction.....	172
6.4.3 Migration tests.....	173
6.5 Conclusions.....	181
6.6 References.....	182
<b>7. MIGRATION OF ETHYLENE TEREPHTHALATE</b>	
<b>OLIGOMERS FROM PET ROASTING BAGS INTO OLIVE</b>	
<b>OIL.....</b>	<b>185</b>
7.1 Summary.....	187
7.2 Introduction.....	188
7.3 Experimental data.....	190
7.3.1 Samples.....	190
7.3.2 Reagents.....	190
7.3.3 Apparatus and Operating Conditions.....	190
7.4 Results and discussion.....	194
7.4.1 Preliminary studies.....	194
7.4.2 Identification of migrants.....	196
7.4.3 Quantification of PET oligomers by HPLC-UV.....	202
7.4.5 Application to the commercial samples.....	205
7.5 Conclusions.....	208

7.6 References.....	209
8. CONCLUSIONES GENERALES.....	211
9. APÉNDICE.....	215





## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1 Mecanismo de oxidación del hierro.....	38
Tabla 2-2 Clasificación de aditivos.....	46
Tabla 2-3 Simulantes de alimentos con respecto a los tipos de alimentos.....	57
Tabla 2-4 Simulantes utilizados para determinados tipos de alimentos.....	57
Tabla 2.5 Peores condiciones de los ensayos de migración.....	59
Tabla 2.6 Condiciones convencionales para los ensayos sustitutos....	60
Table 4-1 Characteristics of the oxygen-scavenging systems used.....	93
Table 4-2 Characteristics of the food simulants employed.....	94
Table 4-3 Characteristics of the real foods used.....	95
Table 4-4 Comparison of spectroquant and volhard methods for determination of the migration of NaCl from OS <sub>1</sub> into liquid simulants and agar, and of the concentration of a 100 mg(200 mL) <sup>-1</sup> standard.....	105
Table 4-5 Comparison of overall migration (om) into water and 3% acetic acid, as calculated from total final residue mass, with specific migration of NaCl and Fe (the latter as Fe(OAc) <sub>2</sub> , as calculated from observed migration of chloride and iron, respectively.....	106
Table 4-6 Migration of NaCl and Fe into food simulants.....	109
Table 4-7 Migration of NaCl into real food.....	111
Table 4-8 Migration of Fe into real food.....	113

Table 5-1 Characteristics of the clingfilms studied.....	129
Table 5-2 Conditions and instrument settings for identification of BPA by GC-MS.....	131
Table 5-3 Conditions and instrument settings for identification of BPA by LC-MS.....	132
Table 5-4 Conditions and instrument settings for determination of BPA by HPLC.....	134
Table 5-5 Analytical performance parameters for fluorescence FL and UV detection.....	146
Table 5-6 BPA contents of PVC clingfilms.....	149
Table 5-7 Migration of BPA from PVC clingfilms into fosimulants ( $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ ), AS determined by HPLC-FL.....	150
Table 6-1 Operating conditions for identification of bisphenol A by LC-MS.....	167
Table 6-2 Operating conditions for identification of bisphenol A by GC-MS.....	168
Table 6-3 Operating conditions for identification/quantification of bisphenol A by HPLC- FL-UV.....	170
Table 6-4 Analytical performance parameters for fluorescence (FL) and UV detection.....	172
Table 6-5 Migration of bisphenol A from PVC sheeting into acetonitrile over 24 h ( $\mu\text{g dm}^{-2}$ ).....	173
Table 6-6 Migration of bisphenol A from PVC sheeting into official food simulants over 10 days at 40°C ( $\mu\text{g dm}^{-2}$ ; means $\pm$ SDS of 6 replicates).....	179

Table 7-1 Optimized LC-MS conditions for identification of PET oligomers.....	192
Table 7-2 Optimized HPLC-UV conditions for identification and quantification of PET oligomers.....	193
Table 7-3 Parameters of the calibration line used for HPLC-UV quantitation of PET oligomers.....	204
Table 7-4 PET oligomer contents of two brands of PET roasting bag (mg dm <sup>-2</sup> ).....	205
Table 7-5 Migration of PET oligomers from two brands of PET roasting bag into olive oil under heating for 7 min at 850 W in a microwave oven <sup>(a)</sup> or for 60 min at 200°C in a conventional oven <sup>(b)</sup> , (mg dm <sup>-2</sup> ).....	207





## ÍNDICE DE FIGURAS

Figure 4.1 Spectrum of IR for OS2 in simulant acetic acid 3% (w/v).....	100
Figure 4.2 Spectrum of IR for OS1 in simulant acetic acid 3% (w/v).	100
Figure 4.3 Spectrum of IR in samples pattern of Fe in concentrated acetic acid 3% (w/v).....	101
Figure 4.4 Spectrum of dispersion of energy of the residual of migration global in simulante acetic acid 3% (w/v).....	102
Figure 4.5 Microphotograph of the surface of the residual of global migration in simulante water.....	102
Figure 4.6 Spectrum of dispersion of energy of the residual of migration global in simulant water.....	103
Figure 5.1 Spectrographic sections of a 3D spectrochromatogram afforded by HPLC-FL analysis of an aqueous extract of a PVC clingfilm. the spectrum obtained at 9.3 min identifies bisphenol A.....	140
Figure 5.2 Fluorescence excitation ( $\lambda_{em} = 305$ nm) and UV spectra (Left and Right, respectively) of the peak occurring at 9.3 min in the HPLC-UV-FL chromatograms of an aqueous extract of a PVC clingfilm.....	141
Figure 5.3 HPLC chromatograms of an aqueous extract of a PVC clingfilm. A, with fluorescence detection ( $\lambda_{ex} = 225$ nm, $\lambda_{em} = 305$ nm); B, with UV detection ( $\lambda = 225$ nm).....	143
Figure 5.4 A: GC-MS chromatogram of an acetonitrile extract of a PVC clingfilm. B: mass spectrum of the 16.45 min peak	

of A.....	144
Figure 5.5 A: LC-MS chromatogram of a 0.2 mg/kg solution of bisphenol a in acetonitrile (for conditions, see Table 5-2). B: mass spectrum of the 10.18 min peak of A.....	146
Figure 5.6 A: LC-MS chromatogram of an acetonitrile extract of a PVC clingfilm, run in SIR mode for $m/z = 227$ . B: mass spectrum of the 10.38 min peak of A.....	148
Figure 6.1 HATR IR spectrum of PVC sheeting for industrial use, with that of authentic PVC plus diethylhexylphthalate for comparison.....	164
Figure 6.2 HPLC-FL chromatogram of an acetonitrile extract of the PVC sheeting of Figure 6-1.....	174
Figure 6.3 Influence of temperature on 24-h migration of bisphenol A from PVC sheeting into 3% acetic acid with (B) or without (A) application of a pressure of $1.33 \text{ kg dm}^{-2}$ .....	175
Figure 6.4 Influence of stack position, from 1 (top) to 9 (bottom) on migration of bisphenol A from PVC sheeting into 3% acetic acid (diamonds) or water (squares) over 10 days at $40^\circ\text{C}$ (means $\pm$ SDS of 6 replicates).....	176
Figure 6.5 Influence of temperature on 24-h migration of bisphenol A from PVC sheeting into olive oil, with (A) or without (B) application of a pressure of $1.33 \text{ Kg dm}^{-2}$	176
Figure 6.6 Migration of bisphenol A over 10 days at $40^\circ\text{C}$ into 1.5% agar contained in PVC plastic bags into which it had been packed with (A) and without (B) vacuum.....	178
Figure 6.7 Influence of temperature on 24 h migration of	

---

bisphenol A from PVC sheeting into 1.5% agar, with or without application of a pressure of 1.33 Kg dm <sup>-2</sup> .....	178
Figure 6.8 Influence of olive oil content (wt %) on migration of bisphenol A from PVC sheeting into oil/sand mixtures over 24 h at 80°C (A) or 10 days at 40°C (B).....	180
Figure 7.1 General structure of ethylene terephthalate oligomers Mn	189
Figure 7.2 HPLC-UV chromatograms of the first (A), second (B) and third (C) acetonitrile extracts of olive oil heated in the presence of pet roasting bag material.....	195
Figure 7.3 UV absorption spectrum of the HPLC-UV peak appearing at 13.2 min in chromatograms of acetonitrile heated for 24 h in the presence of PET roasting bag material.....	197
Figure 7.4 FTIR spectrum of purified acetonitrile extract, with that of PET for comparison.....	198
Figure 7.5 LC-MS full scan mode chromatogram of a solution of purified acetonitrile extract in acetonitrile.....	199
Figure 7.6 Mass spectra of the 13.6, 18.4 and 22.8 min LC-MS peaks shown in Figure 7-5.....	201
Figure 7.7 HPLC-UV chromatograms obtained at successive stages of purification of the extract by means of repeated dissolution in acetonitrile and concentration to dryness under a stream of N <sub>2</sub> .....	203
Figure 9.1 Structure of ethylene terephthalate monomer M <sub>1</sub> .....	216
Figure 9.2 Structure of ethylene terephthalate oligomer M <sub>2</sub> .....	217
Figure 9.3 Structure of ethylene terephthalate oligomer M <sub>3</sub> .....	218

Figure 9.4 Structure of ethylene terephthalate oligomer  $M_4$ ..... 219  
Figure 9.5 Structure of ethylene terephthalate oligomer  $M_5$ ..... 220



## **Acrónimos y Abreviaturas**

ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i> , Reflectancia Total Atenuada
BPA	<i>Bisphenol A</i> , Bisfenol A
CEE	<i>European Economic Community</i> , Comunidad Económica Europea
EIMS	<i>Electron Impact Mass Spectrometry</i> , Impacto de electrón por espectrometría de masas
FL	<i>Fluorescence</i> , Fluorescencia
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectrometry</i> , Espectroscopia en el Infrarrojo de Transformada de Fourier
GC-MS	<i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i> , Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas
HPLC	<i>High-Performance Liquid Chromatography</i> , Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia
HR-EIMS	<i>High-Resolution- Electron Impact Mass Spectrometry</i> , Impacto de electrón por espectrometría de masas de alta resolución
OM	<i>Overall Migration</i> , Migración Global
PVC	<i>Polyvinyl Chloride</i> , Cloruro de Polivinilo
PET	<i>Poly(Ethylene Terephthalate)</i> , Tereftalato de polietileno
LC-MS:	<i>Liquid Chromatography – Mass Spectrometry</i> , Cromatografía de Líquidos con Espectrometría de Masas
LR-EIMS	<i>Low-Resolution-Electron Impact Mass Spectrometry</i> , Impacto de electrón por espectrometría de masas de baja resolución
UV	<i>Ultraviolet</i> , Luz Ultravioleta
w/v	<i>weight / volume mixture</i> , proporción peso/volumen

v/v	<i>volume/ volume mixturi</i> , proporción volumen/volumen
SCAN	<i>Mode scan</i> , En modo de barrido
SCF	<i>Scientific Comité for Food</i> , Comité Científico para la Alimentación
SEM	<i>Scanning Electron Microscope</i> , Microscopia Electrónica de Barrido
SIR	<i>Selected Ion Recording</i> , Selección del ion registrado
SML	<i>Specific Migration Limit</i> , Limite de Migración Especifica
UE	<i>Europea Union</i> , Unión Europea
XRF	<i>Xray Fluorescence</i> , Fluorescencia de rayos X





**RESUMEN**





**Este trabajo forma parte del proyecto: FAIR-PL98-4170 (Actipak), financiados por la Comunidad Europea. Así como del proyecto: 1FD97-2167-C02-01 financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología de España (CICYT) y la Comisión Europea.**

El envase es un elemento esencial en la conservación y comercialización de los alimentos. Además, de sus funciones primarias de contención y protección, en las últimas décadas, el envasado ha adquirido un papel esencial desde el punto de vista del marketing y de la conveniencia para el consumidor. Por una parte, los métodos modernos de marketing necesitan un envasado que comunique algo al consumidor, ya que puede decirse que en la sociedad del mundo desarrollado lo que mueve a comprar un producto es, en muchos casos, el envase y no el producto en sí. En segundo lugar, las modernas sociedades industrializadas han motivado profundos cambios en la forma de vida, y la industria del envasado ha tenido que responder a esos cambios. Por ello, en los últimos años ha ido adquiriendo gran importancia la conveniencia o utilidad de los envases (Robertson, 1993). Más allá de la simple satisfacción de las necesidades básicas, el consumidor exige productos naturales, fáciles de preparar, a ser posible que puedan ser cocinados y consumidos en el propio envase, disponibles en porciones adaptadas a sus necesidades de consumo,

comercializados en envases de fácil apertura, seguros, económicos, compatibles con el medio ambiente, etc.

Todo ello ha determinado un gran desarrollo tecnológico del envasado de alimentos para intentar satisfacer esta demanda. Tal desarrollo ha revolucionado tanto los materiales y procesos, como la fabricación y diseño de los envases y así, en las últimas décadas hemos asistido al desarrollo de numerosas innovaciones con el fin de conseguir formas más naturales de conservación de los alimentos y de controlar el propio envasado y almacenamiento para asegurar una buena calidad del producto y seguridad para el consumidor (Ahvenainen y Hurme, 1997).

Entre las innovaciones más interesantes se encuentran las técnicas de envasado activo, donde el envase desempeña alguna otra función además de constituir una simple barrera física entre el producto y su entorno (Rooney, 1997). Se trata de envases diseñados a medida del producto, que interaccionan con el y, en algunos casos, responden a los cambios que en él se producen (Rooney, 1995). Tradicionalmente se han hecho muchos esfuerzos para minimizar las interacciones entre envases y alimentos, como la migración o absorción de componentes y la permeabilidad de los materiales de envasado (Ahvenainen y Hurme, 1997), pero la moderna tecnología pretende aprovechar esas posibles interacciones en beneficio del producto, cubriendo las deficiencias del envasado pasivo o convencional.

De esta forma, el envasado activo podría definirse como toda técnica que pretende algún tipo de interacción favorable entre el envase y el producto, con el objeto de mejorar su calidad y aceptabilidad.

En Europa, no hay ninguna regulación que proporcione datos para conceptos activos. Esto implica, que los envases activos tienen que cumplir con las regulaciones existentes para materiales en contacto con alimentos, que requiere que todos los componentes usados para su manufactura deben estar incluidos en las listas positivas. En estas listas positivas se incluyen solamente componentes usados para preparar o mejorar el material de envase, pero no los usados para otros propósitos, tales como extender o monitorear la vida útil de los productos alimenticios envasados. Por lo tanto, la mayoría de los agentes activos no están en esta lista positiva, además, el concepto de envasado activo debe cumplir con los límites de migración global y específica indicados. Los límites de migración global de 60 mg por kilogramo (Directiva 90/128/CEE) es el mayor obstáculo en la aplicación del concepto activo en Europa, especialmente cuando el concepto es diseñado para liberar ingrediente activo en el alimento que permita extender su vida útil o que mejore su calidad ( Vermeiren *et al.*, 1999).

1. La primera parte de este trabajo está englobada dentro del proyecto Actipak, estudiándose específicamente envases activos (absorbedores de oxígeno, basados en el principio de oxidación del Fe). En esta fase se presenta un protocolo para la evaluación de la migración de dos sistemas de absorbedores de oxígeno en alimentos y simulantes (Tabla 4-1); el cual consiste en: Identificación de los principales migrantes, selección del método analítico apropiado para la evaluación de la migración, ensayos con simulantes oficiales, así como con simulantes y alimentos propuestos. Para la cuantificación de la migración se tomaron como referencia las condiciones de prueba establecidas por la actual legislación de la Unión Europea (UE) (Directiva 82/711/CEE; Esta Directiva establece las normas básicas necesarias para la verificación de la migración de los constituyentes de los materiales y objetos de materia plástica, simulantes de alimentos o simulantes alternativo destinados a entrar en contacto con productos alimenticios, bajo las peores condiciones previsibles de uso), y también las condiciones alternativas más apropiadas para los sistemas activos. También, se compararon los resultados obtenidos en los ensayos de migración con el límite de migración global, que actualmente es aplicable a envases de plástico en contacto con alimentos en UE. El procedimiento que se ha desarrollado se propone como un modelo para la evaluación de la migración de envases activos similares.

Los simulantes utilizados, fueron clasificados en dos grupos (Tabla 4-2):

***Simulantes oficiales de alimentos y sustitutos de simulantes grasos:***

incluidos en la legislación comunitaria vigente de la Unión Europea: Agua destilada, ácido acético al 3% (p/v), aceite de oliva rectificado, isooctano y etanol al 95% (v/v).

***Simulantes líquidos alternativos*** con diferente actividad de agua ( $a_w$ ), y modificándose la viscosidad.

***Simulante sólido:*** gel de agar 1.5% (p/v), como simulante para alimentos sólidos con alto contenido de agua, y valores altos de  $a_w$ .

***Ensayos en alimentos:*** Para los ensayos de migración en alimentos reales se seleccionaron alimentos de textura rígida (pan tostado), de textura suave (pan fresco y filete de pescado), y alimentos gelatinosos (dulce de membrillo) (Tabla 4-3). Las pruebas de migración se realizaron a 40 °C durante 10 días, en 200 g de simulante y alimentos, en recipientes herméticamente sellados, evaluándose diferentes posiciones de contacto del absorbedor de oxígeno, tomándose como referencia inicial la posición que recomienda el fabricante. Con el propósito de evaluar el efecto que podría tener la compactación en una variación de la migración, entre alimento, simulante y absorbedor, se realizaron pruebas de envasado al vacío y sin

vacío en bolsas de plástico de alta densidad almacenadas a las mismas condiciones de tiempo y temperatura.

**La cuantificación de los principales migrantes**, se realizó por volumetría de retorno, para cloruros y hierro. Así también, se utilizaron Kit's (Spectroquant, Merck), para la determinación rápida de cloruros y hierro en simulantes y alimentos, utilizándose un Espectrofotómetro UV-VIS. Se cuantificó la migración global, en simulantes agua destilada y ácido acético 3% (p/v). El residuo se caracterizó por Espectrometría de Fluorescencia de rayos-X, Microscopia Electrónica, y Espectrometría de Infrarrojo de transformada de Fourier (FTIR).

**La precisión del método, la recta de calibración, y la recuperación**, se establecieron para los elementos que migran, con los cuales se cuantificó la migración específica en todos los ensayos.

Los residuos sólidos obtenidos de la evaporación de los solventes en agua y ácido acético fueron identificados mediante espectroscopia de FTIR, XRF y SEM-EDS, obteniéndose que la composición de OS<sub>2s</sub> fue similar a la de OS<sub>2i</sub>.

El residuo obtenido del simulante ácido acético de OS1 y OS<sub>2i</sub> fue un polvo rojo en ambos casos, los principales elementos identificados por XRF fueron Na, Cl y Fe ( como elementos minoritarios se identificaron Si, Al, K, Ca, Mg, Mn, S, Cr, P y Zn). La espectrometría de FTIR revela la

presencia de un acetato o acetatos, siendo más abundante su presencia cuando el residuo es obtenido por evaporación a vacío y temperatura ambiente que cuando este es desecado por calentamiento a 102°C.

*En barrido por microscopia electrónica* se observan estructuras diferentes que analizadas por Energy Dispersive Spectrometry (EDS) indican la presencia de Na y Cl en algunos de ellos, así como Fe y O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y C en otros, además la presencia de Ca y Cl, S y Ca como elementos minoritarios (Figuras 4-4, 4-5, 4-6). Concluyéndose que los principales componentes del residuo fueron NaCl y componentes del hierro (probablemente óxido de Fe(III) y acetatos), siendo los principales migrantes NaCl y Hierro.

*La migración en simulante agua* de ambos sistemas OS1 y OS2<sub>1</sub> fue un residuo de polvo blanco prácticamente transparente a la radiación de FTIR. El Scanning Electro Microscope (SEM) muestra un tipo de estructura principal que analizada por EDS indica la presencia de Na y Cl, así como la estructura de Ca y Cl, y otros componentes minoritarios. Asumiéndose que el principal componente que migra en el simulante agua es NaCl.

*La prueba Merck Spectroquant (Kit's)* fue seleccionada para la cuantificación de Hierro, por ser un método simple, rápido, sensible y de fácil acceso. Para la cuantificación de NaCl, se comparó la prueba de cloruros Spectroquant con el método de titulación Volhard (Tabla 4-4).

Encontrándose, mediante comparación de medias para muestras independientes, que no hay diferencias significativas entre ambos métodos, con una buena correlación entre ambos ( $r = 0.992$ ), disponiéndose a utilizar la prueba Spectroquant en este trabajo para determinar  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Fe}^{2+}$ .

Se compararon los valores obtenidos en la migración global (OM) con la “migración estimada” calculada de la migración específica de  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Fe}^{2+}$ . Los resultados para  $\text{Cl}^-$  fueron expresados como NaCl y los resultados para  $\text{Fe}^{2+}$  expresados como  $\text{Fe}(\text{OAc})_2$  (Tabla 4-5). Se eligieron hierro y cloruros como parámetros de interés para la determinación de la migración específica. Es importante considerar que el límite de migración global estipulado en la actual legislación de UE es de  $60 \text{ mg/Kg}$  ( $12 \text{ mg (200mL)}^{-1}$ ) [Directiva 90/128/CEE].

***Migración de NaCl en simulantes.*** La cantidad de NaCl migrado en agua y ácido acético al 3% (p/v) de OS<sub>2</sub> (Tabla 4-6) fue del orden de dos veces más del límite para migración global en UE. La migración desde OS<sub>2</sub> en todos los simulantes, excepto en aceite de oliva e isoctano, excede el límite de migración global. Los valores de migración de OS<sub>1</sub> en agua, ácido acético 3% (p/v), glicerol 16.7 % (p/v) y agar 3% (p/v) envasado al vacío supera el valor de  $60 \text{ mg/Kg}$  de migración global.

***Migración de hierro en simulantes.*** Para los dos sistemas examinados, la migración de hierro no fue mayor de una décima de



miligramo por 200 mL en todo los simulantes excepto en el simulante ácido acético al 3% (p/v), donde se tienen niveles de migración superiores a  $200 \text{ mg (200 mL)}^{-1}$  (Tabla 4-6).

***Migración en alimentos reales.*** La migración desde OS1 y OS2<sub>s</sub> en alimentos reales fue valorada por comparación del contenido de NaCl y Fe en el alimento antes y después de ponerse en contacto con los absorbedores de oxígeno. Las pruebas de migración para pescado fresco fueron finalizadas a los 4 días, por presentar evidencias de descomposición.

***Migración de NaCl en alimentos reales.*** Las diferencias entre el contenido de NaCl antes y después del almacenamiento fueron estadísticamente significativas (Tabla 4-7) para el dulce de membrillo (excepto cuando se envasaron sin vacío con OS1 en posición por encima), pescado fresco y pan tostado envasados al vacío almacenados con OS2<sub>s</sub>. En todos los casos, la migración excede el límite especificado por la UE para migración global, excepto cuando la posición del sistema OS1 esta por encima.

***Migración de Fe en alimentos reales.*** Las diferencias entre el contenido de Fe antes y después del almacenamiento fueron estadísticamente significativas (Tabla 4-8), para los 4 alimentos envasados al vacío excepto para el pan tostado y el pescado fresco almacenados con

OS<sub>2</sub>, colocado por arriba, y para el pescado fresco envasado sin vacío y el dulce de membrillo almacenados con OS<sub>1</sub> sobre ellos.

Sobre la base de los resultados obtenidos, se propone las limitaciones correspondientes en el uso de absorbedores de oxígeno en contacto con alimentos, así como el uso de nuevos simulantes en pruebas de migración.

***2. La segunda etapa de este trabajo se engloba en el proyecto (IFD97-2167-C02-01), realizándose estudios con Cloruro de Polivinilo (PVC) y Tereftalato de polietileno (PET).***

Primeramente, se determinó el contenido de Bisfenol A (BPA) en films transparentes (PVC), y a continuación se cuantificó la migración desde los films a simulantes de alimentos. Evaluándose además, el efecto de la compactación y condiciones de almacenamiento en la migración de BPA desde envases de Cloruro de Polivinilo a simulantes de alimentos.

La identificación de las muestras de plástico se realizó por Espectrometría de Infrarrojo (FTIR), utilizándose un equipo MATTSON, Genesis II (FTIR)<sup>TM</sup>, con software WINFIRST versión 3.0, método Barrido: estándar y ATR, para la identificación de PVC se consultaron las bibliotecas: Aldrich Polymer Library, Sprouse Polymer by ATR, Sprouse

Polymers Additives Library and Polymer, Polymer additives, and Plasticizers. Las muestras para análisis por método estándar, se prepararon cortando discos de 1 cm de diámetro y colocándose al paso del haz de luz de FTIR, por las dos caras. Para la identificación por ATR se cortarían tiras del plástico (1 x 8 cm), que fueron colocadas al paso del haz de luz de FTIR. En la Tabla 5-1 se listan 7 de los films analizados, de los cuales cinco son identificados como PVC más phthalato.

**Pruebas de migración en simulantes:** Agua destilada, ácido acético al 3% (p/v), y aceite de oliva, en plásticos de uso alimentario, las células de migración se basaron en viales de vidrio de 20 mL de capacidad (23 x 75 mm) con boca de 13 mm de diámetro interno ( 0.0132 dm<sup>2</sup> de área de contacto plástico-simulante), empleándose un mL de simulante, se sellaron mediante un septum con cubierta de teflón, poniéndose en forma invertida a 40°C durante 10 días en estufa. Con el propósito de simular las condiciones bajo las cuales se encuentran almacenados y expuestos al público los alimentos envasados en bolsas de plástico, se desarrollaron ensayos con los simulantes agua, ácido acético 3% (p/v), aceite de oliva, así como con simulante que presentan características similares a un alimento sólido, como el agar al 1.5 % (p/v), simulante propuesto para alimentos sólidos, estudiándose los aspectos tecnológicos derivados de la

compactación y envasado al vacío, así como la temperatura de almacenamiento.

**Compactados**, consistió en colocarle un peso de 3 Kg distribuidos en 2.25 dm<sup>2</sup> a cada bolsa por separado (1.33 Kg/dm<sup>2</sup>), peso máximo aplicable para que la bolsa no presente deformación física.

**Envasado al vacío**, en el caso del simulante agar se envasó al vacío considerando dos formas diferentes (entero y fragmentado), así mismo se evaluó el envasado al vacío compactado para el agar entero y agar fragmentado. Las condiciones de almacenamiento normal se refieren a que cada bolsa se almacenó individualmente sin compactar, ni apilar. También se evaluaron las peores condiciones previsibles de contacto según lo específica la Directiva 82/711/CEE.

**Para la identificación positiva de la migración de bisfenol A**, se utilizó:

Cromatografía de Líquidos–Masas (HPLC-MS), MS FISIONS con detector (VG Platform), en modo de ionización APcI (-).

Cromatografía de Gases–Masas (GC-MS), mediante un Gas Chromatograph, FISIONS Instrument 8000, en “full scan”. Para la identificación del BPA se consultaron las bibliotecas Wiley y NIST.

**La cuantificación de la migración de bisfenol A**, se fundamentó en una recta de calibración, utilizando las respuestas cromatográficas de un

Cromatógrafo de Líquidos de Alta Eficacia, HP serie 1100, con un barrido en línea de detector Diode Array y Fluorescencia, con sistema de auto inyector.

Cada film fue sujeto a una prueba de migración acelerada, en donde 4 dm<sup>2</sup> de muestra fueron sumergidos en 100 mL de agua en un recipiente herméticamente sellado y almacenado durante 72 horas a 60 °C; terminado el tiempo de almacenamiento la solución migrada fue filtrada y analizada por HPLC, usando DAD (rango del barrido 200-340nm) y detector de fluorescencia (rango del barrido de excitación 200-280 nm, longitud de onda de emisión 305 nm). La presencia de BPA en el film fue además investigada por extracción con acetonitrilo durante 24 horas a 60 °C.

**Identificación de BPA por GC-MS.** Para establecer el modo de operación óptima y las limitaciones de la identificación de BPA mediante GC-MS, se hicieron diluciones sucesivas de una solución estándar de 500 mg/L de BPA en acetonitrilo y corridas en modo full scan y en modo selected ion recording (SIR). La señal de BPA en GC fue identificada por comparación del espectro de masas del estándar de BPA con el espectro en la librería Wiley. En la Figura 5-4 se representa el espectro de masas del BPA (228), así como el fragmento 213 del BPA por la pérdida de un grupo metilo.

**Identificación del BPA mediante HPLC-MS.** Las condiciones óptimas y las limitaciones de identificación del BPA mediante HPLC-MS fueron establecidas por un procedimiento similar al usado para GC-MS, sin embargo para HPLC-MS, la optimización de MS fue evaluada en un rango de temperatura de la sonda de 200°C – 500°C, y el voltaje de fragmentación del cono en un rango desde 20 – 70 eV. Las condiciones óptimas de análisis fueron de 500°C de temperatura de la sonda y de 50 eV el voltaje de fragmentación del cono.

**Determinación de BPA por HPLC-FL y HPLC-UV.** La línea de calibración fue construida con solución estándar bajo las condiciones que se tienen en la Tabla 5-4, determinándose el área de la señal cromatográfica que se muestra alrededor de 9.8 min. La precisión del método, el límite de detección, y la recuperación se presentan en la Tabla 5-5.

**Determinación del contenido de BPA en film de PVC.** 1 dm<sup>2</sup> de muestra de PVC fue cortado, pesado y extraído con 100 mL de acetonitrilo durante 24 horas en un recipiente herméticamente cerrado a 60 °C. La solución migrante fue filtrada y analizada por HPLC-UV-FL, identificándose BPA por comparación con un patrón de referencia y se confirmó por GC-MS y HPLC-MS. No fue detectado BPA en dos de los siete films analizados, encontrándose valores de 43-98 mg/(Kg de film) en los films 3-5; y niveles de 483 mg/(Kg de film) en el film 1 (Tabla 5-6). La

UE no establece un límite en la cantidad residual de BPA en plásticos; asumiendo que sí el total del BPA del film 1 pudiera migrar, esta cantidad es menor al  $0.5 \text{ mg/dm}^2$  establecido como límite de migración específica por la UE.

***Determinación de la migración desde el film de PVC en simulantes oficiales de la UE.*** La migración de BPA desde film de PVC en simulantes acuosos, ácidos y alimentos grasos (agua, ácido acético al 3% (p/v) y aceite de oliva respectivamente; Directiva 82/711/CEE) fue determinado en condiciones estándar de prueba (10 días a  $40^\circ\text{C}$ ), en células de migración conteniendo 1 mL de simulante. Las soluciones acuosas y ácidas fueron analizadas directamente por HPLC-UV-FL, sin embargo la migración en aceite de oliva fue determinada por dilución de 1 mL de la solución migrante con 1 mL de n-heptano, adicionando 2 mL de acetonitrilo al 90% (v/v), mezclado durante dos minutos y centrifugado 5 min, la fase de acetonitrilo se filtra y analiza por HPLC-UV-FL. En la tabla 5-7 se reportan los valores de migración de BPA expresados en  $\mu\text{g/dm}^2$ .

Al modificarse las condiciones normales de almacenamiento en las pruebas de migración estándar, el comportamiento de la migración del BPA se modifica, así tenemos que al aplicar una presión de  $1.33 \text{ Kg /dm}^2$ , la susceptibilidad del simulante al incremento de la migración se da en el siguiente orden agua < ácido acético < aceite de oliva, en los tres simulantes

la presión incrementa la migración entre 15 y 30  $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ . Similarmente en pruebas durante 24 horas, en un rango de temperatura de 40 a 80 °C la migración en ácido acético es mayor que en agua, y en ambos casos la presión incrementa la migración a temperatura de 60°C o más. La migración en aceite de oliva en pruebas evaluadas durante 4 o 24 horas con o sin compresión, en un rango de temperaturas de 40 a 120°C, la migración se incrementa cuando la temperatura se aumenta, lo mismo sucede con la duración de la prueba y con aplicación de presión.

***Migración en agar.*** En pruebas ejecutadas durante 10 días a 40°C, la migración se aumenta en envasado al vacío del agar al 1.5 % (p/v) desde 60 a 80  $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ . En pruebas durante 24 horas, con o sin presión, en un rango de temperatura de 40 a 80°C, la migración se incrementada por efecto de la compresión y por el aumento de la temperatura.

### ***3. Migración de oligómeros de Tereftalato de polietileno desde bolsa de PET para asar.***

En esta etapa se describe el uso de HPLC-UV para la cuantificación de migración en el simulante de alimento aceite de oliva desde bolsas de asar de PET, seguido de la identificación mediante FTIR, HPLC-MS, EIMS.



Los ensayos de migración global para la extracción y purificación de oligómeros del PET se realizaron mediante inmersión en acetonitrilo, en recipientes herméticamente sellados a 60°C durante 24 horas. La solución de migración se llevo a sequedad por arrastre con N<sub>2</sub> a 40 °C.

**La identificación general de oligómeros** se efectuó mediante FTIR, en el residuo sólido migrado.

**La identificación y caracterización específica de oligómeros de PET**, se realizó mediante Impacto Electrónico en baja y alta resolución y HPLC-MS. Para la cuantificación de la migración de oligómeros en simulantes de alimentos grasos, se utilizó un HPLC con detector de Fluorescencia y Ultravioleta. En el desarrollo de la línea de calibración, se usó una solución estándar de oligómeros obtenidos por extracción con acetonitrilo.

**Aspectos tecnológicos:** Las células de migración fueron bolsas del plástico PET de 2 dm<sup>2</sup> de superficie de contacto con 100 mL de simulante aceite de oliva, selladas con una selladora VM 101HG.

Las condiciones de tratamiento térmico a las que se realizaron las pruebas de migración fueron: En horno de microondas a la máxima potencia y a diferentes tiempos (1-15 min), y en estufa convencional a tiempo y temperaturas extremas (200°C durante 60 min), siempre que se cumplan las especificaciones de la Directiva 82/711/CEE, donde se

establecen las normas de base necesarias para la verificación de la migración de los constituyentes de los materiales y objetos de materia plástica destinados a entrar en contacto con productos alimenticios.

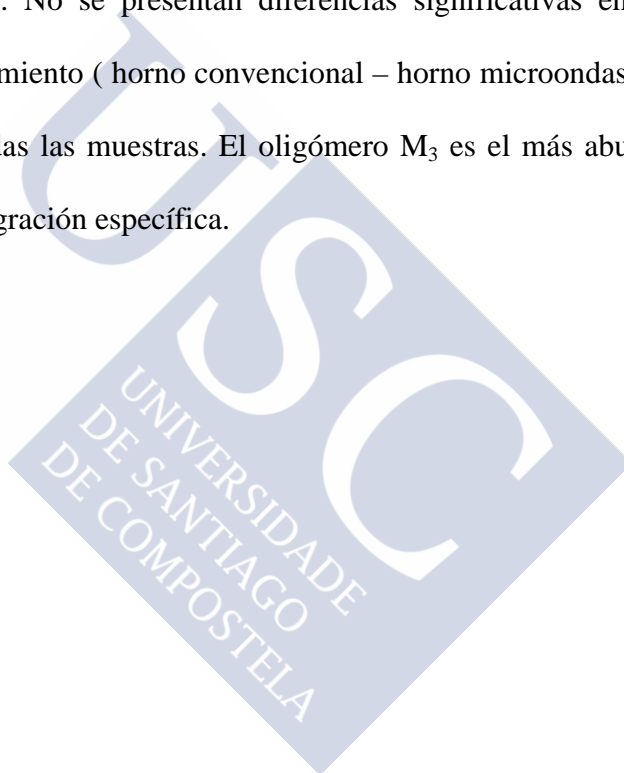
La muestra migrante fue filtrada (0.5  $\mu$  de tamaño de poro) y analizada por HPLC-UV en modo full scan en un rango de 200-340nm para UV, identificándose cinco picos en tiempos de retención de 8.0(M<sub>1</sub>), 13.6(M<sub>2</sub>), 18.4(M<sub>3</sub>), 20.3(M<sub>4</sub>) y 22.8(M<sub>5</sub>) min, siendo el pico de 18.4 min el más abundante.

**Identificación por HPLC-MS en modo (-).** Son identificados los oligómeros M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> y M<sub>5</sub>, mostrándose una diferencia sistemática de 17 entre el valor de  $m/z$  observado y el teórico para los picos M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> y M<sub>5</sub>, lo cual indica que estos oligómeros existen en forma cíclica. Los valores de  $m/z$  para cada señal son de 192, 384, 576 y 960 respectivamente.

**Identificación por EIMS.** En modo (+) EIMS, usándose las siguientes condiciones: temperatura de la fuente de 300°C, temperatura de la sonda de 600°C y un voltaje de fragmentación de 90 eV. Los principales fragmentos moleculares que se registran en el espectro de masas, se pueden subdividir en dos grupos: en el primero se tienen los fragmentos de masas que han perdido una molécula de CO<sub>2</sub> y corresponden a los oligómeros M<sub>1</sub>-M<sub>5</sub> ( $m/z$  149, 341, 533, 725, 917), así también, se identifican los iones

moleculares que han ganado un protón (193, 385, 577, 769, 961), los cuales corresponden a las masas moleculares de los cinco oligómeros migrados.

Los valores de migración registrados son inferiores a los estipulados por la UE; para el caso de sustancias que no posean límites de migración específica, se aplica un límite genérico de migración específica de 60 mg/Kg o 10 mg/dm<sup>2</sup>. No se presentan diferencias significativas entre los métodos de calentamiento (horno convencional – horno microondas), a los que fueron sometidas las muestras. El oligómero M<sub>3</sub> es el más abundante reportado como migración específica.



### Referencias

1. Ahvenainen R. y Hurme E. **1997**, Active and smart packaging for meeting consumer demands for quality and safety. *Food Additives and Contaminants* 14 (6-7): 753-763.
2. Directiva 82/711/CEE (382L0711) de la Comisión, de 18 de octubre de **1982** con sus respectivas modificaciones (enmienda 93/8CEE y enmienda 97/48/CEE).
3. Directiva 90/128/CEE (390L0128) de la Comisión, de 23 de febrero de **1990**. Con sus respectivas modificaciones (enmienda 95/39/CEE, enmienda 93/9/CEE, enmienda 95/3/CEE, enmienda 96/11/CEE, enmienda 99/91/CEE, 2001/62/CEE).
4. Robertson, L.G. **1993**, *Food packaging, principles and practice*. New York: MarcelDekker, 73-110, 622-662.
5. Rooney M. L. **1995**, Active packaging in polymer films. En: Rooney, M.L. (ed.), *Active Food Packaging*. London: Blackie Academic & Professional. pp. 74-110.
6. Rooney M.L. **1997**, Active packaging. En: Brody, A.L. y Marsh, K.S. (eds.), *The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology*. 2<sup>a</sup> edn. New York: John Wiley & Sons, pp2-8.
7. Vermeiren, L.; Devlienhere, F.; Debevere, J.; Smolander, M.; Hume, E.; Ahvenaine, R.; Rijk, M.A.H.; vanBeest, M.D. and Kruijf, N. de,

**1999**, Literature Review of FAIR-project “Actipak” (CT 98-4170).

An in-depth review of technologies, legislation, market and consumer needs and trends in active and intelligent packaging in relation to current European food packaging regulation (The Netherlands: TNO Voeding).





**INTERACCIÓN ENVASE-ALIMENTO**







## **2.1. CONSIDERACIONES PREVIAS**

El hombre tiene muchos competidores en el consumo de los alimentos que él produce. Tanto los animales, especialmente los roedores, como los insectos y los microorganismos (mohos, levaduras y bacterias) causan pérdidas en las distintas etapas de producción, recolección, procesado, almacenamiento, transporte y venta del alimento. Si se permite que se desarrollen suficientemente los microorganismos en un alimento, éste resultará poco atractivo y se echará a perder por putrefacción, fermentación o por crecimiento de hongos. Algunos microorganismos, especialmente las bacterias, pueden afectar al alimento hasta convertirlo en dañino para el hombre, causándole enfermedades e incluso la muerte. Por tanto, la provisión de alimentos en buenas condiciones es un deber de la industria alimentaria, siendo esencial la prevención de pérdidas tanto para el status económico del país como para el de la propia industria. Así, el envase juega un papel decisivo en el logro de estos objetivos de seguridad y prevención de pérdidas.

Los alimentos deben de estar a disposición de la gente estén donde estén, y con los modernos modelos de población raramente coincide el lugar de producción con el de consumo. El alimento, en interesante variedad, debe estar disponible a lo largo de todo el año, independientemente de la estación en que se produzca. Debe estar presente

de tal manera que sea cómodo de comprar y consumir, y en muchos casos esto quiere decir que debe de estar envasado (Robertson, 1992).

La elección de un envasado apropiado implica ciertas consideraciones. Para la mayoría de productos alimentarios hay un objetivo dominante: el envase debe de tener óptimas características protectoras para mantener el producto que contiene en buenas condiciones durante su vida útil. También deben considerarse ciertas apreciaciones subjetivas: el envase debe tener la forma y el tamaño correcto y su presentación gráfica debe ser atractiva a los ojos del consumidor. El desarrollo y diseño de envases adecuados ha hecho posible la oferta al consumidor de una gran variedad de alimentos a elegir, con completa confianza de salubridad, ya sea producto de temporada o no (Paine y Paine, 1994).

En sociedades sofisticadas, la industria agroalimentaria es la más importante en el uso del envasado. Si se tiene que hacer un balance entre la manera de satisfacer las necesidades de la gente y los efectos negativos de los envases, es evidente que los avances positivos en la higiene y salubridad de los alimentos que se han conseguido pesan mucho en el lado positivo.

La técnica de envasado y la elección del envase con las adecuadas barreras se diseñan para prevenir la destrucción del alimento por alteraciones químicas, enzimáticas, así como por ataque de

microorganismos e insectos, dependiendo de su naturaleza física, así como para conservar la calidad y el valor nutritivo de muchos alimentos mediante la exclusión del oxígeno y el control de pérdida o ganancia de humedad. El envasado en paquetes de “porciones” a menudo ayuda al consumidor a comprar justo la cantidad que necesita y no más. Es una ironía que este objetivo de evitar el desperdicio de alimentos es más evidente en sociedades avanzadas que en países en desarrollo, donde pueden ocurrir pérdidas considerables, del orden del 25 % (y a veces más) del alimento recogido a través de plagas (insectos, roedores y microorganismos) a menudo por falta de adecuados envases o de buenas condiciones de almacenamiento.

Los complejos patrones de vida en la sociedad moderna requieren muchos materiales, cuya disponibilidad es controlada por compañías de suministro mundial de materias primas, restricciones de mano de obra sobre su disponibilidad, capacidad manufacturera y demanda del consumidor (Rooney, 1995).

### **2.1.1. Definiciones de envases**

El envase ha sido definido de varias formas:

- ❖ Un sistema coordinado de preparación de productos para el transporte, la distribución, el almacenaje, la venta al detalle y el uso oficial.
- ❖ Un medio de asegurar el suministro seguro hasta el último consumidor en condiciones adecuadas a un costo global mínimo.
- ❖ Una función tecno-económica dirigida tanto a minimizar costos de suministro como a maximizar las ventas (y de aquí, beneficios).

Las definiciones primera y segunda indican que el envase contiene y protege durante el transporte y que tiene un aspecto económico (Paine y Paine, 1994).

La función básica del envasado de alimentos es identificar el producto y asegurar que éste viaje de manera segura a través del sistema de distribución hasta el consumidor. El envase diseñado y construido únicamente para este propósito añade poco o nada al valor del producto; simplemente protege su frescura natural o de producto transformado y evita el deterioro físico.

El envasado también ha sido descrito como un segmento de negocios complejos, dinámico científico, artístico y controvertido. El envasado es ciertamente dinámico y está constantemente cambiando. Los nuevos materiales necesitan nuevos métodos, y estos requieren maquinaria nueva; una nueva maquinaria suele tener como resultado una mejor calidad, lo

cual abre nuevos mercados que requieren cambios en el envasado. Y así el ciclo de vida vuelve a comenzar (Robertson, 1992).

Por tanto, básicamente el envase *contiene, protege y mantiene, e informa*. Los más sofisticados están provistos de dos funciones adicionales - de *venta y comodidad* -.

La última definición, indica el valor de las funciones añadidas, ya que las opiniones varían desde que el envasado es una pérdida de materiales y energía, hasta que es utilizado debidamente para la conservación de los productos y reducir mano de obra. Las características de contener, conferir protección y ser portador de información serán siempre esenciales en cualquier envasado, siendo estas funciones esencialmente conservadoras. Cuanto se debe de gastar en las funciones de “venta” y “comodidad” y en que medida deben ser consideradas, es materia de discusión (Paine y Paine, 1994).

Para cualquier tipo de alimento, sea fresco o procesado, el envasado eficiente es una necesidad. Es un lazo esencial entre productor del alimento y el consumidor, y a menos que se resuelva correctamente, la situación del producto sufrirá y el cliente puede perderse. Toda la experiencia, calidad y confianza vertidas en el producto durante su desarrollo y producción se desperdiciaría si no se toma especial interés en que llegue al consumidor en

óptimas condiciones. El adecuado diseño es la primera manera de hacer efectivo el que “un envase protege lo que vende y vende lo que protege”.

Los desarrollos en el marketing también influyen en el envasado. Si definimos el marketing como “la identificación, anticipación y satisfacción de las necesidades del cliente” nos damos cuenta que el cliente tiene una gran influencia en el envasado de los alimentos. En muchos casos la mejora del envasado puede promover una respuesta de marketing a las demandas del cliente, e incluso un cambio en su estilo de vida, y en el ámbito alimentario los consumidores han reaccionado fuertemente a influencias tales como:

- Manipulación maliciosa por parte de los detallistas o similares.
- Aspectos ecológicos como agricultura biológica, métodos más aceptables en producción animal y el rechazo y/o el reciclaje de envases antes de su vertido final.
- Imagen sana (dietas bajas en grasas y azúcares; eliminación de colorantes artificiales y reducción de conservantes, etc)
- Deseo de reducir el tiempo de preparación de la comida a un mínimo.

### **2.1.2. Necesidades del consumidor**

Quizás en este punto se ha de recordar que los consumidores tienen unas necesidades en términos de producto y que se ha intentado relacionar éstas con el envase. Desde un punto de vista general, los consumidores requieren (Vermeiren *et al.*, 1999):

1. Alimentos y bebidas saludables, nutritivas, que no provoquen enfermedades y que no se dañen durante su distribución.
2. Alimentos que, conservados en despensas, frigoríficos o congeladores apropiados, no se “echen a perder”.
3. Alimentos “frescos” que estén disponibles durante todo el año.
4. Alimentos cómodos de preparar, que requieran poca o ninguna preparación además del calentamiento.
5. Alimentos rápidos que se adapten a los estilos de vida y de trabajos actuales.

### **2.2. ENVASES ACTIVOS**

En las últimas décadas hemos asistido al desarrollo de numerosas innovaciones con el fin de conseguir formas más naturales de conservación de los alimentos y de controlar el propio envasado y almacenamiento para asegurar una buena calidad del producto y seguridad para el consumidor (Ahvenainen and Hurme, 1997).

Entre las innovaciones más importantes se encuentran las técnicas de envasado activo, donde el envase desempeña alguna otra función además de constituir una simple barrea física entre el producto y su entorno (Fabech *et al.*, 2000). Se trata de envases diseñados a medida del producto, que interaccionan con él y, en algunos casos, responden a los cambios que en él se producen (Rooney, 1995; Fabech *et al.*, 2000). Tradicionalmente se han hecho muchos esfuerzos para minimizar las interacciones entre envase y alimento, como la migración o absorción de componentes y la permeabilidad de los materiales de envasado (Ahvenainen and Hurme, 1997), pero la moderna tecnología pretende aprovechar esas posibles interacciones en beneficio del producto, cubriendo las diferencias del envasado pasivo o convencional. El término *activo* está asociado a aquellas técnicas de envasado cuya finalidad es incrementar la vida útil y la calidad del producto durante el almacenamiento, bien modificando activamente y de forma constante la composición de la atmósfera interna del envase, bien añadiendo sustancias antimicrobianas, antioxidantes u otros aditivos para mejorar la calidad del producto (Rooney, 1995; Ahvenainen and Hume, 1997). Algunos ejemplos de ellos son los absorbentes de oxígeno, humedad o etileno, los absorbentes o generadores de dióxido de carbono y los emisores de etanol (Fernández, 2000; Fabech *et al.*, 2000; Vermeiren *et al.*, 1999).



El concepto de envase activo, de hecho no es una nueva tecnología, si no una colección de tecnologías que responden a problemas específicos e incluyen conceptos como absorbedores de oxígeno, absorbedores de etileno o humedad, así como absorbedores de componentes que pueden manchar al alimento envasado. Otros sistemas de envases activos son los liberadores de etanol, dióxido de carbono, otros agentes antimicrobianos como antioxidantes, sabores y/o colores (Vermeiren, 1999). Labuza and Breene (1989) fueron los primeros autores que utilizaron el término envasado activo para definir las diversas aplicaciones desarrolladas hasta ese momento, para las que se venían utilizando distintas denominaciones, como envasado “inteligente”, “funcional” o “conservadores de frescura” (Labuza and Breene, 1989). El componente activo del envase puede ser parte del material de envasado o algún material ajeno incluido en él (Fabech *et al.*, 2000). De este modo, podemos hablar de varias posibilidades de interacción de los envases. El método “clásico” o más desarrollado hasta el momento es la utilización de sobres o bolsitas que contienen el producto activo (por ejemplo un absorbedor de oxígeno o un material secante) y que se introduce en los envases. Estos sobres deben estar constituidos de un material permeable para permitir la actividad del componente activo pero a su vez deben impedir el contacto del mismo con el alimento. Deben, además, ser muy resistentes para evitar roturas y tienen que ir

convenientemente etiquetados para evitar accidentes por ingestión de su contenido (Abe y Kondh, 1996; Fernández, 2000).

En otros casos, los compuestos activos se incorporan a las películas del envase, tanto sintéticas como comestibles. Otras veces los materiales activos no se incorporan en todo el envase, sino en forma de etiquetas, tintas o esmaltes en la superficie del mismo (por ejemplo indicadores de tiempo y temperatura). La utilización de sobres, películas activas y adhesivos no requieren cambios en el diseño del envase en sí para lograr los efectos deseados. En muchas ocasiones, el consumidor incluso puede no ser conciente de que el envase es activo, como por ejemplo en el caso de los cierres de botellas para absorción de oxígeno. Para otras aplicaciones es necesario diseñar envases para que desempeñen una función específica, como los envases que calientan o enfrían.

Hasta el momento, la industria alimentaria ha adoptado más fácilmente la utilización de sobres absorbedores que las demás formas de envasado activo. Por otra parte, en los alimentos líquidos o en envases que van adheridos estrechamente al producto, es más interesante disponer del compuesto activo en el propio material del envase (Vermeiren *et al.*, 1999). En esta memoria, se incluye un estudio de los envases activos, específicamente sobre los absorbedores de oxígeno que tienen como

compuesto activo hierro en polvo, describiéndose con detalle en la publicación número uno.

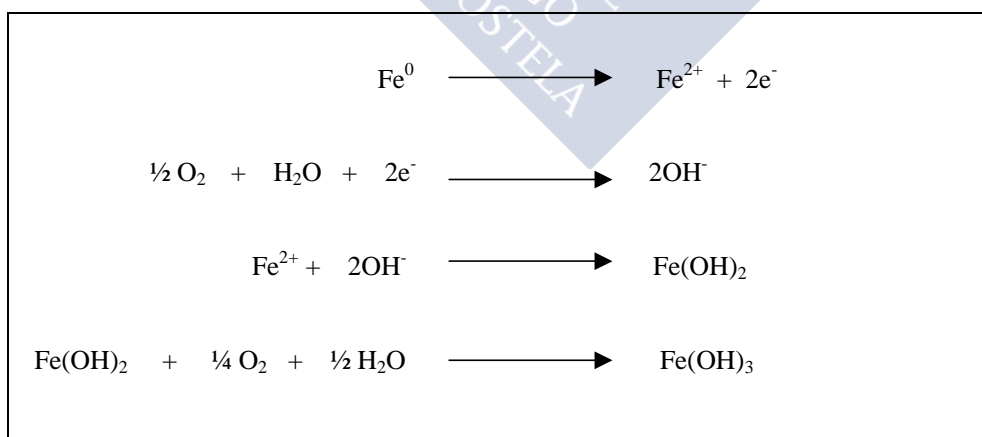
### **2.2.1. Absorbedores de oxígeno**

Los absorbedores de oxígeno constituyen hoy en día el mejor ejemplo y, quizás, la aplicación más extendida de envases activos (Smith *et al.* 1995; Ahvenainen and Hume, 1997). Con estos sistemas se puede reducir la concentración residual de oxígeno de los envases hasta valores inferiores al 0.01 %, lo que ofrece considerables ventajas frente a otros sistemas como el envasado al vacío o en atmósferas modificadas y permite controlar más eficazmente el crecimiento microbiano, el desarrollo de larvas de insectos, las reacciones de pardeamiento y los procesos oxidativos que implican la pérdida de nutrientes, color y sabor en los alimentos (Rooney, 1995). Son muchos los alimentos que se pueden beneficiar del uso de estos absorbedores, siendo los ejemplos más comunes los productos de panadería, pastas frescas, galletas, pizzas, carnes y pescados curados y ahumados, quesos, frutos secos, café, té y chocolates (Abe and Kondoh, 1996; Ahvenainen and Hume, 1997; Vermeiren, 1999) y su vida útil puede llegar a triplicarse en comparación con el envasado en atmósferas modificadas.

Para el control de la concentración de oxígeno en los envases se utilizan compuestos que neutralizan el oxígeno en combinación con

películas impermeables al mismo, tanto sintéticas como comestibles. Los compuestos utilizados para eliminar oxígeno pueden ser sustratos oxidables o enzimas. Entre los primeros, los de uso más común son el hierro y el ácido ascórbico y sus sales (Rooney, 1995). La mayoría de los sobres disponibles comercialmente suelen contener hierro en polvo, solo o en combinación con otros compuestos absorbedores o emisores. Según su tamaño, estos sobres pueden absorber entre 5 y 2000 mL de oxígeno (Smith *et al.* 1995), el mecanismo de reacción general de estos absorbedores se expresa en la tabla 2-1. (Smith *et al.* 1995; Vermeiren, 1999).

**Tabla 2.1.** Mecanismo de oxidación del hierro



Smith *et al.* 1995

### **2.2.2. Aspectos legales del envase activo**

Aunque en algunos países ciertas técnicas de envasado activo están ya muy difundidas, se puede decir que su generalización va a estar condicionada por factores legales y, por supuesto, por su eficacia y coste. Evidentemente, para que una técnica de envasado activo tenga éxito, ha de probar su eficacia, su fiabilidad, facilidad de utilización y las ventajas que ofrece frente al envasado convencional, a un coste competitivo. Por estas razones, entre las aplicaciones de envasado activo más difundidas se encuentran los absorbedores de oxígeno. No obstante, aunque estas aplicaciones encarezcan ligeramente el producto, no hay que olvidar que en el mundo desarrollado el consumidor está dispuesto a pagar un poco más por un producto más cómodo de utilizar o con menos aditivos (Fernández, 2000).

Por otra parte, aunque el desarrollo tecnológico y la investigación entorno al envasado activo son muy intensas, en la mayoría de los países industrializados hay una carencia de legislación al respecto, lo que en la práctica se traduce en que, más o menos, las normas que se aplican a estas técnicas son las del envasado pasivo o convencional. Desde el punto de vista legislativo, hay que tener en cuenta diversos factores que pueden influir en la aprobación y aplicación industrial de las distintas técnicas de envasado activo. En primer lugar, es muy importante la compatibilidad de

la técnica con los alimentos respecto a la posible migración de sustancias desde los envases. Muchas técnicas de envasado activo se basan en la liberación de ciertos aditivos al alimento, como por ejemplo los agentes antimicrobianos (Fabech *et al.*, 2000). En estos casos es necesario determinar el potencial de migración de estas sustancias y proceder a su cuantificación (en la publicación número uno se reportan algunos resultados al respecto), e incluso a pruebas toxicológicas. Aunque los fabricantes de materiales para envasado activo suelen ser responsables y conscientes de la legislación alimentaria y utilizar aditivos que están conforme con la legislación, en la actual normativa europea de envasado de los alimentos no se contemplan los conservantes en ninguna lista de sustancias admitidas en los materiales ni se hace referencia a sus posibilidades de migración al alimento (Ahvenainen and Hume, 1997; Fabech *et al.*, 2000; Vermeiren *et al.*, 1999).

Finalmente, otros dos aspectos a considerar desde el punto de vista legal son la información al consumidor para una utilización adecuada del envase (Rooney, 1995) y la compatibilidad medioambiental de los envases, en cuanto a la posibilidad de su recuperación o reciclado (Fabech *et al.*, 2000).

### **2.3. ENVASES DE PLÁSTICO**

Los plásticos son compuestos macromoleculares orgánicos obtenidos por polimerización, policondensación, poliadición u otros procedimientos similar a partir de moléculas de peso molecular inferior o por modificación química de macromoléculas naturales. Estas macromoléculas, que en ocasiones presentan también ramificaciones o entrecruzamiento, pueden llegar a alcanzar un gran tamaño (82/711/CEE; Driver, 1991; Robertson, 1992)

Los plásticos representan una de las opciones más utilizadas como material para contacto alimentario directo o como constituyentes de las capas interiores de un envase. Se trata de materiales que gozan de amplia aceptación para estos usos, debido a sus características de versatilidad en cuanto a formas, dureza, elasticidad buen comportamiento como barrera frente a agentes externos de contaminación microbiológica o de otro tipo, presentaciones de envasado atractivas, higiene, bajo coste, etc. Pero también es necesario reconocer sus carencias como son: su permeabilidad en general a gases y líquidos, su relativa baja resistencia al calentamiento y la posible existencia de interacciones con el alimento envasado (Robertson, 1992; Paine y Paine, 1994).

Dependiendo de su origen, los polímeros pueden clasificarse en naturales y artificiales. Entre los naturales se hallan sustancias muy

comunes de las que suele ignorarse su naturaleza polimérica: los hidratos de carbono o polisacáridos, como el almidón o la celulosa; los ácidos nucleicos (el ADN y el ARN), responsables de la información genética, cuyos monómeros constituyentes son un azúcar (ribosa o desoxirribosa), ácido fosfórico y las bases nitrogenadas que constituyen las letras del código genético, y otras sustancias tales como el caucho, derivadas de pequeñas moléculas de hidrocarburos.

En la actualidad la síntesis y el procesado de materiales plásticos es una de las ramas más importante de la industria química, y los polímeros están presentes de forma habitual en nuestra vida cotidiana. Dado que la segunda parte de esta memoria se centra en el estudio de envases de plástico de uso alimentario, describiremos exclusivamente aquellos polímeros que de una forma u otra, se utilizaron en este trabajo.

### **2.3.1. Cloruro de polivinilo (PVC)**

El PVC es el segundo plástico más ampliamente usado en el mundo, actualmente más de 20 millones de toneladas son manufacturadas cada año. En Europa el consumo total de productos basándose en PVC fue estimado en aproximadamente 7.4 millones de toneladas en 1998, de las cuales 5.5 millones de toneladas corresponden a polímeros de PVC. Alrededor de una tercera parte del total de la producción de polímeros de PVC es usado para



la producción de productos flexibles, los remanentes dos terceras partes están en productos rígidos de PVC. El PVC virgen es térmica y foto-químicamente inestable y dependiendo de los requerimientos y características deseadas de aplicación, un determinado número de aditivos es aplicado para reducir estos problemas de manufacturado. Las clases cuantitativamente importantes de aditivos son: estabilizadores del calor y plastificantes, así como aditivos para aplicaciones específicas incluyen pigmentos, modificadores de impacto, lubricantes y estabilizadores de luz (<http://europa.eu.int/comm/environment/waste/studies/pvc/landfill.pdf>).

El PVC tiene buenas propiedades de barrera frente al gas y es una barrera moderada al vapor y humedad. Puede soplar en botellas. El co-polímero de cloruro de polivinilo (PVdC) es un co-polímero de cloruro de vinilo con cloruro de vinilo utilizado para películas o revestimientos. Sus propiedades más relevantes es su baja permeabilidad al vapor de agua y a los gases. Ha sido usado como película retráctil en envolturas de pollos, jamón, quesos y artículos similares, así como en botellas para aceites y bebidas, copas para yogures, láminas de envases, tarros, etc. (Paien y Paine, 1994).

### **2.3.2. Tereftalato de polietileno (PET)**

Se produce por la reacción entre etilenglicol y el ácido tereftálico, siendo el dimetil éster del ácido tereftálico usado para darle un mayor control a la reacción, donde el metanol es un subproducto de la reacción. El producto tiene un grupo carboxilo a un extremo y un grupo hidroxilo al otro, para que pueda condensarse con otras moléculas de alcohol y ácido. El film PET tiene excelentes propiedades para uso como material de envases para alimentos, tiene buena resistencia química, ligero de peso, elasticidad y estabilidad en un amplio rango de temperatura (-60° a 220°C). Puede ser usados en forma de películas para hervido del producto en la misma bolsa y otras aplicaciones, aunque deben ser orientados para que desarrollen totalmente su resistencia a la tracción. No son fáciles de sellar por calor, por lo que frecuentemente son laminados con películas de polietileno para la fabricación de bolsas. Desde que se empezó a usar a finales de los setenta para producción de botellas de refrescos resistentes a fracturas, ligeras y transparentes, se ha venido utilizando más que otros plásticos para este uso (Driever, 1992; Paine y Paine)

### **2.3.3. Aditivos en plásticos**

El término aditivo es usado para denotar a un ingrediente auxiliar que incrementa las propiedades del polímero madre sin que se presenten

apreciables alteraciones en la estructura química. Los aditivos pueden ser convenientemente clasificados de acuerdo a su función en varias clases y subdividirse de acuerdo a su más específica función, como se muestra en la tabla 2-2.

En envases de alimentos no todos los aditivos anteriormente citados son usados, los cuales deben de ser, por su puesto, aceptados por las autoridades reguladoras de los alimentos. La problemática de la migración de aditivos desde los materiales de envases plásticos a los alimentos se discutirá en temas posteriores de ésta memoria.

#### **2.3.4. Plastificantes**

Los plastificantes son líquidos no reactivos o sólidos de peso molecular bajo. Pueden añadirse a los plásticos rígidos para aumentar la flexibilidad y la facilidad de procesamiento. La acción es similar a la de los disolventes, excepto en el hecho de que los plastificantes no se evaporan con la rapidez de éstos. Los plastificantes separan las cadenas de polímeros y las lubrican, permitiendo que se deslicen unas sobre otras. La evaporación del plastificante es baja debido a las fuerzas de van der Waals que se desarrollan entre éste y el polímero.

**Tabla 2.2.** Clasificación de aditivos

Clasificación principal	Sub-división
1. Processing additives	a. Processing stabilizers b. Lubricants c. Viscosity depressants d. Fusion promoters
2. Flexibilizers	a. Plasticizers
3. Anti-aging additives	a. Antioxidants b. Antimicrobials c. Ultraviolet stabilizers
4. Surface properties modifiers	a. Antistatic agent b. Antifogging agent c. Antiblocking additives
5. Optical properties modifiers	a. Pigments and dyes b. Nucleating agent
6. Fire retardants	a. Ignition inhibitors b. Self-extinguishing additives c. Smoke suppressants
7. Foaming additives	a. Blowing agent

Robertson, 1992

El cloruro de polivinilo es un plástico duro y frágil. El uso de plastificantes permite impartirle una consistencia blanda y flexible. Alguno de los materiales para plastificar más usuales es:

- Esteres como el fosfato de dioctilo
- Fosfatos como el fosfato de tricresilo
- Aceites de hidrocarburos

- Poliésteres ( de bajo peso molecular)
- Polietilenglicol

### **2.3.5. Migración**

Consiste en la cesión de componentes de un material de envasado al alimento contenido en él, y que es función fundamentalmente del tiempo y temperatura de contacto. La migración es una de las posibles interacciones envase-alimento más estudiadas. Por tanto, la migración conduce a la presencia en el alimento de sustancias no deseables que provocan la pérdida de calidad del contenido y que puede incluso ocasionar toxicidad en el alimento. De que forma y hasta que punto la migración puede ocurrir está determinado por las propiedades del migrante, del polímero, del simulante de alimento y por la temperatura. La migración dada desde el envase al alimento se puede cuantificar por migración global y/o por migración específica. La migración global o total, determina la cantidad total de sustancias que pueden transferirse desde el material plástico a un alimento específico. Los ensayos no intentan identificar la naturaleza de lo que migra y en consecuencia, el resultado del test no tiene significado respecto a la posible presencia de impurezas migradas al alimento. Cuando algunas sustancias tales como monómeros con propiedades toxicológicas demostradas están presentes en el material plástico o en el artículo, se

mantiene la seguridad del envase alimentario mediante los límites de migración específica para estas sustancias. La migración específica es el límite máximo de transferencia de masa del envase al alimento de un compuesto en alimento o en simulante alimenticio. Así, se han realizado estudios sobre migración de plastificantes (phthalatos), utilizados habitualmente para mejorar la adhesión de tintas de impresión (Cerbulis and Byler, 1986; Gerlai, I., 1987; Castle, *et al*, 1989; Begley and Hollifield, 1991; Nerin *et al* 1993; Steiner, *et al*, 1998; Tsumura, *et al*, 2001), y adipatos (Cano, *et al*, 2002). El 4-nonylfenol es utilizado a nivel industrial como plastificante y surfactante (Inoue, *et al*. 2001). Estudios de migración del Bisfenol A sobre recubrimientos de latas de alimentos y bebidas (Paseiro-Losada *et al*. 1991; Simal Gándara *et al*. 1993; Bieles, *et al*, 1997, 1999; Yoshida, *et al*. 2001; Kang and Kondo, 2002), otras investigaciones se han realizado en resinas de policarbonato utilizadas en la fabricación de juguetes infantiles y biberones (Mountfort, *et al*. 1997; Howe and Borondinsky, 1998), en agua (Olmo, *et al*. 1997; González-Casado, *et al*. 1998). en las publicaciones 2 y 3 de este trabajo se describe la metodología para la identificación y cuantificación de bisfenol A en film de uso alimentario, así como el efecto de parámetros de compactación y envasado en la migración de bisfenol A.

La migración de aditivos y residuos presentes en los materiales de envase (especialmente en polímeros) a los alimentos envasados pueden dividirse en tres etapas diferentes aunque interrelacionadas ( Castle *et al*, 1990),

***Difusión del migrante en la matriz polimérica.*** La migración de aditivos está controlada por el proceso de difusión del migrante que se manifiesta como un paseo estadístico o un movimiento browniano (vuelo de un mosca) de las moléculas de aditivo dentro de una red formada por el polímero.

***Solvatación o disolución en la interfase alimento-envase.*** La sustancia transferida se disuelve bien en el alimento y prefiere este medio al polímero (coeficiente de partición favorable), el paso de migrante del envase al alimento se produce fácil y continuamente.

***Dispersión en el alimento.*** El migrante llega a esta etapa ya solvatado por el alimento. Como proceso termodinámico, la difusión aumenta con la temperatura. Por tanto, a mayor temperatura, mayor es la migración y en consecuencia, mayor el riesgo de contaminación del alimento; este aspecto ha sido estudiado por Castle, (1990) para determinar las distintas temperaturas apropiadas en la migración usando distintos envases.

Existen numerosos estudios que desarrollan modelos matemáticos para estimar la migración en diferentes medios (Baner *et al*. 1996; Lau and

Wong, 1997; Reynier *et al.* 1999, 2002; Chung *et al.* 2002; Helmroth, 2002), sin embargo hay relativamente pocos datos de coeficientes de difusión de migrantes a altas temperaturas y sin embargo son necesarios para la aplicación de estos modelos matemáticos. El cambio de las características de la matriz polimérica al elevar la temperatura hace que la estimación matemática del coeficiente de difusión a altas temperaturas no siempre responda a la situación real. Esta abierta la posibilidad de una descripción matemática de la migración y su uso como modelo de predicción. Hay actualmente en Europa una discusión en base a la aprobación de materiales de envasado por predicción en lugar de los experimentales (Helmroth, 2002).

Otros estudios determinan la influencia que existe por el efecto térmico de la energía de microondas en la migración hacia alimentos o simulantes de alimentos por el contacto al plástico (Begley and Hollifield, 1990; Sarriá, 1999; Acosta, 2001; Fauconnier *et al.* 2001; Nerín *et al.* 2002). Por otra parte, también se utilizan en hornos convencionales materiales plásticos diseñados para su uso en microondas. Esta dicho que para los materiales y artículos previstos para calentar alimentos con microondas, tanto en la industria como en el hogar, es mejor realizar los ensayos de migración en hornos convencionales que en microondas. Esto en parte se debe a que los hornos microondas domésticos son



intrínsecamente variables de un diseño a otro y de una marca a otra, y los equipos especializados son caros y no siempre están disponibles. Antes que se pueda emplear el calentamiento convencional en el ensayo, debe establecerse que la migración observada es equivalente a la esperada en el calentamiento con microondas, en la publicación número 4 de este trabajo se describe un estudio comparativo de la migración de oligómeros de ET en ambos sistemas de calentamiento, en plástico PET.

#### **2.4. LEGISLACIÓN EUROPEA SOBRE ENVASES**

No existe una rama separada de legislación que pueda ser escrita como “ley de envases” en ninguno de los países miembros de la Comunidad Europea (CE), pero sí estatutos en todos ellos que pueden afectar al envase. Muchos de estos estatutos tratan de aspectos medioambientales, estandarización y legislación de transporte (Fabech *et al.*, 2000).

La CE ha tenido un efecto considerable sobre el usuario del envase, los fabricantes y los transformadores de materiales para envases. Después de la integración del Mercado Común Europeo, las legislaciones y las regulaciones de la CE son más importantes.

En 1955, el tratado de Roma creó la Comunidad Económica Europea (CEE), (conocida actualmente mediante la Versión Consolidada del

Tratado de la Unión Europea y del Tratado Constitutivo de la Comunidad Europea, del Diario Oficial n° C 325 de 24 de diciembre de 2002). Los fundadores del mercado común reconocieron que una unión más estrecha entre las naciones europeas podría erradicar muchos defectos sociales y económicos de los estados miembros. Las diferencias de legislación en cuanto a detalles como condiciones de fabricación, manipulación, envasado y etiquetado de alimentos podrían obstaculizar los esfuerzos para la creación de dicha unión, por ello, el tratado de Roma se centró en requerir de la comunidad la eliminación de obstáculos para el libre movimiento de mercancías mediante la aproximación de las leyes de los estados miembros; es decir mediante la armonización (Título I, de la versión consolidada).

Desde el principio, bajo el Artículo 23 y 94 del tratado, la comunidad ha establecido construir un marco de legislación común. El Artículo 32 emplea la legislación directa por medio de una regulación que concierne principalmente productos agrícolas y a la Política Agrícola (más información al respecto se encuentra en [http://europa.eu.int/eur-lex/es/treaties/dat/EC\\_consol.html](http://europa.eu.int/eur-lex/es/treaties/dat/EC_consol.html) - 003301). Estas regulaciones son obligatorias para los estados miembros a partir del día que entren en vigor y son ratificadas por la legislación nacional. Las medidas adoptadas por el Artículo 94 son directrices (directivas) y no ejercen ninguna fuerza sobre

ningún estado miembro hasta que se incorporan dentro de la legislación nacional. Son ratificados por los estados miembros, y el método de incorporación en las leyes nacionales se deja a la discreción de cada gobierno nacional. Se especifica siempre un tiempo límite para que los miembros introduzcan la legislación necesaria. El incumplimiento conduciría a una acción por parte del Tribunal Europeo de Justicia.

#### **2.4.1 Directivas sobre materiales y artículos en contacto con alimentos**

En 1976, se dictó una directiva marco (76/893, remplazada actualmente por la directiva 89/109) sobre materiales y artículos en contacto con alimentos que daba el criterio básico de protección de la salud humana. Autorizo también posteriores directivas de naturaleza específica y ordena que debe existir alguna indicación cuando los envases son fabricados para utilizar con alimentos. Si el envase se vende directamente para el uso al detalle, debe indicarse en la documentación que lo acompaña.

Esta directiva establece dos principios generales:

- I. *El principio de “naturaleza inerte” de los materiales y la “pureza” de las sustancias alimenticias.* Los materiales y artículos en contacto no deben transferir al alimento componente alguno en cantidades tales que pudieran “perjudicar la salud humana”, y/o “llevar acabo algún

cambio inaceptable en la composición del alimento o bien un deterioro en las propiedades organolépticas características”.

II. *El principio del etiquetado positivo.* Los materiales y artículos preparados para entrar en contacto con alimentos deben comercializarse con las palabras “para uso alimentario” (o con un símbolo apropiado). Donde haya restricciones de uso deberían indicarse en la etiqueta.

*En 1978, la Directiva 78/142/CEE (378L0142)* establecía los límites del monómero cloruro de vinilo (VCM) en plásticos por debajo de 1 ppm y cualquier migración en el alimento inferior a 0.01 mg/Kg (10 ppb). Otras directivas posteriores con legislaciones estrictas respecto a la naturaleza, aplicaciones y control de los plásticos en contacto con alimentos son las siguientes:

*Directiva 80/590/CEE (380L0590).*

Relativa a la determinación del símbolo que puede acompañar a los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios.

Esta Directiva, prevé la determinación de un símbolo que pueda acompañar a los materiales y objetos en sustitución de los términos “ para

contacto con los alimentos” o “conveniente para los alimentos”, o incluso de una mención específica relativa al empleo de dichos materiales y objetos. Considerando que tal símbolo debe ser de fácil comprensión y que, además, debe poderse reproducir sobre los materiales y objetos o sobre cualquier otro soporte, en las mejores condiciones técnicas posibles.

*Directiva 80/766/CEE (380L0766).*

Relativa a la determinación del método comunitario de análisis para el control oficial del contenido de cloruro de vinilo monómero en los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios

La característica principal es que a partir de una serie de análisis ínter-laboratorios, el método descrito en ésta Directiva ha resultado ser lo suficientemente reproducible y exacto como para ser adoptado como método comunitario.

*Directiva 81/432/CEE (381L0432).*

Sobre determinación del método comunitario de análisis para el control oficial del cloruro de vinilo cedido por los materiales y objetos a los productos alimenticios

El análisis necesario para el control oficial del cloruro de vinilo cedido por los materiales y objetos a los productos alimenticios deberá efectuarse según el método descrito en la presente Directiva.

*Directiva 82/711/CEE (382L0711) con sus respectivas modificaciones (enmienda 93/8/CEE y enmienda 97/48/CEE).*

Que establece las normas de base necesarias para la verificación de la migración de los constituyentes de los materiales y objetos de materia plástica destinados a entrar en contacto con productos alimenticios

Las características principales de esta directiva son:

- o No siempre es posible utilizar alimentos para examinar los materiales en contacto con los productos alimenticios, por lo que se utilizan simulantes de alimentos. Por convención se clasifican según tengan las características de uno o más tipos de alimentos. Los tipos de alimento y los simulantes de alimentos que han de utilizarse se indican en la tabla 2-3. En la práctica son posible varias mezclas de tipos de alimentos, por ejemplo alimentos grasos y alimentos acuosos. Su descripción se encuentra en la tabla 2-4, acompañada de las indicaciones del simulante o simulantes de alimentos que hay que seleccionar al llevar a cabo los ensayos de migración.

**Tabla 2.3.** Simulantes de alimentos con respecto a los tipos de alimentos

Tipo de alimento	Simulante de alimento	Abreviatura
Alimentos acuosos (que tengan un pH>4.5)	Agua destilada o agua de calidad equivalente	Simulante A
Alimentos ácidos (pH ≤ 4.5)	Ácido acético al 3% (p/v)	Simulante B
Alimentos alcohólicos	Etanol al 10 % (v/v)	Simulante C
Alimentos grasos	Aceite de oliva rectificado u otros simulantes de alimentos grasos	Simulante D
Alimentos secos	Ninguno	Ninguno

**Tabla 2.4.** Simulantes utilizados para determinados tipos de alimentos

Alimentos de contacto	Simulantes
Solo alimentos acuosos	Simulante A
Solo alimentos ácidos	Simulante B
Solo alimentos alcohólicos	Simulante C
Solo alimentos grasos	Simulante D
Todos los alimentos acuosos y ácidos	Simulante B
Todos los alimentos alcohólicos y acuosos	Simulante C
Todos los alimentos alcohólicos y ácidos	Simulantes C y B
Todos los alimentos grasos y acuosos	Simulantes C y A
Todos los alimentos grasos y ácidos	Simulantes D y B
Todos los alimentos grasos, alcohólicos y acuosos	Simulantes D y C
Todos los alimentos grasos, alcohólicos y ácidos	Simulantes D, C y B

- Las pruebas de migración se efectuarán eligiendo entre los tiempos (t) y temperaturas (T) indicados en la tabla 2-5 que correspondan a las peores condiciones previsibles del contacto de los materiales y objetos plásticos en estudio y a cualquier información de etiquetado sobre la temperatura máxima de empleo. Por ello, si el material u objeto plástico está destinado a una aplicación de contacto con alimentos cubierta por una combinación de dos o más tiempos y temperaturas seleccionados de la tabla, el ensayo de migración se llevará a cabo sometiendo la muestra sucesivamente a todas las peores condiciones aplicables previsibles adecuadas a la muestra, utilizando la misma porción de simulante de alimento.



**Tabla 2.5.** Peores condiciones de los ensayos de migración.

Condiciones de contacto en las peores condiciones de uso previsible	Condiciones de ensayo
Duración del contacto	Duración del ensayo
$t \leq 5 \text{ min}$	Peores condiciones previsibles de contacto
$5 \text{ min} < t \leq 0.5 \text{ hora}$	0.5 hora
$0.5 \text{ h} < t \leq 1 \text{ hora}$	1 hora
$1 \text{ h} < t \leq 2 \text{ horas}$	2 horas
$2 \text{ h} < t \leq 4 \text{ horas}$	4 horas
$4 \text{ h} < t \leq 24 \text{ horas}$	24 horas
$t > 24 \text{ horas}$	10 días
Temperatura de contacto	Temperatura de ensayo
$T \leq 5 \text{ °C}$	5 °C
$5 \text{ °C} < T \leq 20 \text{ °C}$	20 °C
$20 \text{ °C} < T \leq 40 \text{ °C}$	40 °C
$40 \text{ °C} < T \leq 70 \text{ °C}$	70 °C
$70 \text{ °C} < T \leq 100 \text{ °C}$	100 °C o temperatura de reflujo
$100 \text{ °C} < T \leq 121 \text{ °C}$	121 °C (*)
$121 \text{ °C} < T \leq 130 \text{ °C}$	130 °C (*)
$130 \text{ °C} < T \leq 150 \text{ °C}$	150 °C (*)
$T > 150 \text{ °C}$	175 °C (*)

(\*) Esta temperatura solo se utilizará para el simulante D

Ultima modificación 97/48/CEE

- Si no pueden usarse simulantes de alimentos grasos por razones técnicas relacionadas con el método de análisis, se utilizará en su lugar todos los medios de ensayo prescritos en la tabla 2-6 en las condiciones de ensayo relativas al simulante D.

**Tabla 2.6.** Condiciones convencionales para los ensayos sustitutos

Condiciones de ensayo con él Simulante D	Condiciones de ensayo con isoctano	Condiciones de ensayo con etanol 95 % (v/v)	Condiciones de ensayo con MPPO(*)
10 d – 5 °C	0.5 d – 5 °C	10 d – 5 °C	–
10 d – 20 °C	1.0 d – 20 °C	10 d – 20 °C	–
10 d – 40 °C	2.0 d – 20 °C	10 d – 40 °C	–
2.0 h – 70 °C	0.5 h – 40 °C	2.0 h – 60 °C	–
0.5 h – 100 °C	0.5 h – 60 °C	2.5 h – 60 °C	0.5 h – 100 °C
1.0 h – 100 °C	1.0 h – 60 °C	3.0 h – 60 °C	2.0 h – 100 °C
2.0 h – 100 °C	1.5 h – 60 °C	3.5 h – 60 °C	0.5 h – 121 °C
0.5 h – 121 °C	1.5 h – 60 °C	3.5 h – 60 °C	1.0 h – 121 °C
1.0 h – 121 °C	2.0 h – 60 °C	4.0 h – 60 °C	2.0 h – 121 °C
2.0 h – 121 °C	2.5 h – 60 °C	4.5 h – 60 °C	0.5 h – 130 °C
0.5 h – 130 °C	2.0 h – 60 °C	4.0 h – 60 °C	1.0 h – 130 °C
1.0 h – 130 °C	2.5 h – 60 °C	4.5 h – 60 °C	1.0 h – 100 °C
2.0 h – 150 °C	3.0 h – 60 °C	5.0 h – 60 °C	1.0 h – 100 °C
2.0 h – 175 °C	4.0 h – 60 °C	6.0 h – 60 °C	2.0 h – 175 °C

(\*) MPPO: Óxido de polifenileno modificado

- o Se puede permitir el uso del resultado de ensayos alternativos tal como sé específico en este capítulo siempre que se cumplan las dos condiciones siguientes:
  - a. Los resultados obtenidos en un “ensayo de comparación” muestren que los valores son iguales o superiores a los obtenidos en el ensayo con el simulante D.

- b. La migración de ensayos alternativos no rebasen los límites de migración una vez aplicados los factores adecuados de reducción establecidos en la Directiva 85/572/CEE.

Si no se cumple alguna de estas condiciones, deberán llevarse a cabo los ensayos de migración.

*Directiva 85/572/CEE (385L0572).*

Se determina la lista de los simulantes que se deben utilizar para controlar la migración de los componentes de los materiales y objetos de material plástico destinados a entrar en contacto con los productos alimenticios

Características de esta directiva:

- Los simulantes que se deberán utilizar para controlar la migración de los componentes de los materiales y objetos de material plástico destinados a entrar en contacto con un sólo producto alimenticio o con un grupo determinado de productos alimenticios, y la concentración de dichos simulantes, serán los indicados en la Directiva 82/711/CEE.
- Se podrá, si fuere necesario, determinar unos procedimientos diferentes de los que figuran en esta Directiva para el control de la

migración de determinados componentes de los materiales y objetos de material plástico.

- Se establecerán adaptaciones con arreglo a la evolución de los conocimientos científicos y técnicos según el procedimiento contemplado en la Directiva 76/893/CEE.

*Directiva 89/109/CEE (389L0109), nueva directiva “marco”.*

Relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios.

- Establece una serie de requisitos generales que deberán seguir todos los materiales y artículos que entraran en contacto con alimentos, y detalla las reglas que hay que aplicar a los materiales específicos que pueden emplearse en la manufactura de dichos materiales y artículos. Se especifica también el etiquetado necesario. Los criterios generales de esta directiva son que los materiales y artículos deberían manufacturarse de la mejor forma posible para evitar que se transfieran sus constituyentes a los alimentos en contacto con ellos, poniendo en peligro la salud de los consumidores, o provoquen cambios en la naturaleza del alimento, en su calidad o en sus propiedades organolépticas.

*Directiva 90/128/CEE (390L0128). Con sus respectivas modificaciones (enmienda 95/39/CEE, enmienda 93/9/CEE, enmienda 95/3/CEE, enmienda 96/11/CEE, enmienda 99/91/CEE, 2001/62/CEE).*

Relativa a los materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios

Las principales características de esta directiva son:

- Los materiales y objetos plásticos están constituidos exclusivamente de materias plásticas, o compuestos de dos o más capas cada una de las cuales esté constituida exclusivamente de materias plásticas y que estén unidas entre sí por medio de adhesivos o por cualquier otro medio, y que, en el estado de productos acabados, estén destinados a entrar en contacto o se pongan en contacto con productos alimenticios, y estén destinados a este uso.
- Materia plástica es el compuesto macromolecular orgánico obtenido por polimerización, policondensación, poliadición u otro procedimiento similar a partir de moléculas de peso molecular inferior o por modificación química de macromoléculas naturales.
- Los materiales y objetos plásticos no deberán ceder sus componentes a los productos alimenticios en cantidades que excedan de 10 miligramos por decímetro cuadrado de superficie de material o artículo ( $\text{mg}/\text{dm}^2$ ) (límite de migración global). No obstante, dicho

límite será de 60 miligramos de constituyentes liberados por kilogramo de producto alimenticio (mg/kg) en los siguientes casos.

- a. Objetos que sean envases o que sean comparables a envases o que puedan rellenarse, de una capacidad no inferior a 500 mililitros (ml) y no superior a 10 litros (l).
- b. Objetos que puedan rellenarse y cuya superficie en contacto con los productos alimenticios sea imposible de calcular.
- c. Capuchones, obturadores, tapones u otros dispositivos de cierre similares.

#### **2.4.2. Listas positivas**

Las más de 600 sustancias de la lista positiva han sido valoradas por el Comité Científico para Alimentos (SCF), que es el cuerpo consejero de la CE sobre asuntos toxicológicos. El SCF graduó cada sustancia en una escala del 0 al 9 de acuerdo con la información disponible y la Comisión interpretó esta información para producir dos categorías. La primera contiene todas aquellas para las cuales era posible una decisión y la segunda, donde por no haber toxicología, migración u otros datos, hizo imposible una decisión. La mayoría de sustancias de la primera lista no tiene restricciones de uso, pero algunas tienen limitaciones sobre límites de migración, etc.

### **2.4.3 Migración global**

Esta es la migración total de sustancias desde los plásticos hasta el adecuado simulante de un alimento. Se dice que la migración global (OM: Overall Migration) está por debajo de  $10 \text{ mg/dm}^2$  de material de envase, o  $60 \text{ mg/Kg}$  de alimento para un envase de entre 0.5 y 10 L de capacidad, a una temperatura y durante un tiempo relacionado con las condiciones de uso, entonces ese material no constituye un riesgo. Como no se ha hecho una identificación del material que migra, la OM puede solamente referirse, como una medida pobre, a la inactividad del material y casi no puede justificarse sobre una base científica o toxicológica.

El procedimiento oficial en el ámbito comunitario para determinar la OM de un material plástico a un simulante acuoso, consiste simplemente en evaporar el simulante a sequedad, tras su contacto con el envase, y pesar su residuo, aunque es necesario un meticuloso cuidado durante el ensayo, a fin de evitar errores analíticos. Para simulantes oleosos el método normalizado es mucho más complejo, ya que la grasa no puede eliminarse por volatilización y se requiere un procedimiento indirecto que pasa por acondicionar la muestra antes y después de su exposición al simulante, para pesarla de modo fiable (Rossi, 1997). La ganancia de peso del material tras el ensayo obliga a extraer el exceso de simulante absorbido y cuantificarlo por GC, previa metilación de sus ácidos grasos (Rossi, 1981). Los

problemas de estos ensayos de OM con aceite de oliva son numerosos, como la necesidad de acondicionar la muestra a peso constante en el ensayo, o la imposibilidad práctica de concentrar el simulante mediante evaporación.

Estos problemas analíticos generados en ensayos con aceite de oliva motivaron la búsqueda de simulantes alternativos volátiles que permitan una evaluación directa por pesada del residuo, similar al existente para simulantes acuosos. Estudios comparativos entre isooctano y aceite de oliva, en condiciones consideradas equivalentes y para migración global en materiales plásticos a distintas temperaturas, han llevado a considerar apropiado en estos ensayos dicho simulante alternativo (de Kruijf, 1997).

#### **2.4.4. Migración específica**

Cuando se utiliza un monómero con un Límite de Migración Específica (SML) para producir materiales plásticos para contacto con alimentos, se ha de llevar a cabo una prueba de migración específica para este monómero sobre el envase acabado. Además, la suma de todas las migraciones específicas no debe exceder del límite de OM.

Los certificados de garantía de los suministradores de envases no serán suficientes para el envasador de alimentos para demostrar que se han tomado las diligencias debidas. Las responsabilidades pueden estar distribuidas a lo largo de las siguientes líneas: los monómeros, aditivos y



otros ingredientes utilizados en la manufactura de polímeros tendrán que estar obviamente en la correspondiente lista positiva, y los fabricantes de polímeros tendrán la responsabilidad de utilizar la lista aprobada, tendrán que hacer las pruebas necesarias y obtener la aprobación antes de utilizarlo (Paine y Paine, 1994; Rooney, 1995).

#### **2.4.5. Legislación de envases activos**

##### *Situación actual*

Por lo menos tres tipos de regulaciones tendrían un impacto en el uso de los envases activos para su uso en alimentos:

- Primero, debe establecerse la necesidad de aprobarse cualquier contacto con el alimento antes de que puedan ser usados los envases activos e inteligentes,
- Segundo, en las regulaciones medioambientales de materiales de envases usados se tendrán que modificar a un corto plazo
- Tercero, podría haber la necesidad de modificar el sistema de etiquetado en casos de que los envases activo e inteligentes pueda dar lugar a una confusión para los consumidores.

Además, la legislación demanda con respecto a alimentos envasados y a materiales en contacto con los alimentos se incluyan especificaciones concernientes a la protección a los consumidores y al medio ambiente. En

varios países se cuenta con leyes que están relacionadas con materiales en contacto con alimentos, y los criterios básicos para estas legislaciones difieren entre países, algunas reglas se basan en restricciones relacionadas a la composición de los materiales, considerando que en otros países sus reglamentaciones están enfocadas a los límites de migración. Las regulaciones para materiales en contacto con alimentos en la Unión Europea así como en algunos países no europeos revelan que no cuenta con regulaciones específicas para los conceptos de envases activos e inteligentes, sin embargo el incremento en el interés de la industria en el desarrollo y aplicación de este tipo de envases a estimulado a las autoridades nacionales y europeas en legislar para tomar en consideración las ventajas y limitaciones de este nuevo concepto innovador en vista de la actual legislación (Vermeiren, 1999; Fabech *et al.*, 2000).

En Europa, no hay regulación que proporcione datos para conceptos activos. Esto implica, que los envases activos tienen que cumplir con las regulaciones existentes para materiales en contacto con alimentos, que requiere que todos los componentes usados para su manufactura deben estar incluidos en las listas positivas. En estas listas positivas usualmente incluyen solamente componentes usados para preparar o mejorar el material de empaque, pero no los usados para otros propósitos, tales como extender o monitorear la vida útil de los productos alimenticios envasados.

Por lo tanto, la mayoría de los agentes activos e inteligentes no están en la lista, además, el concepto activo debe cumplir con los límites de migración global y específica indicados. Los límites de migración global de 60 mg por kilogramo es el mayor obstáculo en la aplicación del concepto activo en Europa, especialmente cuando el concepto es diseñado para liberar ingrediente activo en el alimento que permita extender su vida útil o que mejore su calidad (Vermeiren, 1999).

La Universidad de Santiago de Compostela junto con otros once institutos de investigación, universidades e industrias participó en el proyecto de envases activos e inteligentes, entre otros proyectos que son financiados por la Comunidad Europea (Gilbert and Rossi, 2000), denominado “ Evaluación de la seguridad, eficiencia, impacto económico-medioambiental y aceptación por los consumidores de los envases activos e inteligentes” FAIR-PL98-4170 (Actipak) más información se encuentra en <http://www.voeding.tno.nl/Applicaties.cfm?Jaar=1999&AppID=106>. El objetivo de este proyecto es el documentar recomendaciones relevantes para la enmienda de la legislación europea, como por ejemplo: para materiales en contacto con alimentos, aditivos alimentarios y etiquetado, que permita la aplicación de los conceptos activos e inteligentes, en la mejora de la calidad y seguridad de los alimentos en Europa. La publicación número uno se enmarca dentro de este objetivo general. Así

también se trabajó en el proyecto denominado “Desarrollo de una metodología analítica para la optimización y verificación de materiales plásticos de uso alimentario. Aplicaciones en la industria fabricante, aplicadora y envasadora”, financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, CICYT y la Comisión Europea. Project 1FD97-2167-C02-01, las publicaciones 2, 3 y 4 se enmarcan dentro de este proyecto.



## 2.5. REFERENCIAS

1. Abe Y. and Kondoh, Y. **1996**. Absorbedores de oxígeno, Envasado de Alimentos en Atmósferas Controladas, Modificadas y a Vacío, edited by Brody, A.L. (Zaragoza, Spain: Acribia), pp. 175-186.
2. Acosta, A. D. 2001. Interacción envase-alimento en aplicaciones de alta temperatura. *Tesis doctoral en Ciencias Químicas*. Universidad de Zaragoza, España. Octubre 2. pp 215.
3. Ahvenainen R. and Hurme E. **1997**. Active and smart packaging for meeting consumer demands for quality and safety. *Food Additives and Contaminants* 14, 753-763.
4. Baner, A.; Brandsch, J.; Franz, R.; Piringer, O. **1996**. The application of a predictive migration model for evaluating the compliance of plastic materials with European food regulations. *Food Additives and Contaminants*. vol 13(5), 587-601.
5. Begley, T.H. ; Hollifield, H.C. **1990**. Hige-Performance Liquid Chromatographic Determination of Migration Poly(ethylene terephthalate) Oligomers in Corn Oil, *J. Agric. Food Chem.* 38, 145-148.
6. Biles, J. E., McNeal, T. P. and Begley, T. H. **1997**. Determination of bisphenol A migrating from epoxy can coatings to infant formula liquid concentrates. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4697-4700.

7. Biles, J., White, D. K., McNeal, P. T. and Begley, T. H. **1999**. Determination of the Diglycidyl Ether of Bisphenol A and its Derivatives in Canned Foods. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1965-1969.
8. Cano, J. M., Marin, M. L., Sánchez, A., Hernandis, V. **2002**. Determination of adipate plasticizers in poly(vinyl chloride) by microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A.* 963, 401-409.
9. Castle, L., Mayo, A. and Gilbert, J. **1989**. Migration of plasticizers from printing inks into food. *Food Additives and Contaminants.* 6, 437-443.
10. Castle, L. Jickells, S. M., Gilbert, J., Harrison, J. **1990**. Migration testing of plastics and microwave-active materials for high-temperature food-use applications. *Food Additives and Contaminants.* 7, 779-796.
11. Cerbulis, J. and Byler D.M. **1986**. Isolation and detection of dialkyl phthalates from pork. *J. Agric. Food Chem.* 34: 198-200
12. Chung, D.; Papadakis, S. E. and Yam, K. L. **2002**. Simple models for assessing migration from food-packaging films. *Food Additives and Contaminants.* Vol. 19, No. 6, 611-617.
13. Driver, E. W. **1991**. Química y Tecnología de los Plásticos. Ed. CECSA (México), pp 11-87.

14. del Olmo, M., González-Casado, A., Navas, N. A. and Vilchez, J. L.  
**1997.** Determination of bisphenol A (BPA) in water by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 346, 87-92.1.
15. Directiva 76/893/CEE del Consejo, de 23 de Noviembre de **1976**.
16. Directiva 78/142/CEE (378L0142) del Consejo, de 30 de Enero de **1978**.
17. Directiva 80/590/CEE (380L0590) de la Comisión, de 9 de junio de **1980**.
18. Directiva 80/766/CEE (380L0766) de la Comisión, de 8 de julio de **1980**.
19. Directiva 81/432/CEE (381L0432) de la Comisión, de 29 de abril de **1981**.
20. Directiva 82/711/CEE (382L0711) con sus respectivas modificaciones (enmienda 93/8CEE y enmienda 97/48/CEE): Directiva del Consejo, de 18 de octubre de **1982**.
21. Directiva 85/572/CEE (385L0572) del Consejo, de 19 de diciembre de **1985**.
22. Directiva 89/109/CEE (389L0109): del Consejo, de 21 de diciembre de **1988**. nueva directiva “marco”.

23. Directiva 90/128/CEE (390L0128) de la Comisión, de 23 de febrero de **1990**. Con sus respectivas modificaciones (enmienda 95/39/CEE, enmienda 93/9/CEE, enmienda 95/3/CEE, enmienda 96/11/CEE, enmienda 99/91/CEE, 2001/62/CEE).
24. Directiva 2002/17/CE de la Comisión, de 21 de febrero de **2002**, por la que se modifica la Directiva 90/128/CEE.
25. Fabech, B., Hellstrom, T., Henrysdocter, G., Hjulmand-Lassen, M., Nilsson, J., Rüdinger, L., Sipiläinen-Malm, T., Solli, E., Svensson, K., Thorkelsson, Á. E., and Toumaala, V., **2000**. Active and Intelligent Food Packaging, A Nordic Report on Legislative Aspects. Nordic Council of Ministers, Copenhagen **2000**. TemaNord 2000:584, (ISBN: 92-893-0520-7, ISSN: 0908-6692).
26. Fauconnier, M.-L.; Panhaleux, V.; Vanzeveren, E.; Marlier, M. and Wathelet, P. **2001**. Modelling migration from high-density polyethylene containers into concentrated solutions used as food flavouring. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 18, No. 11, 1040-1045.
27. Fernández, M.A., **2000**. Review: Active Food Packaging. *Food Science and Technology International*. 6, 97-108.
28. Gerlai, I., Pinter, J. **1987**. Determination of DEHP in blood products stored in plastic bags by HPLC. *Chromatographia*, 24, 403-406.



29. Gilbert, J. And Rossi, L. **2000**. European priorities for research to support legislation in the area of food contact materials and articles. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 17, No. 1. 83-127.
30. González-Casado, A., Navas, N., del Olmo, M. and Vílchez, J. L. **1998**. Determination of bisphenol A in water by micro liquid-liquid extraction followed by silylation and gas chromatography- mass spectrometry analysis. *J. Chromatographic Sci.*, 36, 565-569.
31. Helmroth, E. I. **2002**. Release of additives from packaging plastics. Thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. ISBN: 90-5808-737-9. 99 pp.
32. Howe, R. S. and Borodinsky, L. **1998**. Potential exposure to bisphenol A from food-contact use of polycarbonate resins. *Food Additives and Contaminants*. 15, 370-375.
33. <http://europa.eu.int/comm/environment/waste/studies/pvc/landfill.pdf>  
. Consultada 8 de marzo de **2003**.
34. [http://europa.eu.int/eur-lex/es/treaties/dat/EC\\_consol.html - 003301](http://europa.eu.int/eur-lex/es/treaties/dat/EC_consol.html - 003301)  
Consultada 8 de marzo de **2003**.
35. <http://www.voeding.tno.nl/Applicaties.cfm?Jaar=1999&AppID=106>.  
Consultada 10 de marzo de **2003**.
36. Inoue, K., Kondo, S., Yoshie, Y., Kato, K., Yoshimura, Y., Horie, M. and Nakazawa, H. **2001**. Migration of 4-nonylphenol from

- polyvinyl chloride food packaging film into food simulants and foods. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 18, No. 2, 157-164.
37. Kang, J-H. and Kondo, F. **2002**. Bisphenol A migration from cans containing coffee and caffeine. *Food Additives and Contaminants*. Vol.19, No. 9, 886-890.
38. Kruijf, de N. And Rijk, R. **1997**. The suitability of alternative fatty food simulants for overall migration testing under both low- and high-temperature test conditions. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 14, No. 6-7, 775-789.
39. Labuza, T. and Breene, W. M., **1989**. Applications of “active packaging” for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and extended shelf-life foods. *Journal of food Processing and Preservation*, 13: 1-69
40. Lau, O. W.; Wong, S. K. **1997**. Mathematical model for the migration of plasticisers from food contact materials into solid food. *Analytica Chimica Acta*. 347, 249-256
41. Mountfort, K.A., Kelly, J., Jickells, S.M and Castle, L. **1997**. Investigations into the potential degradation of polycarbonate baby bottles during sterilization with consequent release of bisphenol A. *Food Additives and Contaminants*. 14, 737-740.

42. Nerin, C., Cacho, J., Gancedo, P. **1993**. Plasticizers from printing inks in a selection of food packaging and their migration to food. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 10, No. 4, 453-460.
43. Nerín, C.; Acosta, D. And Rubio, C. **2002**. Potential migration release of volatile compounds from plastic containers destined for food use in microwave oven. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 19, No. 6, 594-601.
44. Paseiro-Losada, P., López-Mahia, P., Vazquez-Odoriz, L., Simal-Lozano, J. and Simal-Gándara, J. **1991**. Sensitive and rapid reversed-phase liquid chromatography – fluorescence method for determining bispheno A diglycidyl ether in aqueous-based food simulants. *J-AOAC International*. 74(6): 925-928.
45. Paine, F. y Paine, H. **1994**. *Manual de envases de alimentos*. Ed. A. Madrid Vicente, ediciones (Madrid, España), pp 13-66; 483-498.
46. Reynier, A.; Dole, P. and Feigenbaum, A. **1999**. Prediction of worst case migration: presentation of a rigorous methodology. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 16, No. 4, 137-152.
47. Reynier, A.; Dole, P. and Feigenbaum, A. **2002**. Migration of additives from polymers into food simulants: numerical solution of a mathematical model taking into account food and polymer

- interactions. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 19, No. 1, 89-102.
48. Robertson, L. G. **1992**. *Food Packaging, Principles and Practice*. Ed. Marcel Dekker, Inc. (New York. Basel), pp 1-61; 623-662.
49. Rooney M. L., **1995**. Active packaging in polymer films. *In Active Food Packaging*, edited by Rooney, M.L., (London: Blackie Academic & Professional), pp. 74-110.
50. Rossi, L. **1981**. Fourth inter-laboratory study of methods for determining total migration of plastic materials in liquids simulating fatty foodstuffs. *J. of the Association of Official Analytical Chemistry*. Vol. 64, No. 3, 697-703.
51. Rossi, L. **1997**. Interlaboratory study of methods for determining global migration of plastic materials in liquids simulating fatty foodstuffs. *J. of the Association of Official Analytical Chemistry*. Vol. 60, No. 6, 1282-1290.
52. Sarriá, V. M. **1999**. Evaluación de la aptitud de envases para alimentos en función del estudio de interacciones envase-alimento. *Tesis doctoral en Ciencia y Tecnología de los alimentos*. Universidad de Vigo, España. Febrero, pp. 90
53. Simal, G. J., Paz-Abuin, S., Paseiro-Losada, P. and Simal-Lozano, J. **1993**. *Journal of Chromatographic Science*. Vol. 31, November.

54. Smith J.P., Hosahalli, S., Ramaswamy and Simpson, K. B., **1990**. Developments in food packaging technology. Part II: Storage aspects. *Trends in Food Science & Technology*, November; 111-118.
55. Smith J.P., Hoshino J. and Ave Y., **1995**. Interactive packaging involving sachet technology. In *Active Food Packaging*, edited by Rooney, M.L., (London: Blackie Academic & Professional), pp. 143-173.
56. Steine, I., Scharf, F., Fiala, F. and Washüttl, J. **1998**. Migration of di-(2-ethylhexyl) phthalate from PVC child articles into saliva and saliva simulants. *Food Additives and Contaminants*. Vol. 15, No. 7, 812-817.
57. Tsumura, Y., Ishimitsu, S., Kaihara, A., Yoshii, K., Nakamura, Y. And Tonogai, Y. **2001**. *Food Additives and Contaminants*, vol.18, No. 6, 569-579.
58. Vermeiren, L., Devlieghere, F., Debevere, J., Smolander, M., Hume, E., Ahvenainen, R., Rijk, M.A.H., vanBeest, M.D. and Kruijff, N. de, **1999**. Literature Review of FAIR- project Actipac (CT 98-4170). An in-depth review of technologies, legislation, market and consumer needs and trends in active and intelligent packaging in relation to current European food packaging regulation ( The Netherlands: TNO Voeding).

59. Yoshida, T. M. Horie, Y. Hocino, and H. Nakazawa. **2001.**  
Determination of bisphenol A (BPA) in canned vegetables and fruit  
by high performance liquid chromatography. *Food Additives and  
Contaminants*. 18, 69-75.





**OBJETIVOS**





El objetivo de este trabajo fue el estudio de las interacciones envase-alimento. Dichas interacciones pueden responder a fenómenos de migración de componentes del envase al alimento. En este grupo se incluyen los envases activos (absorbedores de oxígeno), envases de Cloruro de Polivinilo de uso alimentario, y envases de Tereftalato de Polietileno para cocimiento o calentamiento de alimentos en horno convencional o en horno microondas.

Además, se observó el comportamiento de la migración desde sistemas de envases activos hacia alimentos y simulantes de alimentos, en concordancia con la directiva de la Unión Europea relativa a los materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios. Así también, se incluyen materiales plásticos de uso en alimentos, donde se estudia la migración de sus componentes hacia los simulantes de alimentos oficiales, sustitutos y alternativos, cuando se modifican las condiciones de contacto envase-alimento.

***Los objetivos específicos desarrollados son los siguientes:***

1. Estudio del comportamiento de sistemas de envases activos (absorbentes de oxígeno basados en Fe), en lo referente a la identificación y cuantificación de sus componentes que migran a los

- simulantes de alimentos y a los alimentos, con el propósito de generar un modelo para el examen de envases activos similares.
2. Extracción e identificación de bisfenol A en films de Poli Cloruro de Vinilo de uso en alimentos y cuantificación de la migración de éste hacia alimentos y simulantes de alimentos.
  3. Evaluar el efecto de la compactación y modificaciones de las condiciones de almacenamiento en la migración de bisfenol A desde un plástico de Poli Cloruro de Vinilo hacia simulantes de alimentos oficiales (EU), y en dos simulantes de alimentos sustitutos: agar al 1.5 % y una mezcla de aceite de oliva con un material inerte (arena) a diferentes proporciones.
  4. Desarrollo de un método para el aislamiento y caracterización de oligómeros del Polietilen Tereftalato (PET) migrados en simulantes de alimentos grasos.

**EVALUATING THE MIGRATION OF INGREDIENTS FROM  
ACTIVE PACKAGING AND DEVELOPMENT OF DEDICATED  
METHODS: A STUDY OF TWO IRON-BASED OXYGEN  
ABSORBERS\***

\*Una modificación de la versión que ha sido publicada como: J. López-Cervantes; D. I. Sánchez-Machado; S. Pastorelli, R. Rijk and P. Paseiro-Losada. *Food Additives and Contaminants*, **2003**, Vol. 20, No. 3, 291-299.



#### **4.1. ABSTRACT**

The behaviour of two commercial oxygen-scavenging products was investigated as regards the migration of active ingredients into foodstuffs. We identified migrants, selected appropriate quantitative analytic methods, quantified migration into a variety of liquid, solid or gelled food simulants and foods. Simulants were chosen to cover a range of water activities and viscosities. Foods and the gelled food simulant agar were packed with and without vacuum, and with the oxygen scavenger in various locations relative to the packed food. The main migrants, as identified by X-ray fluorescence spectrometry, infrared spectroscopy and scanning electron microscopy with energy-dispersive spectrometry, were  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  in non-acidic aqueous simulants, and  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  and  $\text{Fe}^{2+}$  in 3% acetic acid. Migration into aqueous simulants exceeded the current EU limit on total migration from plastic materials (assumed to be currently applicable to these systems) and was probably excessive by any reasonable standard, but neither oxygen scavenger appears to release significant quantities of migrants into solid foods if it is properly located in the package and the packing process does not favour its contents becoming wetted by water released from the food.

**Keywords:** active packaging; oxygen absorber; simulants; migration

## **4.2. INTRODUCTION**

The aim of active packaging is to prolong the shelf life of products and preserve their quality, either by actively controlling the atmosphere inside the package or by addition of preservatives, antioxidants or other additives to the food itself. Typical active packaging materials include compounds that absorb or otherwise sequester oxygen, ethylene, carbon dioxide or moisture, or that themselves generate carbon dioxide or ethanol.

Currently, the most widespread kind of active packaging system is probably the oxygen absorber (Smith *et al.* 1995). Among other products, there are many foodstuffs that can benefit from oxygen absorption, among them bread, confectionery, biscuits, pizzas, cured or smoked meat and fish, cheese, nuts, coffee, tea and chocolate (Abe 1996). Packaging these products in the presence of oxygen absorbers can achieve shelf lives three times as long as those achieved by passive packaging in modified atmospheres.

The agents used to absorb oxygen are readily oxidizable chemical species or enzymes. Among the former class, the most common are iron, ascorbic acid, and their salts (Rooney 1995; Vermeiren *et al.* 1999). All may be used in sachets, as adhesive labels, incorporated in adhesive coatings, or incorporated in the packaging material proper in printing ink, trays, bottle tops, or other forms that may be convenient for the application

in question (Smith *et al.* 1995; Teumac 1995). In the case of solid foods, absorbent-loaded sachets are currently more popular than absorbent plastics (Rooney 1995), although this preference may change as the result of further development of the latter.

In some countries certain active packaging techniques are already commonplace, and research on active packaging continues apace. However, the expansion of these packaging methods will depend not only on their cost and efficacy but also on legal factors (Fernández 2000). In the European Union there is as yet no specific legislation in this area, with the result that active packaging is subject to the same regulations as passive or conventional packaging, which in the case of food packaging is required to be as inert as possible. For example, total migration of substances from plastics in contact with foodstuffs should be less than 60 mg per kilogram of packaged food (European Commission 1990), a requirement that is prohibitive for many active packaging systems based on the release of additives such as preservatives into the foodstuff (Ahvenainen 1997; Vermeiren *et al.* 1999, Fabech *et al.* 2000). Appropriate regulation of the migration of substances from active packaging into packaged food is nevertheless reasonable and desirable, especially as regards toxic substances such as the ethylene absorber potassium permanganate (Hotchkiss 1995). To enable appropriate legislation to be drawn up, the European Commission

funded Actipak, a project for evaluation of the safety, effectiveness, economic and environmental impact and consumer acceptance of active and intelligent packaging (more information on Actipak is available at <http://www.voeding.tno.nl/Applicaties.cfm?Jaar=1999&AppID=106>, 6 de marzo de 2003).

Active packaging systems should not release their constituents, and a strict migration limit is therefore justified, if they are intended merely to absorb undesirable substances from the packaged foodstuff, such as oxygen or substances that may eventually be released by the foodstuff itself (e.g. carbon dioxide, moisture or ethylene). An obvious migration-reducing measure in these cases is to prevent potential migrants from coming into contact with the foodstuff. This can be achieved, for example, by locating them on the inside surface of the package lid and leaving enough headspace for them not to touch the foodstuff. Unfortunately, spatial separation of this kind is often not ensured. Sachets containing active substances are often in contact with packaged foods, giving rise to the possibility that their migration into the foodstuff might be significant, especially in the case of foodstuffs that are moist, fatty and/or acid. Significant migration will usually be unacceptable even if the migrant is itself a permitted food ingredient, since in spite of this character it may alter the quality of the particular foodstuff packaged (Ahvenainen 1997).



The enforcement of migration-limiting regulations, and the development of products complying with such regulations, requires appropriate analytical techniques for the quantification of migration and identification of migrants (Hotchkiss 1995). Although much has been published on the migration of plastics monomers or additives into foods or official or alternative food simulants (see, for example, Alnafouri and Franz 1999; Simoneau and Hannaert 1999; O'Brien *et al.* 1999; Gilbert *et al.* 2000; Theobald *et al.* 2000; O'Brien and Cooper 2001; Garde *et al.* 2001; Hernández-Muñoz *et al.* 2001; Riquet *et al.* 2001), there is little literature on the determination of migration from active packaging or into solid food simulants.

In this work we investigated the behaviour of two oxygen-scavenging systems. We identified migrants, selected appropriate analytic methods, and quantified migration into a variety of food simulants and foods. For quantification purposes we used both the test conditions prescribed by current EU legislation (European Commission 1982; this Directive requires either intimate contact between food contact material and a food simulant or, alternatively, that the foodstuff be subjected to worst case conditions of use) and also alternative conditions that seemed appropriate for the systems being tested. Similarly, as well as comparing our results with the above-mentioned 60 mg/kg overall migration limit,

which we understand to be currently applicable to the plastic or systems studied, we also comment on their wider implications and the appropriateness of current legislation. On the basis of our findings we propose limitations on the use of the scavengers studied. The procedure we followed may be generalizable as a model for examination of similar active packaging products.



### 4.3. EXPERIMENTAL

#### 4.3.1. Products studied

We studied two commercial oxygen-scavenging systems: OS1, which has the form of a cup 6 cm in diameter and 3-4 mm deep made of plastic approximately 40  $\mu\text{m}$  thick and covered with a porous plasticized paper seal; and OS2<sub>s</sub> and OS2<sub>l</sub>, which are respectively small and large plasticized (Table 4.1).

**Table 4.1.** Characteristics of the oxygen-scavenging systems used.

Systems	Weight (g)	Single-face area (cm <sup>2</sup> )	Form
OS1	6.28	19.6	Plastic cup with plasticized paper covering seal
OS2 <sub>s</sub>	7.37	22.5	Sachet of laminated paper/plastic
OS2 <sub>l</sub>	56.7	68.0	Sachet of laminated paper/plastic

#### 4.3.2. Foods, food simulants, and reagents

The food simulants used are listed, together with relevant characteristics, in Table 4.2. They comprise the official standard and substitute EU simulants, alternative liquid simulants with different water activities  $a_w$  (although this also modified viscosity), and agar gel (as a

simulant of solid foods with high water content). The real foods used comprised hard food (toasted bread), soft food (fresh bread and boiled fish), and jellied food (quince jelly); their relevant characteristics are listed in Table 4.3. For colorimetric determination of chloride and iron, Merck Spectroquant chloride and iron test kits were used (catalogue items 1.14755.0001 and 1.14761.0001, respectively). All other reagents and solvents were of analytical quality.

**Table 4.2.** Characteristics of the food simulants employed.

Simulant	Water content (%)	$a_w$	pH	Viscosity (cSt) at 40°C
Official simulants				
Distilled water	100	1.00	6.5	0.73
Acetic acid (3% w/v in water)	97	0.99	2.5	0.78
Rectified olive oil	-	-	-	42.57
Substitute fatty food simulants				
Isooctane	-	-	-	0.67
Ethanol (95% v/v in water)	6	0.96	5.2	1.01
Alternative simulants				
Glycerol (16.7% w/w in water)	83	0.96	3.5	0.92
Glycerol (33.5% w/w in water)	66	0.90	3.6	1.59
Glycerol (51.0% w/w in water)	49	0.80	3.7	3.30
NaNO <sub>3</sub> (46% w/w in water)	54	0.74	4.8	1.34
Aqueous agar gel (1.5% w/v)	98	0.99	5.5	-

**Table 4.3.** Characteristics of the real foods used.

Food	NaCl (mg(200 g) <sup>-1</sup> )	Fe (mg(200 g) <sup>-1</sup> )	Water content (%)	a <sub>w</sub>	pH
Toasted bread	533 ± 14	6.9 ± 0.5	2	0.50	5.7
Fresh bread	1830 ± 64	3.6 ± 0.2	23	0.93	5.3
Boiled fish	1044 ± 16	6.5 ± 0.1	72	0.99	7.5
Quince jelly	229 ± 17	2.9 ± 0.1	24	0.82	3.9

### 4.3.3. Apparatus

Cannon-Fenske Mod. 5354/1, 5354/2 and 5354/7 viscometers (depending on the simulant)

GLP 21-22 pH-metre

Aqua Lab CX-2 water activity system

Siemens SR 3000 X-ray fluorescence spectrometer with GeoQuant software for XRF spectrometry.

LEO 435 VP scanning electron microscope equipped for energy-dispersive spectrometry (SEM-EDS)

Mattson Genesis II FTIR spectrometer

Varian-Cary 3E UV-Vis spectrophotometer

#### 4.3.4. Test procedures

**Migration into liquid simulants.** Each of the oxygen scavengers were stored for 10 days at 40°C immersed in 200 mL of liquid simulant in a hermetically sealed jar. Samples of the simulant were then taken for determination of NaCl and iron as well as the overall migration (OM) in water and 3% acetic acid. The residues of the overall migration were used for identification purposes.

**Migration into agar and real foods.** Each of the oxygen scavengers were stored for 10 days at 40°C in a hermetically sealed jar containing 200 mL of agar or in a hermetically sealed plastic bag containing 200 g of food. Samples of the agar or food were then taken for analysis. To evaluate whether additional risk derived from incorrect location of the active packaging system, two locations were examined (three for agar): on top of the agar or food (assumed to be the usual correct position); beneath the agar or food; and immersed in agar. OS1 was always placed with the seal uppermost. To evaluate the effect of vacuum packing (which increases the contact pressure between food and system, and can thus influence migration by enhancing the wetting of the system contents by moisture released from the food), the jar or bag contents (systems and agar or foodstuff) were packed both with and without application of vacuum. Finally, agar gel was used both as a single mass and after being broken up

into fragments.

#### 4.3.5. Analyses

**Preparation of simulant and food samples.** Aqueous simulants and ethanol were diluted with distilled water to achieve NaCl and iron concentrations within the appropriate ranges for analysis; the dilution ratio was usually 1:50 or 1:100. Agar was liquefied by heating to 70°C and was then diluted appropriately with distilled water. Olive oil and isooctane were extracted with an equal volume of water at a temperature of 40°C, and NaCl and iron were then determined in the aqueous extract. Real foods were homogenized in water, the homogenate was extracted with 3 × 200 mL of hot (40 °C) water, the pooled extracts were diluted to 1 L with water, and this solution was finally diluted to achieve NaCl and iron concentrations within the appropriate ranges for analysis.

**Determinations.** Iron was determined colorimetrically using Merck Spectroquant kit 1.14761.0001 Iron-test (Fe concentration range 0.04 - 4.0 mg L<sup>-1</sup>). Chloride was determined either colorimetrically, using Merck Spectroquant kit 1.14755.0001 Chlorid-test (concentration range 0.4 - 40.0 mg L<sup>-1</sup>), or, in the determination method selection trials, by Volhard titration.

**Calibration.** The calibration line for sodium chloride, constructed using 10 - 50 mg L<sup>-1</sup> NaCl standards prepared from a 1 g L<sup>-1</sup> stock solution,

was

$$Y = 0.0248 x (\text{mg L}^{-1}) + 0.1419 \quad (r = 0.9952)$$

The calibration line for iron, constructed using 0.02 - 3.0 mg L<sup>-1</sup> standards prepared from a 1 g L<sup>-1</sup> stock solution, was

$$Y = 0.4515 x (\text{mg L}^{-1}) - 0.0047 \quad (r = 0.9995)$$

**Replication and presentation.** All data are presented as the mean ± standard deviation of three replicate analyses. In comparing w/v with w/w migration values, densities of 1 were assumed for all simulants.



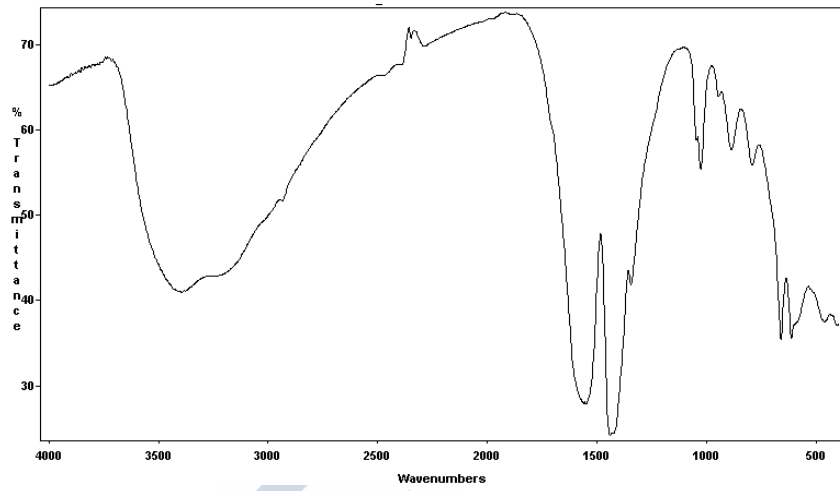
## **4.4. RESULTS AND DISCUSSION**

### **4.4.1. Identification of migrants**

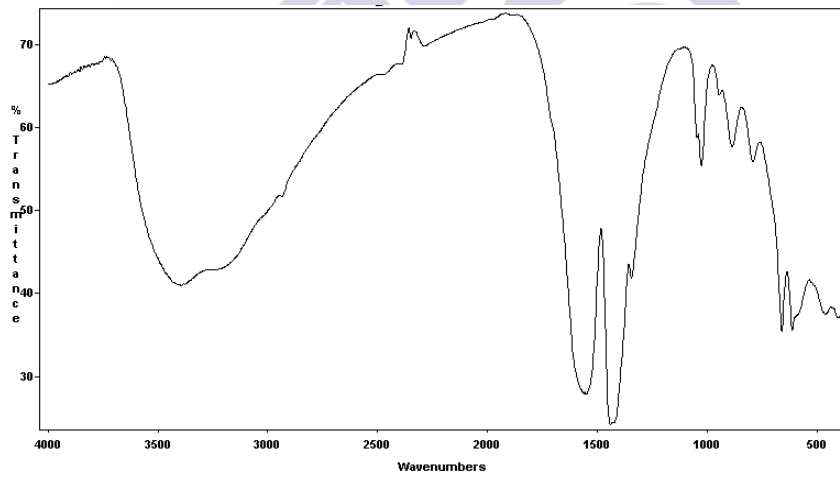
Species migrating from OS1 and OS2<sub>1</sub> during 10 days immersion in water and acetic acid at 40°C were identified from IR, XRF and SEM-EDS spectra of the residues left by evaporation of these solvents. OS2<sub>s</sub> was not examined as the composition of its contents was the same as for OS2<sub>1</sub>.

### **4.4.2. Migration into acetic acid**

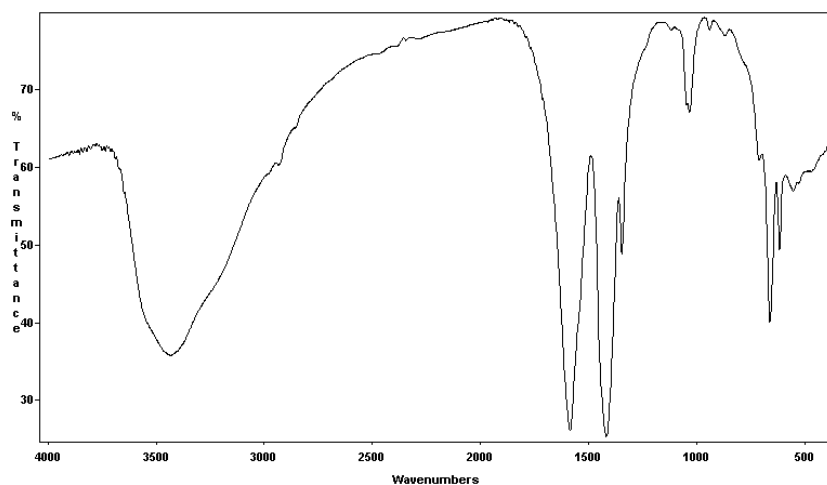
Both OS1 and OS2<sub>1</sub> afforded powdery red residues, the main elements in which were identified by XRF as Na, Cl and Fe (minority elements identified were Si, Al, K, Ca, Mg, Mn, S, Cr, P and Zn). IR spectrometry revealed the presence of an acetate or acetates, which were more abundant when the residue was obtained by evaporation at room temperature under reduced pressure than when it was obtained by heating at 102°C (Figure 4-1, 4-2, 4-3).



**Figure 4.1.** Spectrum of IR for OS2 in simulant acetic acid.

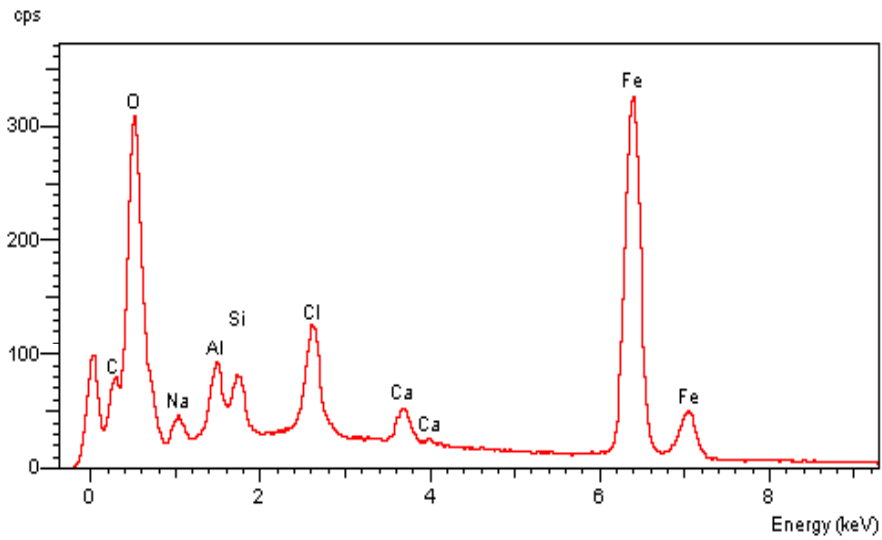


**Figure 4.2.** Spectrum of IR for OS1 in simulant acetic acid.

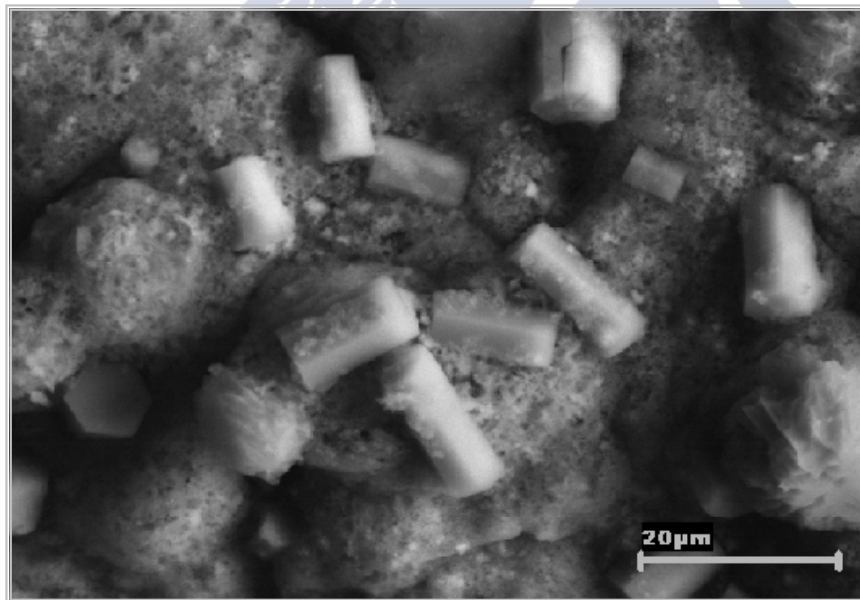


**Figure 4.3.** Spectrum of IR in samples pattern of Fe in concentrated acetic acid.

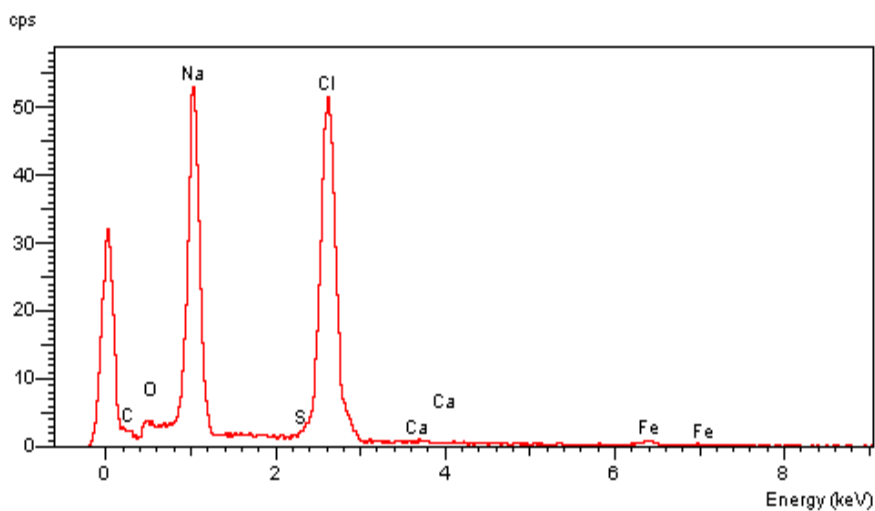
SEM revealed several kinds of structure, some of which were shown by EDS to contain Na and Cl, and others Fe and O<sub>2</sub>, or Fe, O<sub>2</sub> and C (minority structures contained Ca and Cl, or Ca and S) (Figure 4.4). We concluded that the main components of the residue were NaCl and iron compounds (probably iron(III) oxides and acetates), and that the main migrants were therefore NaCl and iron. Presumably, the acetic acid of the simulant reacts with the iron of the scavengers to form iron(II) acetate, which when the solvent is evaporated by heating is converted into a mixture of iron(III) acetates and oxides.



**Figure 4.4.** Spectrum of dispersion of energy of the residual of overall migration in simulante acetic acid.



**Figure 4.5.** Microphotograph of the surface of the residual of global migration in simulante water.



**Figure 4.6.** Spectrum of dispersion of energy of the residual of overall migration in simulant water.

#### 4.4.3. Migration into water

Both OS1 and OS2<sub>1</sub> afforded powdery white residues that were practically transparent to IR radiation. SEM revealed a structure shown by EDS to contain Na and Cl, together with minority structures containing Ca and Cl (other minority elements were also detected). We concluded that NaCl was both the main component of the residue and the main migrant (figure 4.5, 4.6).

#### 4.4.4. Selection of quantification methods

As a simple, inexpensive, rapid, sensitive and easily accessible method for quantification of iron we chose the appropriate Merck

Spectroquant test. For NaCl, we compared the Spectroquant chloride test with Volhard titration for quantification of migration from OS2<sub>1</sub> into agar and into liquid simulants (except olive oil and weak glycerol solutions). Student's *t* test for independent pairs showed no significant difference between the results of the two methods (listed in Table 4-4), and correlation between the two was good ( $r = 0.992$ ). In all subsequent work we used the Spectroquant test for convenience.

#### 4.4.5. Overall migration

Table 4.5 lists the migration from OS1 and OS2<sub>1</sub> into water and acetic acid. It is assumed that chloride and iron migrate wholly as NaCl and Fe(OAc)<sub>2</sub>. These calculated values are compared with the total masses of the residues obtained in the overall migration experiments. In each case, the sum of the calculated masses of migrated NaCl and Fe(OAc)<sub>2</sub> is close enough to the total migrated mass to be taken as an acceptable estimate of overall migration, and this is what was done in the remainder of the study.

**Table 4.4.** Comparison of Spectroquant and Volhard methods for determination of the migration of NaCl from OS2<sub>1</sub> into liquid simulants and agar, and of the concentration of a 100 mg(200 mL)<sup>-1</sup> standard.

Simulant	NaCl (mg(200 mL) <sup>-1</sup> )	
	Spectroquant	Volhard
3% Acetic acid	968 ± 86	1053 ± 28
Water	821 ± 8	811 ± 7
Agar (OS immersed)	538 ± 9	480 ± 15
Agar (OS on top)	89 ± 5	94 ± 5
46% NaNO <sub>3</sub>	254 ± 14	289 ± 6
95% Ethanol	184 ± 53	164 ± 7
51% Glycerol	134 ± 8	117 ± 10
Isooctane	-	-
100 mg(200 mL) <sup>-1</sup> standard	99 ± 2	103 ± 1

Note that overall migration is limited by EU legislation to 60 mg kg<sup>-1</sup> [(12 mg(200 mL)<sup>-1</sup>] (90/128/EEC ). The sum of the specific migration of NaCl and iron (expressed as iron diacetate) is compared with the overall migration. The weighed residue of the overall migration includes NaCl and a mixture of ferric oxide and ferric - and ferrous acetate. This mixture may depend on the method of evaporation of the simulant and the extend of drying the residue in an oven. However, it should be considered that only iron migrates. To determine the actual overall migration the residue obtained should be corrected for the molecular

weight difference of iron to iron oxide and acetate. This can be done by adding up the actual migration of the substances occurring from the oxygen absorber.

**Table 4.5.** Comparison of overall migration (OM) into water and 3% acetic acid, as calculated from total final residue mass, with specific migration of NaCl and Fe (the latter as Fe(OAc)<sub>2</sub>, as calculated from observed migration of chloride and iron, respectively.

OS element	Simulant	NaCl mg(200 mL) <sup>-1</sup>	Fe(OAc) <sub>2</sub> mg(200 mL) <sup>-1</sup>	NaCl+Fe(OAc) <sub>2</sub> mg(200 mL) <sup>-1</sup>	OM mg(200 mL) <sup>-1</sup>
OS1	Water	88 ± 6	0	88 ± 6	107 ± 9
	3% HAc	72 ± 12	654 ± 67	726 ± 68	707 ± 17
OS2 <sub>1</sub>	Water	821 ± 8	3 ± 0.1	824 ± 8	898 ± 6
	3% HAc	968 ± 86	688 ± 69	1656 ± 110	1263 ± 56

#### 4.4.6 Migration of NaCl into simulants

The quantities of NaCl migrating into water and 3% acetic acid from OS2<sub>1</sub> (Table 4.6) were almost two orders of magnitude greater than the EU limit for total migration. The migration from OS2<sub>1</sub> in all simulants, except olive oil and isooctane, exceeded the overall migration limit. The migration values from OS1 into water, 3% acetic acid 16.7% glycerol and agar packed under vacuum with the OS1 element exceeded the overall migration value of 60 mg. In this respect it is disputable how the limit



should be applied. Conventionally the migration is expressed in mg/kg assuming the 1 kg of foodstuff is in contact with 6 dm<sup>2</sup> of food contact material. For the tested oxygen scavengers an other approach is required. The migration from one object can be taken as an absolute value. and this value should be related to the amount of food in contact with that object. Exceeding of the value of 60 mg does not automatically imply that the system is not suitable for the intended purpose. This can only be decided when the amount of food in contact with the system is known. To make a proper judgement the migration from one object should be determined, using proper test conditions, and based on the migration value the minimum quantity of food that should be in contact with the object can be calculated. Nevertheless in this paper the absolute migration value was used to determine the suitability of the oxygen scavenger when in contact with 1 kg of foodstuff.

Migration into glycerol solutions decreased with increasing glycerol concentration (and increasing viscosity), and therefore increased with the water activity of these simulants. Migration into 46% NaNO<sub>3</sub> ( $a_w = 0.74$ ) was four times greater than migration into 51% glycerol ( $a_w = 0.80$ ), presumably because of the greater viscosity of the latter (3.30, as against 1.34).

In the tests with agar, migration was favoured by all conditions that would have favoured release of water from the agar and hence the wetting of and migration from the OS element due to vacuum, packing the OS element under or immersed in the agar, and fragmentation of the agar gel.

The results for olive oil and the substitute fatty food simulants show that 95% ethanol should not be used as a substitute for olive oil in evaluating the migration of chloride from these or similar systems.

#### **4.4.7. Migration of iron into simulants**

For both the systems tested, migration of iron was at most a few tenths of a milligram per 200 mL for all simulants except 3% acetic acid. The migration levels of over  $200 \text{ mg}(200 \text{ mL})^{-1}$  recorded with the latter (Table 4.6) show that iron-based oxygen-scavenging systems are not suitable for contact with acid liquid foodstuffs.

**Table 4.6.** Migration of NaCl and Fe into food simulants.

Simulant	NaCl (mg(200 mL) <sup>-1</sup> )		Fe (mg(200 mL) <sup>-1</sup> )	
	OS1	OS2 <sub>1</sub>	OS1	OS2 <sub>1</sub>
Distilled water	88 ± 6	821 ± 8	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
3% Acetic acid	72 ± 12	968 ± 86	211 ± 22	221 ± 22
16.7% Glycerol	80 ± 6	436 ± 8	0.1 ± 0.2	0.2 ± 0.2
33.5% Glycerol	39 ± 5	394 ± 41	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1
51.0% Glycerol	11 ± 1	134 ± 8	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.2
46% NaNO <sub>3</sub>	44 ± 8	254 ± 14	0	0
Olive oil	0	0	0	0
Isooctane	0	0	0	0
95% Ethanol	15 ± 6	184 ± 53	0	0
Agar				
OS on top of agar:				
without vacuum	0	89 ± 5	0	0
with vacuum	83 ± 4	521 ± 11	0.2 ± 0.1	0.1 ± 0.1
OS beneath agar:				
without vacuum	15 ± 2	321 ± 8	0.1 ± 0.2	0
with vacuum	79 ± 2	809 ± 40	0.2 ± 0.1	0.5 ± 0.1
OS beneath broken agar gel	47 ± 3	109 ± 5	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1
OS immersed in agar	15 ± 2	538 ± 9	0.2 ± 0.2	0.1 ± 0.2

#### 4.4.8. Migration into real foods

Migration from OS1 and OS2<sub>s</sub> into real foods was evaluated by

comparison of the NaCl and iron contents of the foods before and after storage with the OS elements, the statistical significance of differences being estimated using Student's *t* test for independent pairs. Tests on migration into boiled fish were terminated after 4 days because of evident rotting.

#### 4.4.9. Migration of NaCl into real foods

The differences between the NaCl contents of the foods before and after storage (Table 4.7) were statistically significant for quince jelly (except when packed without vacuum with OS1 on top), vacuum-packed boiled fish, and vacuum-packed toasted bread stored with OS<sub>2s</sub>. In all these cases, migration exceeded the EU limit for overall migration, which was in fact exceeded by the observed mean migration in all cases except *a*) when OS1 was on top of food packed without vacuum or vacuum-packed toasted bread, *b*) when OS1 was beneath toasted bread or fresh bread packed without vacuum, and *c*) when OS<sub>2s</sub> was on top of toasted bread packed without vacuum.

The difference in statistical significance between the results obtained by packing boiled fish (and quince jelly with OS1 on top) with and without vacuum is attributable to the vacuum favouring the separation of water from the food; foods of this kind, with high moisture contents, are probably

not suitable for vacuum packing with absorbers such as those investigated in this work. The significant migration into vacuum-packed toasted bread stored with OS2<sub>s</sub> is attributed to migration having been favoured by the presence of small tears (holes) that were observed in the OS sachet after storage, and which are thought to have been brought about by vacuum-enhanced contact between the sachet and the hard toast.

The results demonstrate that conventional food simulants are not suitable for testing the migration of NaCl from oxygen scavengers. The use of agar as a simulant provides results which are close to those obtained with some high-moisture content foodstuffs.

**Table 4.7.** Migration of NaCl into real food.

Food	NaCl [mg(200 g) <sup>-1</sup> ]			
	OS1		OS2 <sub>s</sub>	
	On top	Below	On top	Below
Without vacuum				
Toasted bread	3 ± 18	-5 ± 20	8 ± 21	15 ± 19
Fresh bread	6 ± 66	-6 ± 68	-22 ± 66	-30 ± 69
Boiled fish	0 ± 20	72 ± 54	87 ± 212	64 ± 38
Quince jelly	6 ± 12	43 ± 10*	58 ± 16*	49 ± 18*
With vacuum				
Toasted bread	7 ± 20	3 ± 17	72 ± 24*	71 ± 20*
Fresh bread	50 ± 70	55 ± 68	31 ± 66	28 ± 67
Boiled fish	157 ± 26*	124 ± 21*	97 ± 20*	92 ± 16*
Quince jelly	41 ± 13*	42 ± 12*	80 ± 13*	73 ± 20*

\* Statistically significant differences between pre- and post-storage NaCl contents.

#### **4.4.10. Migration of iron in foodstuffs**

The differences between the iron contents of the foods before and after storage (Table 4.8) were statistically significant for all vacuum-packed foods except toasted bread and fresh bread stored with OS2<sub>s</sub>, and for non-vacuum-packed boiled fish and quince jelly unless stored with OS1 above them. For both OS elements, however, migration of iron was at most a few tenths of a mg per 200 g foodstuff, except for vacuum-packed fresh bread and boiled fish stored with OS1 and non-vacuum-packed boiled fish stored with the OS element beneath it. In no case was a migration level higher than 4 mg(200 g)<sup>-1</sup> recorded. This means that migration in food simulants and foodstuffs is at the same level, with the exception of acetic acid. Simulants can be used to replace non-acidic foodstuffs for the determination of the migration of iron from oxygen scavengers.

**Table 4.8.** Migration of Fe into real food.

Food	Fe [mg(200 g) <sup>-1</sup> ]			
	OS1		OS2 <sub>s</sub>	
	On top	Below	On top	Below
Without vacuum				
Toasted bread	-0.2 ± 0.5	-0.1 ± 0.5	-0.1 ± 0.5	0.1 ± 0.5
Fresh bread	-0.1 ± 0.2	-0.1 ± 0.4	-0.1 ± 0.2	-0.5 ± 0.2
Boiled fish	0.1 ± 0.2	1.5 ± 0.2*	0.5 ± 0.2*	1.5 ± 0.2*
Quince jelly	-0.1 ± 0.1	0.3 ± 0.1*	-0.4 ± 0.2	0.2 ± 0.1*
With vacuum				
Toasted bread	-0.1 ± 0.5	-0.1 ± 0.5	0 ± 0.5	-0.4 ± 0.5
Fresh bread	1.1 ± 0.5*	3.6 ± 0.3*	0 ± 0.3	0 ± 0.2
Boiled fish	2.1 ± 0.2*	1.9 ± 0.2*	0.8 ± 0.2*	0.9 ± 0.2*
Quince jelly	0.2 ± 0.5*	1.1 ± 0.1*	0.4 ± 0.1*	0.1 ± 0.1*

\* Statistically significant differences between pre- and post-storage Fe contents.

#### **4.5. CONCLUSIONS**

Significantly more sodium chloride migrates from the oxygen-scavenging systems studied in this work into conventional aqueous food simulants than into the dry foods or most of the non-vacuum-packed foods that were considered. Migration of iron is low in both non-acidic food simulants and non-acidic foodstuffs. Migration of sodium chloride and iron into dry foods and fatty simulants is negligible. Under realistic contact conditions, agar gel appears to be an appropriate simulant of solid foods with water activities similar to its own. Overall migration from these systems into water or acetic acid is approximately equal to the sum of the specific migrations of NaCl and iron. Analogous findings as regards the (un)suitability of certain simulants and overall migration into certain simulants may be expected for other kinds of active packaging system, especially iron-based oxygen absorbers.

As regards the specific migration of NaCl and Fe, OS1 appears to be suitable for use in “top” position in direct contact with any kind of fatty food (solid or liquid); with low- and medium-moisture solid foods; and with jellied foods and high-moisture, high  $a_w$  solid foods so long as their water content does not tend to separate as a liquid phase, either naturally or as an effect of the packaging conditions. Similar considerations hold for OS2, except that OS2 appears not to be suitable for use with jellied foods



and solid foods with high water content and high  $a_w$ . Neither OS1 nor OS2 appear to be suitable for use in direct contact with aqueous liquid foods (acidic or otherwise). Both systems should be positioned to minimize contact between their porous surfaces and the packaged food.



### *Acknowledgement*

As part of the Actipak project (CT98-4170), this work was supported by the European Commission through its FAIR programme.

### **4.6. REFERENCES**

1. Abe Y. and Kondoh, Y., **1996**. Absorbentes de oxígeno, Envasado de Alimentos en Atmósferas Controladas, Modificadas y a Vacío, edited by Brody, A.L. (Zaragoza, Spain: Acribia), pp. 175-186.
2. Ahvenainen R. and Hurme E., **1997**. Active and smart packaging for meeting consumer demands for quality and safety. *Food Additives and Contaminants* 14, 753-763.
3. Alnafouri, A.J., and Franz, R., **1999**. A study on the equivalence of olive oil and the EU official substitute test media for migration testing at high temperatures. *Food Additives and Contaminants*, 16, 419-431.
4. European Commission, **1982**. Directive 82/711/EEC of 18 October 1982, laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. *Official Journal of the European Communities* L222, 12 August 1997, 10.

5. European Commission, **1990**. Directive 90/128/EEC of 23 February 1990 relating to plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs . *Official Journal of the European Communities*, L349, 26-47.
  
6. Fabech, B., Hellstrom, T., Henrysdocter, G., Hjulmand-Lassen, M., Nilsson, J., Rüdinger, L., Sipiläinen-Malm, T., Solli, E., Svensson, K., Thorkelsson, Á. E., and Toumaala, V., **2000**. Active and Intelligent Food Packaging, A Nordic Report on Legislative Aspects. Nordic Council of Ministers, Copenhagen **2000**, TemaNord 2000:584, (ISBN: 92-893-0520-7, ISSN: 0908-6692).
  
7. Fernández, M.A., **2000**. Review: Active Food Packaging. *Food Science and Technology International*. 6, 97-108.
  
8. Garde, J.A., Catalá, R. Gavara, R., and Hernández, R.J., **2001**. Characterizing the migration of antioxidants from polypropylene into fatty food simulants. *Food Additives and Contaminants*, 18, 750-762.
  
9. Gilbert, J. Simoneau, C., Cote, D., and Boenke, A., **2000**. An internet compendium of analytical methods and spectroscopic information for monomers and additives used in food packaging plastics. *Food Additives and Contaminants*, 17, 889-893.

- 10.** Hernandez-Muñoz, P., Catalá, R. and Gavara, R., **2001**. Food aroma partition between packaging materials and fatty food simulants. *Food Additives and Contaminants*, 18, 673-682.
- 11.** Hotchkiss J. H., **1995**. Safety considerations in active packaging. In *Active Food Packaging*, edited by Rooney, M.L., (London: Blackie Academic & Professional), pp. 238-255.
- 12.** O'Brien, A., Goodson, A., and Cooper, I., **1999**. Polymer additive migration to foods- a direct comparison of experimental data and values calculated from migration models for high density polyethylene (HDPE). *Food Additives and Contaminants*, 16, 367-380.
- 13.** O'Brien, A. and Cooper, I., **2001**. Polymer additive migration to foods a direct comparison of experimental data and values calculated from migration models for polypropylene. *Food Additives and Contaminants*, 18, 343-355.
- 14.** Riquet, A.-M, Bosc, V., and Feigenbaum, A., **2001**. Tailoring fatty food simulants made from solvent mixtures (1): comparison of methanol, ethanol and isopropanol behaviour with polystyrene. *Food Additives and Contaminants*, 18, 165-176.

16. Rooney M. L., **1995b**. Active packaging in polymer films. In *Active Food Packaging*, edited by Rooney, M.L., (London: Blackie Academic & Professional), pp. 74-110.
17. Simoneau, C. and Hannaert, P., **1999**. Stability testing of selected plastics additives for food contact in EU aqueous, fatty and alternative simulants. *Food Additives and Contaminants*, 16, 197-206.
18. Smith J.P., Hoshino J. and Ave Y., **1995**. Interactive packaging involving sachet technology. In *Active Food Packaging*, edited by Rooney, M.L., (London: Blackie Academic & Professional), pp. 143-173.
19. Teumac F. N., **1995**. The history of oxygen scavenger bottle closure. *Active Food Packaging*, edited by Rooney, M.L., (London: Blackie Academic & Professional), pp. 193-202.
20. Theobald, A., Simoneau, C., Hannaert, P., Roncari, P., Roncari, A., Roudolph, T., and Anklam, E., **2000**. Occurrence of bisphenol-Fdiglycidyl ether (BFDGE) in fish canned in oil. *Food Additives and Contaminants*, 17, 881-887.
21. Vermeiren, L., Devlienhere, F., Debevere, J., Smolander, M., Hume, E., Ahvenaine, R., Rijk, M.A.H., vanBeest, M.D. and Kruijf, N. de, **1999**.

Literature Review of FAIR-project Actipac (CT 98-4170). An in-depth review of technologies, legislation, market and consumer needs and trends in active and intelligent packaging in relation to current European food packaging regulation ( The Netherlands: TNO Voeding).



**DETERMINATION OF BISPHENOL A IN, AND ITS  
MIGRATION FROM, PVC CLINGFILM USED FOR FOOD  
PACKAGING\***

\*Versión aceptada para publicación como: J. López-Cervantes and P. Paseiro-Losada. *Food Additives and Contaminants*. In press. March, 2003.





## **5.1. ABSTRACT**

Bisphenol A (BPA) is employed as an additive in PVC products, including clingfilms used for food packaging. In this study we investigated the BPA contents of several brands of clingfilm that were bought locally but are marketed internationally or throughout Spain and were presumably produced at different manufacturing plants. Their major components were identified by FTIR and HATR, and the migration of BPA from these materials into the standard EU food simulants were determined by HPLC using both fluorescence (FL) and UV detection, the identity of the analyte being confirmed by GC-MS and HPLC-MS. The two HPLC detection methods had different detection limits (30 µg/L for UV, 3 µg/L for FL), but afforded virtually identical BPA determinations for the samples tested. BPA contents ranging from 40 to 100 mg/Kg were found in three of the five PVC-based clingfilms analysed, and a content of 500 mg/Kg in a fourth; for these determinations extraction into acetonitrile was used. In standard tests of migration into water, 3% acetic acid and olive oil over 10 days at 40°C, migration from a given film was in all cases greatest into olive oil. Migration from the films with nonzero BPA contents ranged from 3 to 31 µg/dm<sup>2</sup>, values that are higher than those reported for numerous other food contact materials but are lower than the EU specific migration limit for BPA. Clingfilm may nevertheless make a significant contribution

to contamination of foodstuffs by BPA, and should be taken into account in estimating BPA intake or exposure to this substance.



**Keywords:** bisphenol A, PVC, migration, food simulants, HPLC, fluorescence, UV.

## **5.2. INTRODUCTION**

World production of 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane; (bisphenol A, BPA CAS No. 80-05-7, EEC Ref. No. 13480) has increased from about 730,000 tonnes to an expected total in excess of 1 million tonnes in 2002 (González-Casado *et al.* 1998). Some 63% of this production is used to produce polycarbonate plastic resins, 27% for production of epoxy resin monomers, and the remaining 10% in various other applications, including use as an antioxidant or inhibitor in the manufacture and processing of polyvinyl chloride (PVC) (United Kingdom Health and Safety Executive and Environment Agency, 2002; Bisphenol A Global Industry Group of The Society of the Plastics Industry, Inc). Many of the products manufactured from BPA-based resins are designed for contact with food: polycarbonates, for example, are used in returnable beverage containers and in infant feeding bottles; and epoxy resins, following reaction with appropriate curing agents, are used as can liners.

The US National Institute for Occupational Safety and Health's Registry of Toxic Effects of Chemical Substances describes BPA as a primary irritant, a mutagen, and an agent affecting the reproductive system (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances, RTECS). In recent years BPA has been shown to mimic natural oestrogens, and there is concern about whether it may affect the endocrine system even at very low

doses (Krishnan *et al.* 1993; Nagel *et al.* 1997; Howdeshell *et al.* 1999; Laws *et al.* 2000; McNeal *et al.* 2000). While the plastics industry claims that BPA is safe when used in accordance with current regulations (Bisphenol A Global Industry Group of The Society of the Plastics Industry, Inc), leading independent environmental organizations consider that current legal limits are not stringent enough to protect humans and wildlife, and that the use of BPA should be discontinued wherever this is practicable (World Wildlife Fund; Friends of the Earth in London).

European Commission Directive 90/128 permits the use of BPA as a monomer or starting substance in the manufacture of plastic materials or articles intended to come into contact with foodstuffs provided that its migration from such materials or articles into food or food simulant does not exceed a specific migration limit (SML) of 3 mg/(kg food), a limit treated as equivalent to 0.5 mg/dm<sup>2</sup> when the plastic is a container, container lining or film (90/128/EEC). The European Commission's Scientific Committee on Food recently issued the opinion that in the light of the most recent toxicological information (United Kingdom Health and Safety Executive and Environment Agency, 2002; Scientific Committee on Food, 2002) the tolerable daily intake (TDI) specification for BPA should be lowered, at least provisionally, from the present 0.05 mg/kg to 0.01 mg/kg, and that research on the effects of BPA on human beings

should be continued (Scientific Committee on Food, 2002). The 0.01 mg/kg limit would imply a new SML of 0.1 mg/dm<sup>2</sup>, five times less than the current limit, for migration of BPA from plastic materials.

Numerous studies have been carried out on the concentration of BPA in environmental samples (Olmo, *et al.* 1997; Lee and Peart, 2000; Fukazawa, *et al.* 2001; Yoshida, *et al.* 2001), its residual concentration in polycarbonates and surface coatings, and its migration from these latter materials into foodstuffs or food simulants (Biles, *et al.* 1997; Howe and Borodinsky, 1998; Poskrobko, *et al.* 2000; Sun, *et al.* 2000; D'Antuono, *et al.* 2001; Yoshida, *et al.* 2001), but as far as we know no analogous studies of materials in which BPA is used as an additive rather than as a major starting substance have been published (possibly because its use as an additive is subject to national legislations but has not been specifically regulated by European law). In the work described here we determined BPA concentrations in PVC clingfilm and its migration from this food packaging material into food and food simulants.

### **5.3. MATERIALS AND METHODS**

#### **5.3.1. Reagents**

Bisphenol A, 99+% pure (Aldrich-Chemie, Steinheim, Germany); water obtained using Milli-Q apparatus from Millipore Ireland B.V. (Carrigtwohill, Ireland); glacial acetic acid (Scharlau, Barcelona, Spain); HPLC-grade *n*-heptane (Aldrich-Chemie, Darmstadt, Germany); HPLC-grade acetonitrile (Merck, Darmstadt, Germany); N-50 He and B-50 N<sub>2</sub> (Sociedad Española de Oxígeno, Madrid, Spain). Where 90% v/v acetonitrile is referred to below, it was obtained by diluting HPLC-grade acetonitrile with Milli-Q water.

#### **5.3.2. Samples**

Seven samples of food wrapping clingfilm without any indications of composition or instructions about food contact conditions (temperature, duration, etc.) were obtained from two local supermarkets. Five (identified in what follows as clingfilms 1, 2, 3, 6 and 7; see Table 5.1) were rolls of different brands of domestic clingfilm marketed internationally or throughout Spain (and presumably produced at different manufacturing plants), and two (clingfilms 4 and 5) taken from large rolls used by the supermarkets, which gave no information about their suppliers. In subsampling the above material for analysis, care was always taken to cut

subsamples from an unrolled length of film without stretching or folding it.

**Table 5.1.** Characteristics of the clingfilms studied.

Film	Format	Composition*	Thickness ( $\mu\text{m}$ )
1	30 cm $\times$ 30 m roll	PVC + phthalate	16
2	30 cm $\times$ 60 m roll	PVC + phthalate	9
3	30 cm $\times$ 100 m roll	PVC + phthalate	10
4	Large roll	PVC + phthalate	12
5	Large roll	PVC + phthalate	13
6	30 cm $\times$ 30 m roll	PE	32
7	30 cm $\times$ 30 m roll	PE	28

\*As determined by FTIR and HATR

### 5.3.3. Apparatus and Operating Conditions

*Infrared Spectrometry* was performed on a Mattson Genesis II FTIR apparatus running under WINFIRST software and equipped with a Pike Technologies horizontal attenuated total reflectance (HATR) accessory. Conventional transmission mode IR spectra were run over the range 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  on clingfilm samples consisting of discs 1 cm in diameter, and HATR spectra were run on 1  $\times$  8 cm strips placed on a ZnSe crystal.

***Liquid Chromatography with Mass Spectrometry (HPLC-MS)***

was performed using a Spectra-Physics P200 binary pump and a Fisons VG Biotech Platform mass detector. The conditions used for identification of BPA are listed in Table 5.2.

***Gas Chromatography with Mass Spectrometry (GC-MS)***

was performed using a Fisons GC 8000 chromatograph with an MD 800 mass detector. The conditions used for identification of BPA are listed in Table 5.3.

***High Performance Liquid Chromatography with UV and***

***Fluorescence Detection (HPLC-UV-FL)*** was performed using a Hewlett-

Packard HP 1100 chromatograph equipped with a diode array detector and

a fluorescence scanning detector arranged in series. Conditions are listed in

Table 5.4.



**Table 5.2.** Conditions and instrument settings for identification of BPA by GC-MS.

Constant flow	1.2 mL min <sup>-1</sup>
Carrier gas	He
Column:	
Dimensions	30 m x 0.253 mm
Temperature limits	-60°C to 325°C
Film surface	1.00 µm
Liquid phase	DB-5MS
Injector temperature	275°C
Split mode	1:20
Injection volume	1 µL
Column temperature programme	150°C (2 min)- 5 °C min <sup>-1</sup> - 270°C (5 min)
Mass spectrometer, FISIONS Instrument MD800	
Interphase temperature	500°C
Electron energy	50 eV
Electron multiplier	200 V
Full-Scan	m/z 20-500
SIR mode	213, 228 m/z
m/z range	20-500
Electron impact	EI+ mode
Spectrum library	Wiley
Software	MassLab version 1.3, Windows 95

**Micrometry** was performed with a Palmer digital micrometer (Ref. 5900602).

**Migration cells**, consisting of 20 mL, 23 × 75 mm glass tubes that

were hermetically closed with Teflon septa, were purchased from Afora. S.A (Barcelona, Spain) (Ref. No. 237501). Clingfilm discs were mounted with an exposed disc diameter of 1.3 cm.

**Table 5.3.** Conditions and instrument settings for identification of BPA by HPLC-MS.

Ionization mode	APcI (-)																		
Mass range	20-500																		
Probe temperature (optimized)	500°C																		
Ionization source temperature	125 °C																		
Cone voltage (optimized)	50 eV																		
Electron multiplier voltage	700 V																		
Drying gas	N <sub>2</sub> at 175 L h <sup>-1</sup>																		
SIR (Selective Ion Recording)	m/z 213 base peak, 227																		
Binary pump	Thermo Separation Products Spectra SERIES P200																		
Injection volume	50 µL																		
Column	Kromasil 100 C18 5µ (15 cm x 0.4 cm)																		
Mobile phase	A: Acetonitrile B: Milli-Q water																		
Flow rate	1 mL min <sup>-1</sup>																		
Gradient	<table border="1"><thead><tr><th>Time (min)</th><th>%A</th><th>%B</th></tr></thead><tbody><tr><td>0.00</td><td>30</td><td>70</td></tr><tr><td>2.00</td><td>30</td><td>70</td></tr><tr><td>20.00</td><td>80</td><td>20</td></tr><tr><td>23.00</td><td>100</td><td>0.00</td></tr><tr><td>30.00</td><td>100</td><td>0.00</td></tr></tbody></table>	Time (min)	%A	%B	0.00	30	70	2.00	30	70	20.00	80	20	23.00	100	0.00	30.00	100	0.00
Time (min)	%A	%B																	
0.00	30	70																	
2.00	30	70																	
20.00	80	20																	
23.00	100	0.00																	
30.00	100	0.00																	
Software	MassLynx version 1.03, Windows 3.1																		

#### **5.3.4. Preliminary studies**

Each clingfilm was subjected to an accelerated migration test in which a 4 dm<sup>2</sup> sample was immersed in 100 mL of water in an hermetically closed glass vial that was then kept for 72 h in an oven at 60°C; after removal from the oven, the migration solution was filtered and analysed by scan-mode HPLC using both UV detection (scan range 200-340 nm) and fluorescence detection (excitation scan range 200-280 nm, emission wavelength 305 nm). The presence of BPA in the films was also investigated by extraction with acetonitrile for 24 h at 60°C.



**Table 5.4.** Conditions and instrument settings for determination of BPA by HPLC.

Pump	Hewlett-Packard Quaternary HP		
Injection volume	1100 pump		
	50 $\mu$ L		
Thermostat	HP 1100		
Detector	Fluorescence (FL) HP 1100		
	Scan excitation range 220 to 380 nm		
	Ultraviolet (UV) HP 1100		
	Scan range 190 to 400 nm		
Degasser	HP 1100 Vacuum degasser		
Wavelength	Fluorescence: excitation 225nm,		
	emission 305nm		
	Ultraviolet: Sig. 225 nm, Ref 360.1 nm		
Column	Kromasil 100 C18 5 $\mu$ (15 cm x 0.4 cm)		
Mobile Phase	A: Acetonitrile		
	B: Milli-Q Water		
Flow velocity	1 mL min <sup>-1</sup>		
Gradient	Time (min)	%A	%B
	0.00	30	70
	2.00	30	70
	20.00	80	20
	23.00	100	0.00
	30.00	100	0.00
Software	HP Chem Station		

### **5.3.5. Identification of BPA by GC-MS**

To establish the optimal operational mode and limitations of the identification of BPA by GC-MS, successive dilutions of a standard 500 mg/L solution of BPA in acetonitrile were run in full scan mode and by single ion recording (SIR) of the MS base peak under the conditions listed in Table 5-2. GC BPA peaks were identified by comparison of their mass spectra with that of the BPA standard and with a spectrum in the Wiley library.

### **5.3.6. Identification of BPA by HPLC-MS**

Optimal conditions and limitations of the identification of BPA by HPLC-MS were established by procedure similar to that used for GC-MS, although for HPLC-MS, additionally, MS optimization trials were run with probe temperatures ranging from 200° to 500°C and cone voltages ranging from 20 to 70 eV. Fixed parameters in these trials are listed in Table 5-3.

### **5.3.7. Determination of BPA by HPLC-FL and HPLC-UV**

**Calibration.** A stock 1 mg/mL solution of BPA in acetonitrile was made up by weighing 100 mg of BPA into a 100 mL volumetric flask to the nearest 0.1 mg and filling to the mark with acetonitrile on water. Intermediate standards (0.1 mg/mL) were prepared as required by 10-fold

dilution of the stock solution, and calibration standards by transferring 0.15, 0.5, 1.0, 2.0 or 4.0 mL of an intermediate standard to a 100 mL volumetric flask and making up to the mark with acetonitrile. Calibration lines were constructed by running these standards under the conditions listed in Table 5-4, determining the area of the peak eluting at around 9.8 min, and regressing this area on concentration; two samples of each standard were each run three times.

***Limit of detection.*** The noise of the analytic signal was estimated as the maximum height of a chromatogram of acetonitrile in the 9.3-10.3 min region. The limit of detection was estimated by running successive dilutions of the stock BPA solution until the height of the BPA peak was about three times this noise level (Momson,1990).

***Precision.*** Measurement precision was estimated by running a 0.26 mg/L solution of BPA in acetonitrile ten times and calculating the relative standard deviation.

***Recovery.*** The accuracy of the method for determining migration into acidic simulant was estimated by performing a standard migration test (see below) for migration from PVC clingfilm No.1 into 3% acetic acid spiked with 0.2 mg/L of BPA. Its accuracy for determining migration into olive oil was estimated similarly, except that the migration solution was in this case made up by dissolving 0.1 mg of BPA in 100 mL of

tetrahydrofuran, making 50 mL of this solution up to 100 mL with *n*-heptane, and making 1 mL of this intermediate solution up to 40 mL with olive oil.

### **5.3.8. Determination of BPA contents of PVC clingfilms**

1 dm<sup>2</sup> samples were cut from the PVC clingfilms, weighed, and extracted with 100 mL of acetonitrile for 24 h in a hermetically sealed glass flask at 60°C. The extract solutions were filtered and analysed by HPLC-UV-FL, and when a BPA peak was found the identity of the analyte was confirmed by both GC-MS and HPLC-MS.

### **5.3.9. Determination of migration from PVC clingfilms into official EU food simulants**

Migration of BPA from PVC clingfilms into the official EU simulants of aqueous, acid and fatty foods (water, 3% w/v acetic acid and olive oil, respectively; 82/711/EEC) was determined by subjecting clingfilm discs 13 mm in diameter (contact area 0.01327 dm<sup>2</sup>) to the standard test conditions (10 days' exposure at 40°C) in migration cells containing 1 mL of simulant. Migration into the EU simulant of alcoholic beverages, 10% ethanol, was not investigated because of the unlikelihood of clingfilm being used as a contact material for alcoholic beverages. Six

replicate tests were performed for each clingfilm. The aqueous and acidic migration solutions were analysed directly by HPLC-UV-FL, while migration into olive oil was determined by diluting a 1 mL sample of the migration solution with 1 mL of *n*-heptane, adding 2 mL of 90% v/v acetonitrile, shaking the mixture for 2 min, centrifuging for 5 min, and analysing the denser acetonitrile layer by HPLC-UV-FL. Whenever a BPA peak was found the identity of the analyte was confirmed by both GC-MS and HPLC-MS.

## **5.4. RESULTS AND DISCUSSION**

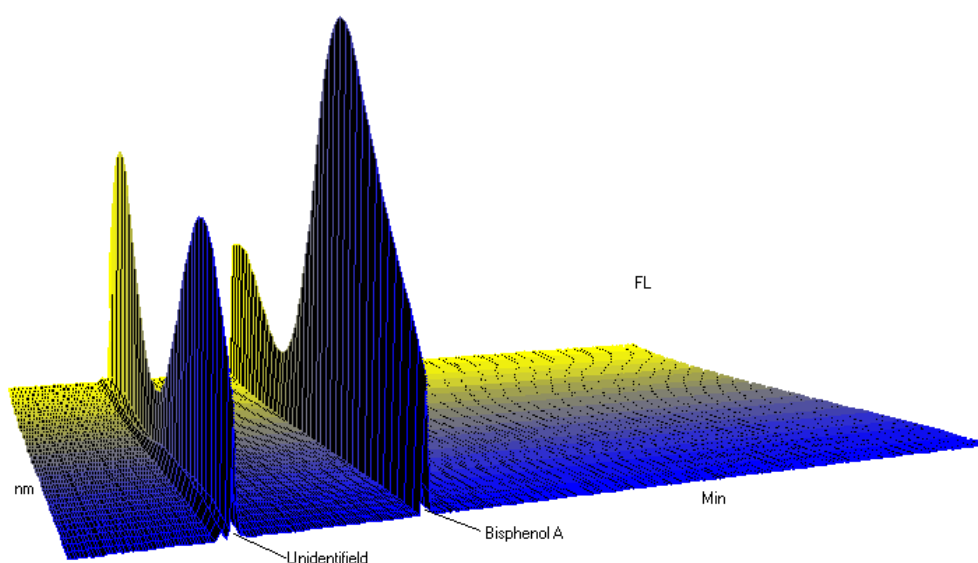
### **5.4.1. Identification of clingfilm material by FTIR**

The seven clingfilms listed in Table 5.1 were analysed by FTIR transmission spectroscopy and by HATR spectroscopy of both sides of the film. Films were judged to be monolayers if the HATR spectra of the two sides coincided (as was the case for all seven). Comparison of the IR spectra with those published in polymer spectrum libraries identified five of the clingfilms (three domestic brands and the two used in the supermarkets) as PVC containing a phthalate plasticizer, and the other two as polyethylene (PE). Measured film thicknesses are listed in Table 5.1.



#### 5.4.2. Preliminary studies

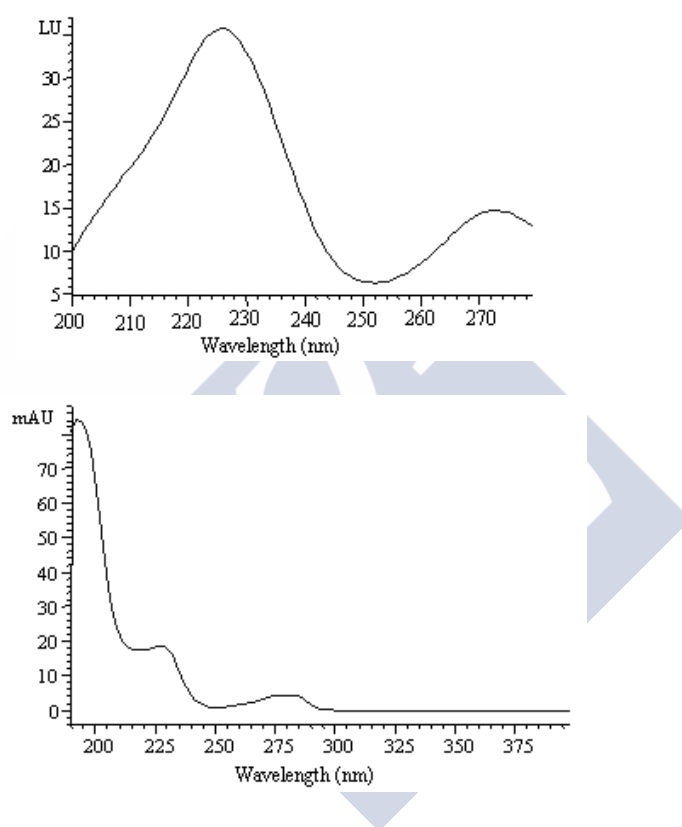
In the accelerated test of migration into water, four PVC samples showed a main peak at a retention time of  $9.3 \pm 0.3$  min. Both the UV and fluorescence spectra of this peak had maxima at 225 and 275 nm (Figs. 5.1 and 5.2). For some samples fluorescence detection also showed a minor peak at  $4.3 \pm 0.2$  min with spectral maxima at 215 and 265 nm (Figs. 5.1 and 5-3A). Fig. 5.3 shows typical chromatograms obtained at the wavelengths of the main spectral peak of each detection method ( $\lambda_{\text{ex}} = 225$  nm,  $\lambda_{\text{em}} = 305$  nm for FL;  $\lambda = 225$  nm for UV). Comparison of the spectra of Fig. 5-2 with others contained in our personal HPLC library suggested the presence in the main peak of compounds related to BPA, of which our laboratory has broad experience (Paseiro-Losada, *et al.* 1991, 1993). That this peak in fact consisted of BPA was confirmed by concentrating migration solutions to dryness, redissolving the residue in acetonitrile, and analysing this solution by GC-MS under conditions in which BPA elutes with a retention time of 16.45 min (see below, Identification of BPA by GC-MS). The chromatograms afforded by the PE films showed no significant peaks of interest, and no further experiments were performed on these PE films.



**Figure 5.1.** Spectrographic sections of a 3D spectrochromatogram afforded by HPLC-FL analysis of an aqueous extract of a PVC clingfilm. The spectrum obtained at 9.3 min identifies bisphenol A.

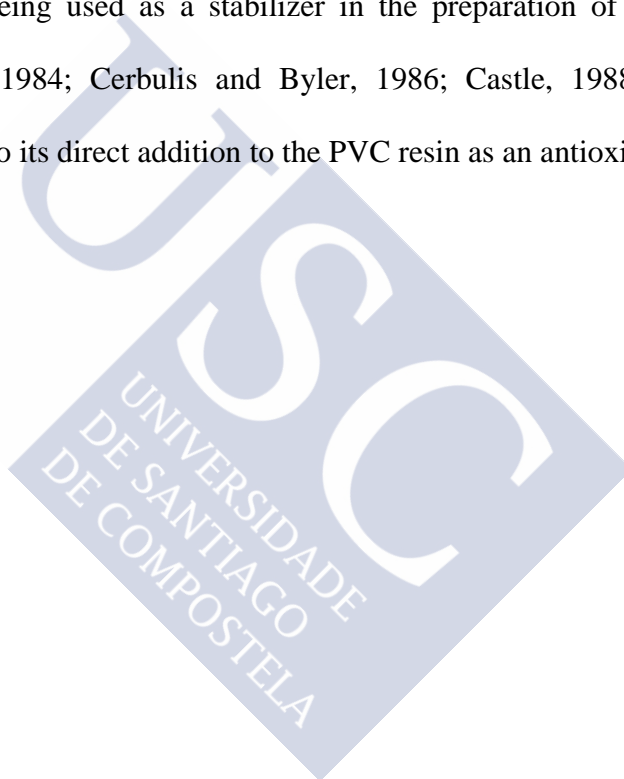
When acetonitrile was used as extractant, an HPLC peak with a retention time of 26.7 min appeared in addition to the two peaks produced by migration into water. GC-MS chromatograms showed the BPA peak at 16.45 min and a peak identified as due to the plasticizer di(2-ethyl-hexyl)phthalate (DEHP) at 14.45 min. It was concluded that the analyte composing the minor HPLC peak at 4.3 min was not resolved as a distinct peak by GC-MS, and that the new HPLC peak at 26.7 min was DEHP, which had failed to migrate into water under the conditions of the

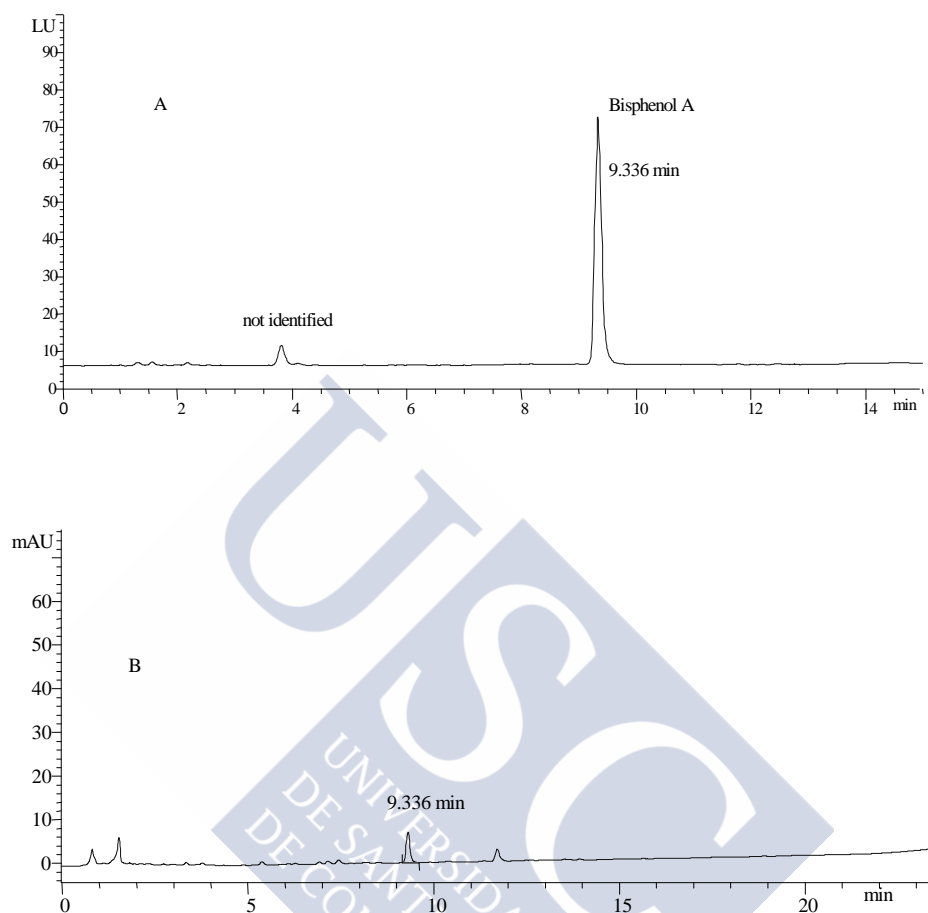
accelerated test. These conclusions were corroborated by HPLC-MS (see below, Identification of BPA by HPLC-MS), which in both positive and negative ion full scan modes likewise failed to detect the HPLC-UV-FL peak at 4.3 min.



**Figure 5.2.** Fluorescence excitation ( $\lambda_{em} = 305 \text{ nm}$ ) and UV spectra (left and right, respectively) of the peak occurring at 9.3 min in the HPLC-UV-FL chromatograms of an aqueous extract of a PVC clingfilm.

As noted in the Introduction, the use of BPA as an additive is not regulated by European law, and the same holds of DEHP. However, whereas a number of studies have approached the determination of DEHP in plastic materials and foodstuffs, this is not the case for BPA used as an additive. Its presence in the PVC films studied in this work may have been due either to its being used as a stabilizer in the preparation of DEHP (Abudillin, *et al.* 1984; Cerbulis and Byler, 1986; Castle, 1988,1989; ATSDR, 2000) or to its direct addition to the PVC resin as an antioxidant.



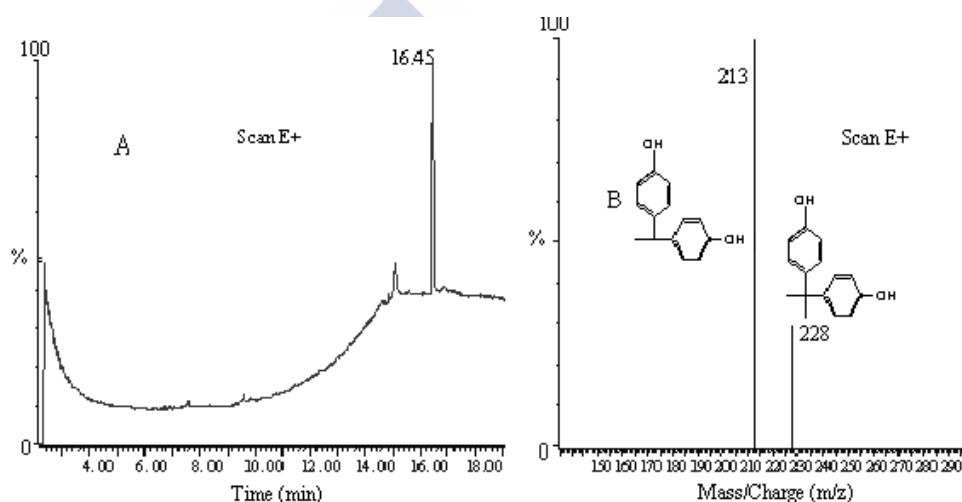


**Figure 5.3.** HPLC chromatograms of an aqueous extract of a PVC clingfilm. A, with fluorescence detection ( $\lambda_{\text{ex}} = 225 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}} = 305 \text{ nm}$ ); B, with UV detection ( $\lambda = 225 \text{ nm}$ ).

### 5.4.3. Identification of BPA by GC-MS

Under the GC conditions used (Table 5.2), BPA eluted at 16.45 min. The detection limit in full scan mode was  $500 \mu\text{g/L}$ , but a limit of  $50 \mu\text{g/L}$  was achieved by single ion recording (SIR) of the demethylated fragment at  $m/z = 213$  (the MS base peak; see Fig.5.4B). SIR mode has the

additional advantage of reducing the risk of interferences. Fig.5.4A shows the result of using these latter detection conditions to obtain a GC-MS chromatogram of the acetonitrile extract of a PVC clingfilm, and Fig.4B the mass spectrum of its 16.45 min peak, which was identified as corresponding to BPA as described in Materials and Methods. A similar spectrum was reported by Olmo, *et al.* (1997) in a study of BPA in water.



**Figure 5-4.** A: GC-MS chromatogram of an acetonitrile extract of a PVC clingfilm. B: Mass spectrum of the 16.45 min peak of A.

#### 5.4.4. Identification of BPA by HPLC-MS

Under the HPLC conditions used (Table 5.3), BPA eluted at 10.38 min. Fig.5.5A shows a chromatogram run under the optimal conditions (probe temperature 500°C, cone voltage 50 eV) in full scan mode, and Fig.5.5B the mass spectrum of the peak at 10.38 min. The

detection limit in full scan mode was 500 µg/L, but a limit of 50 µg/L was achieved using SIR mode for the deprotonated fragment at  $m/z = 227$  (the MS base peak). Fig.5.6A shows the result of using these conditions to obtain a chromatogram of the acetonitrile extract of a PVC clingfilm, and Fig.5.6B the mass spectrum of the 10.38 min peak of this chromatogram.

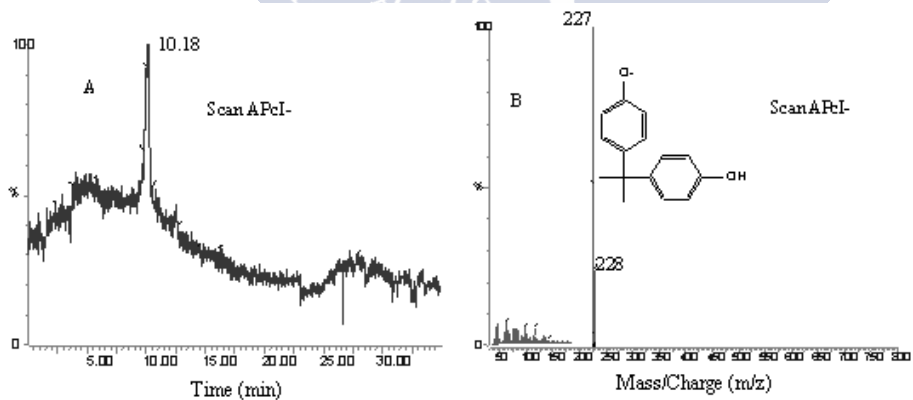
#### **5.4.5. Determination of BPA by HPLC-FL or HPLC-UV**

Table 5.5 lists the parameters of the calibration lines constructed as described in Materials and Methods when calibration standards made up in acetonitrile were used. For both UV and fluorescence detection, the correlation coefficient was better than 0.999. Calibration lines with virtually identical parameters were obtained when the final calibration standards were made up using water instead of acetonitrile. The limits of detection were 3 µg/L for fluorescence detection and 30 µg/L for UV, values that are similar to those obtained by authors who have determined BPA in aqueous matrices (González-Casado, *et al.* 1998; Olmo, *et al.* 1997; Lee and Peart, 2000). The relative standard deviation was 0.90% for fluorescence detection and 0.93% for UV. Recovery from 3% acetic acid was 109.5% with fluorescence detection and 105.1% with UV (n=6); recovery from olive oil was 100.4 % with fluorescence detection (n=6).

**Table 5.5.** Analytical performance parameters for fluorescence (FL) and UV detection.

Parameter	FL	UV
Calibration line*		
Y-Intersect (a)	-18.3	-6.2363
Slope (b)	1795	158.37
Correlation coefficient (r)	0.9997	0.9995
Linear dynamic range (mg L <sup>-1</sup> )	0.015-4.00	0.125-4.00
Detection limit (µg L <sup>-1</sup> )	3.00	30.00

\*Calibration standards were made up in acetonitrile

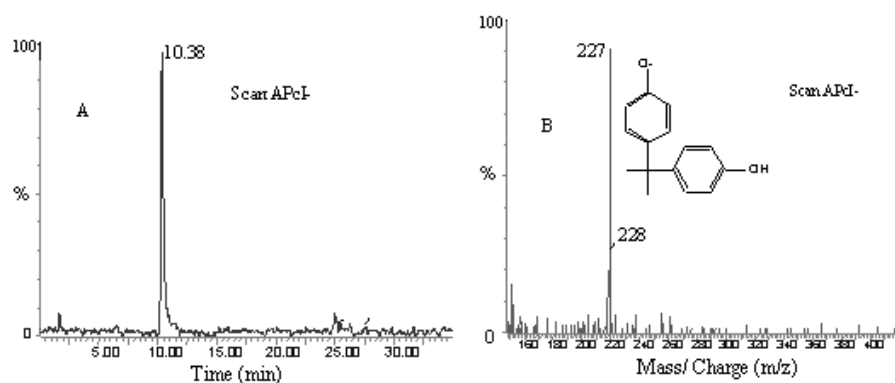


**Figure 5.5.** A: HPLC-MS chromatogram of a 0.2 mg/Kg solution of bisphenol A in acetonitrile (for conditions, see Table 2). B: Mass spectrum of the 10.18 min peak of A.



#### **5.4.6. BPA contents of PVC clingfilms**

BPA was not detected in film 2; was found at levels of 43-98 mg/(Kg clingfilm) in films 3-5; and had a level of 483 mg/(Kg clingfilm) in film 1 (Table 5.6). This last figure is the highest free BPA content reported for a food contact material, reusable polycarbonates having contents of 10-47 mg/Kg (Biles, *et al.* 1997) and polycarbonate infant-feeding bottles contents of 10-136 mg/Kg (Mountfort, *et al.* 1997). It seems likely that in the manufacture of film 1 BPA was added directly to PVC as an antioxidant, whereas in films 3-5 it was incorporated with DEHP. The EU has established no limit on the residual quantity of BPA in plastics; assuming that all BPA in film 1 would migrate, its migration would be less than the current EU SML of 0.5 mg/dm<sup>2</sup> but comes close to the likely future limit of 0.1 mg/dm<sup>2</sup>, which would probably be exceeded by thicker films.



**Figure 5.6.** A: HPLC-MS chromatogram of an acetonitrile extract of a PVC clingfilm, run in SIR mode for  $m/z = 227$ . B: Mass spectrum of the 10.38 min peak of A.

#### 5.4.7. Migration from PVC clingfilms into official EU food simulants

Given the difficulty of determining migration into complex matrixes, EU law regards substances and materials as complying with migration limits if they comply with these limits in tests of migration into the officially recognized simulants. In this work, no migration of BPA from film 2 was detected; no migration from film 4 into water or

**Table 5.6.** BPA contents of PVC clingfilms.

Film <sup>*</sup>	BPA content (mg/kg Clingfilm)	BPA content ( $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ )
1	483	61.2
2	ND <sup>**</sup>	ND <sup>**</sup>
3	43	6.4
4	96	13.1
5	98	13.1

<sup>\*</sup>For numbering see Table 1

<sup>\*\*</sup>ND = not detected

acetic acid was detected; migration from films 3 and 5, and from film 4 into olive oil, ranged from 3 - 7  $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ ; while for film 1 migration into water and acetic acid was 11-12  $\mu\text{g}/\text{dm}^2$  and migration into olive oil 31  $\mu\text{g}/\text{dm}^2$  (Table 5.7). Although some of these values are greater than values reported for migration of BPA from numerous other food contact materials (Biles, *et al.* 1997: 0.1-13 ppb; D'Antuono, *et al.* 2001: 1.2 ppb; Yoshida, *et al.* 2001: 11  $\mu\text{g}$  per can), they are all below both the current EU SML and the likely future SML.

**Table 5.7.** Migration of BPA from PVC clingfilms into food simulants ( $\mu\text{g}/\text{dm}^2$ ), as determined by HPLC-FL.

Simulant	Clingfilm*				
	1	2	3	4	5
Water	$11.5 \pm 0.98$	ND**	$3.2 \pm 0.29$	ND**	$3.5 \pm 0.34$
Acetic acid (3% w/v)	$11.9 \pm 1.22$	ND**	$4.2 \pm 0.33$	ND**	$3.1 \pm 0.07$
Olive oil	$30.7 \pm 1.75$	ND**	$6.5 \pm 0.80$	$5.3 \pm 1.70$	$6.1 \pm 0.80$

\*For numbering see Table 1

\*\*ND = not detected



## **5.5. CONCLUSIONS**

The safety of BPA is currently controversial and its use is subject to legal limits. It is important to bear in mind that total intake of BPA by consumers may be contributed to not only by those products currently subject to legislation in this respect, but also by others in which BPA is employed. In this study we developed methods for detecting the presence of BPA in clingfilm and confirming its identity, and for determining its concentration in these films and its migration from them into the official EU food simulants. Among the seven different film samples we examined, BPA was only detected in PVC-based films. The BPA contents of these latter varied from undetectable to nearly 500 µg/Kg. Although migration from some of the PVC-based clingfilms was greater than has been reported for numerous other food contact materials, it was in all cases less than both the current EU specific migration limit for BPA (0.5 mg/dm<sup>2</sup>) and the more stringent limit that is likely to be imposed in the near future, 0.1 mg/dm<sup>2</sup>.

*Acknowledgement*

This work was supported by the Spanish Interministerial Committee for Science and Technology (CICYT) and the European Commission under project 1FD97-2167-C02-01.

**5.6. REFERENCES**

1. Abudillin, M.I., Zueva, N.P. and Minsker, K.S. **1984**. Stabilization of plasticized poly(vinyl chloride) by phenolic compounds. *Plast. Massy* (1), 15-17.
2. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). **2000**. Toxicological profile for di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) - draft for public comment. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service Available at <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts9.html>. Consulted on 3 November, 2002.
3. Biles, J. E., McNeal, T. P. and Begley, T. H. **1997**. Determination of bisphenol A migrating from epoxy can coatings to infant formula liquid concentrates. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4697-4700.
4. Bisphenol A Global Industry Group of The Society of the Plastics Industry, Inc., the Bisphenol A Sector Group of the European Chemical

Industry Council and the Japan Chemical Industry Association.

<http://www.bisphenol-a.org>. Consulted on 14 November, 2002.

5. Castle, L.; Mercer, A.; Startin, J.R. **1988**. Migration from plasticized film into foods. 3. Migration of phthalate, sebacate, citrate and phosphate esters from film used for retail food packaging. *Food Additives and Contaminants*. 5: 9-20.
6. Castle, L., Mayo, A. and Gilbert, J. **1989**. Migration of plasticizers from printing inks into food. *Food Additives and Contaminants*. 6, 437-443.
7. Cerbulis, J. and Byler D.M. **1986**. Isolation and detection of dialkyl 1 phthalates from pork. *J. Agric. Food Chem.* 34: 198-200.
8. D'Antuono, A., Campo, D. V., Balbo, L. A., Sobral, S. and Rezaano, I. **2001**. Determination of bisphenol A (BPA) in food-simulating liquids using LCED with a chemically modified electrode. *J. Agric. Food Chem.* 49, 1098-1101.
9. del Olmo, M., González-Casado, A., Navas, N. A. and Vilchez, J. L. **1997**. Determination of bisphenol A (BPA) in water by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 346, 87-92.1.

**10.** European Commission. Commission Directive 82/711/EEC of 18 October **1982**. laying down the basic rules necessary for testing migration of the constituents of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. *Official Journal of the European Communities*, L297, 23 October 1982.

**11.** European Commission. Commission Directive 90/128/EEC of 23 February **1990**. relating to plastics materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. *Official Journal of the European Communities*. March 1990, L75/19.

**12.** Friends of the Earth in London <http://www.foe.co.uk/>. Consulted on 10 November, 2002.

**13.** Fukazawa, H., Hoshino, K., Shiozawa, T., Matsushita, H. and Terao, Y. **2001**. Identification and quantification of chlorinated bisphenol A in waste water from waste paper recycling plants. *Chemosphere*, 44(5), 973-979.

**14.** González-Casado, A., Navas, N., del Olmo, M. and Vílchez, J. L. **1998**. Determination of bisphenol A in water by micro liquid-liquid extraction followed by silylation and gas chromatography- mass spectrometry analysis. *J. Chromatographic Sci.*, 36, 565-569.



15. Howdeshell, K.L., Hotchkiss, A.K., Thayer, K.A., Vandenberg, J.G. and Vom Saal, F.S. **1999**. Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature*, 401, 763-764.
16. Howe, R. S. and Borodinsky, L. **1998**. Potential exposure to bisphenol A from food-contact use of polycarbonate resins. *Food Additives and Contaminants*. 15, 370-375.
17. Krishnan, A.V., Stathis, P., Permuth, S.F., Tokes, L. and Feldman, D. **1993**. Bisphenol A: An estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology*, 132, 2279-2286.
18. Laws, S., Carey, S.A., Ferrell, J.M., Bodman, G.J. and Cooper, R.L. **2000**. Estrogenic activity of octylphenol, nonylphenol, bisphenol A and methoxychlor in rats. *Toxicol. Sci.*, 54, 154-167.
19. Lee, H-B. and Peart, E. T. **2000**. Determination of bisphenol A in sewage effluent and sludge by solid-phase and supercritical fluid extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *J. of AOAC International*. 83, 290-297.
20. McNeal, T. P., Biles, J.E., Begley, T. H., Craun, J.C., Hopper, M. L. and Sack, C. A. **2000**. Determination of suspected endocrine disruptors in foods

and food packaging. Food and Drug Administration, Washington, D.C. USA. 747 (Analysis of Environmental Endocrine Disruptors), 33-52.

**21.** Momson, G.H. Accuracy and Precision Revisited. *Analytical Chemistry*. **1990**. 52, 2242-2249.

**22.** Mountfort, K.A., Kelly, J., Jickells, S.M and Castle, L. **1997**. Investigations into the potential degradation of polycarbonate baby bottles during sterilization with consequent release of bisphenol A. *Food Additives and Contaminants*. 14, 737-740.

**23.** Nagel, S.C., Vom Saal, F.S., Thayer, K.A., Dhar, M.G., Boechler, M. and Welshons, W.V. **1997**. Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. *Environmental Health Perspectives*, 143, 734-742.

**24.** Paseiro-Losada, P., López-Mahía, P., Vázquez-Odoriz, L., Simal-Lozano, J. and Simal-Gándara, J. **1991**. Sensitive and rapid reversed-phase liquid chromatography – fluorescence method for determining bisphenol A diglycidyl ether in aqueous-based food simulants. *J-AOAC International*. 74(6): 925-928.

- 25.** Paseiro-Losada, P., Simal-Lozano, J., Paz-Abuin, S., López-Mahia, P. and Simal-Gándara, J. **1993.** Kinetics of the hydrolysis of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) in water-based food simulants. Implications for legislation on the migration of BADGE-type epoxy resins into foodstuffs. *Fresenius' J Anal Chem.* 345(7), 527-532.
- 26.** Poskrobko, J., Dejnega, M. and Kiedik, M. **2000.** High performance liquid chromatography with multi-wavelength detection of the bisphenol A impurities. *J. of Chromatography A.* 883, 291-297.
- 27.** Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS), National Institute for Occupational Safety and Health. (NIOHS).
- 28.** Scientific Committee on Food (2002). Opinion on bisphenol A, European Commission, Brussels. SCF/CS/PM/3936 Final Available at [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out128\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out128_en.pdf). Consulted on 15 November, 2002.
- 29.** Sun, Y., Wada, M., Al-Dirbashi, O., Kuroda, N., Nakazawa, H. and Nakashima, K. **2000.** High performance liquid chromatography with peroxyoxalate chemiluminescence detection of bisphenol A migrated from polycarbonate baby bottles using 4-(4,5-diphenol-1H-imidazol-2-yl)benzoyl chloride as a label. *J. of Chromatography B.* 749, 49-56.

- 30.** United Kingdom Health and Safety Executive and Environment Agency. **2002.** Risk Assessment of Bisphenol A. European Chemical Bureau draft report R325\_0202\_env\_hh, Available at <http://ecb.jrc.it/existing-chemicals/>. Consulted on 2 November, 2002.
- 31.** Yoshida, T. M. Horie, Y. Hocino, and H. Nakazawa. **2001,** Determination of bisphenol A (BPA) in canned vegetables and fruit by high performance liquid chromatography. *Food Additives and Contaminants.* 18, 69-75.
- 32.** World Wildlife Fund (WWF) <http://www.worldwildlife.org/> and WWF Global network. <http://panda.org/>. Consulted on 12 November, 2002.

**EFFECTS OF COMPRESSION, STACKING, VACUUM PACKING  
AND TEMPERATURE ON THE MIGRATION OF BISPHENOL A  
FROM POLYVINYL CHLORIDE PACKAGING SHEETING INTO  
FOOD SIMULANTS\***

\*Enviado para publicación como: J. López-Cervantes / D.I. Sánchez-Machado / P. Paseiro-Losada / Simal-Lozano Febrero, 2003.



## **6.1. SUMMARY**

The effects of compression, stacking, vacuum packing and temperature on the migration of bisphenol A from Polyvinyl Chloride plastic sheeting into European Union food simulants (water, 3% acetic acid and olive oil), 1.5% agar, and mixtures of olive oil with various proportions of inert material (fine washed sea sand) were evaluated using previously developed methods for identification and quantitation of migrants. Compression, stacking and increasing temperature all increased migration.

### **KEY WORDS**

Bisphenol A

Compression

Stacking

Vacuum packing

## **6.2. INTRODUCTION**

Directive 82/711/EEC and amendments [1] says in Article 3.1. “Verification of compliance of migration into foodstuffs with the migration limits shall be carried out under the most extreme conditions of time and temperature foreseeable in actual use.”

Time and temperature are two conditions that affect the migration of components from plastic materials to food or food simulantes, but not the only ones. Other factors as compression, stacking or vacuum packing also may have influence on migration and they are factors that should be considered to carry out migration tests under the worst foreseeable conditions of contact for plastic materials.

In previous work we developed methods for the detection and quantitation of the migration of bisphenol A (BPA) from Polyvinyl Chloride (PVC) clingfilm into European Union (EU) food simulants [2]. Among a sample of commercial PVC clingfilms, BPA contents ranged from 4 to 500 ppm, and migration of BPA into EU food simulants (water, 3% acetic acid and olive oil) under standard migration test conditions (10 days at 40°C) ranged from 3 to 31  $\mu\text{g dm}^{-2}$ . In the work described here we applied these methods to the determination of migration of BPA from PVC plastic sheeting into EU food simulants and into two solid food simulants, 1.5% agar and mixtures of olive oil with inert material (sand) in various proportions.



### **6.3. EXPERIMENTAL**

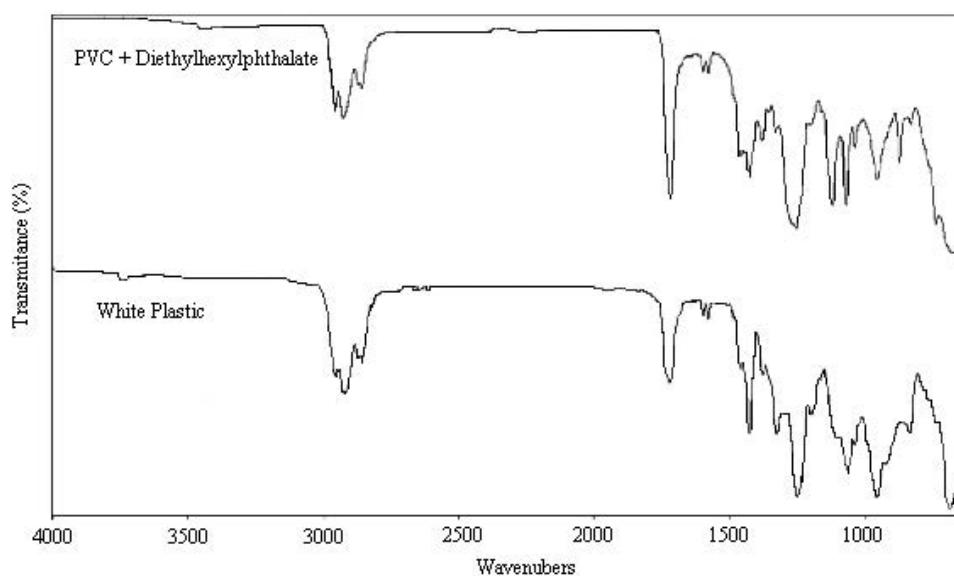
#### **6.3.1. Reagents, simulants and samples**

Reagents: bisphenol A (4,4'-isopropylidenediphenol, BPA), 99+% pure (Aldrich-Chemie, Steinheim, Germany); water obtained using apparatus from Millipore Ireland B.V. (Carrigtwohill, Ireland); glacial acetic acid (Scharlau, Barcelona, Spain); HPLC-grade *n*-heptane (Aldrich-Chemie, Steinheim, Germany); HPLC-grade acetonitrile (Merck, Darmstadt, Germany); He (N-50) and N<sub>2</sub> (B-50) (Sociedad Española de Oxígeno, Madrid, Spain); technical agar (Biolif Italiana, S.R.L, Milan, Italy); fine washed sea sand (Scharlau, Barcelona, Spain); and olive oil complying with EU specifications.

The simulants used were the official EU food simulants (water, 3% w v<sup>-1</sup> acetic acid and olive oil) [1], and two simulants of solid or semi-solid food: 1.5% w v<sup>-1</sup> agar gel in water, and mixtures of olive oil and sand in oil:sand weight ratios that ranged from 5:95 to 40:60.

The composition of samples of four brands of PVC plastic sheeting was confirmed by Fourier transform infrared (FTIR) and FTIR/HATR spectrometry as described elsewhere [2], and migration of BPA under standard test conditions (10 days at 40°C) was evaluated by High Performance Liquid Chromatography with fluorescence detection (HPLC-

FL), also as were described in other work [3-11]. The HATR spectrum of the sample from which BPA migration was highest is shown in Figure 6.1. This material, which contained the plastifier diethylhexylphthalate, is a white PVC plastic 130  $\mu\text{m}$  thick (as measured by a Palmer digital micrometer (Reference 5900602)).



**Figure 6.1.** HATR IR spectrum of PVC sheeting for industrial use, with that of authentic PVC plus diethylhexylphthalate for comparison.

### **6.3.2. Migration tests**

All migration tests reported in this paper were performed using 15 × 15 cm bags made of the PVC sheeting with the FTIR spectrum shown in Figure 1.

In tests of the effects of compression on migration, 15 × 15 cm bags containing 212 g of simulant were stored under a pressure of 1.33 kg dm<sup>-2</sup>. In tests of the effects of stacking, nine such bags were stored one on top of another. Tests of the effects of vacuum packing were only carried out with agar as simulant. Details of storage temperature and duration are given in the results section.

BPA was extracted into acetonitrile from olive oil unmixed with sand by mixing 5 mL of the olive oil with 5 mL of *n*-heptane and 10 mL of acetonitrile (90% v v<sup>-1</sup> in water), stirring for 2 min, centrifuging (1500 rpm) for 3 min, and drawing off the lower (acetonitrile) layer. BPA was extracted from oil-and-sand mixtures by mixing the whole contents of the test bag (100 g) with *n*-heptane and acetonitrile in the same oil:heptane:acetonitrile ratio as above and proceeding as above. Agar samples were homogenized and gently compressed until an aqueous phase appeared above the gel, and BPA was identified and determined in this solution following the same procedure as when water was used as simulant.

BPA was identified positively by comparison of the HPLC-FL and HPLC-UV full scan mode spectra of migration solution samples with those of 99+% pure BPA; by HPLC-MS using the conditions detailed in Table 6.1 (for water and 3% acetic acid as simulants); and by comparison of the GC-MS spectrum of an acetonitrile solution of the dried migrated material with that contained in the Wiley library (see Table 6.2 for GC-MS conditions). BPA was quantified by HPLC-FL using an appropriately constructed calibration line.

### **6.3.3. Apparatus**

*Infrared spectrometry* was performed on a Mattson Genesis II FTIR apparatus running under WINFIRST software and equipped with a Pike Technologies horizontal attenuated total reflectance (HATR) accessory.

*HPLC with mass spectrometry (HPLC-MS)* was performed using a Spectra-Physics P200 binary pump and a Fisons VG Biotech Platform mass detector.

*Gas Chromatography with Mass Spectrometry (GC-MS)* was performed using a Fisons GC 8000 chromatograph with an MD 800 mass detector.

*HPLC with UV and fluorescence detection (HPLC-UV-FL)* was performed using a Hewlett-Packard HP 1100 chromatograph equipped with

a diode array detector and a fluorescence scanning detector arranged in series. Conditions are listed in Table 6.3.

#### 6.3.4. Statistical methods

Statistical analyses were performed using SPSS 11.0.

**Table 6.1.** Operating conditions for identification of bisphenol A by HPLC-MS.

Ionization mode	APCI (-)																		
Probe temperature	500°C																		
Ionization source temperature	125 °C																		
Cone voltage	50 V																		
Electron multiplier voltage	700 V																		
Drying gas	N <sub>2</sub> at 175 L h <sup>-1</sup>																		
SIR (Single ion recording)	m/z 213 base peak, 227																		
Binary pump	Thermo Separation Products Spectra SERIES P200																		
Injection valve	Rheodyne 50 µL																		
Injection volume	50 µL																		
Column	Kromasil 100 C18 5µ (15 cm x 0.4 cm)																		
Mobile phase	A: Acetonitrile B: Milli-Q water																		
Flow rate	1mL min <sup>-1</sup>																		
Gradient	<table><thead><tr><th>Time (min)</th><th>%A</th><th>%B</th></tr></thead><tbody><tr><td>0.00</td><td>30</td><td>70</td></tr><tr><td>2.00</td><td>30</td><td>70</td></tr><tr><td>20.00</td><td>80</td><td>20</td></tr><tr><td>23.00</td><td>100</td><td>0.00</td></tr><tr><td>30.00</td><td>100</td><td>0.00</td></tr></tbody></table>	Time (min)	%A	%B	0.00	30	70	2.00	30	70	20.00	80	20	23.00	100	0.00	30.00	100	0.00
Time (min)	%A	%B																	
0.00	30	70																	
2.00	30	70																	
20.00	80	20																	
23.00	100	0.00																	
30.00	100	0.00																	
Software	Mass Lynx version 2.0																		

**Table 6.2.** Operating conditions for identification of bisphenol A by GC-MS.

Total flow	1.2 mL min <sup>-1</sup>
Carrier gas	He
Column:	
Dimensions	30 m x 0.253 mm
Temperature limits	-60°C to 325°C
Film surface	1.00 µm
Liquid phase	DB-5MS
Injector temperature	275°C
Injection volume	1 µL
Column temperature programme	150°C (2 min), 5 °C min <sup>-1</sup> , 270°C (5 min)
Mass spectrometer	FISONS Instruments MD800
Interface temperature	250°C
Electron energy	50 eV
Electron multiplier	200 V
Full scan	20-500 m z <sup>-1</sup>
SIR mode	213, 228 m z <sup>-1</sup>
m/z range	20-500
Electron impact mode	Positive ion
Spectrum library	Wiley
Software	MassLab version 1.3.

## **6.4. RESULTS AND DISCUSSION**

### **6.4.1. Calibration and quality parameters**

**Calibration.** A stock  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  solution of BPA in acetonitrile was made up by weighing 100 mg of BPA into a 100 mL volumetric flask to the nearest 0.1 mg and filling to the mark with acetonitrile. Intermediate standards ( $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) were prepared as required by 10-fold dilution of the stock solution, and calibration standards by transferring 0.15, 0.5, 1.0, 2.0 or 4.0 mL of an intermediate standard to a 100 mL volumetric flask and making up to the mark with acetonitrile. Calibration lines were constructed by running these standards under the conditions listed in Table 6.3, determining the area of the peak eluting at around 9.8 min, and regressing this area on concentration; two samples of each standard were each run three times. The parameters of the resulting calibration lines are listed in Table 6.4; for fluorescence detection, the correlation coefficient was better than 0.999. Calibration lines with virtually almost identical parameters were obtained when the final calibration standards were made up using water instead of acetonitrile.

**Table 6.3.** Operating conditions for identification/quantification of bisphenol A by HPLC- FL-UV.

Pump	Hewlett-Packard Quaternary	HP 1100
Injection volume	pump	
Thermostat	50 $\mu$ L	
	HP 1100	
Detectors	Fluorescence (FL) HP 1100	
	Scan Excitation range 220 to 380 nm	
	Ultraviolet (UV) HP 1100	
	Scan range 190 to 400 nm	
Degasser	HP 1100 Vacuum degasser	
Wavelength	Fluorescence: excitation 225nm, emission 305nm	
	Ultraviolet: Sig. 225 nm, Ref 360.1 nm	
Column	Kromasil 100 C18 5 $\mu$ (15 cm x 0.4 cm)	
Mobile Phase	A: Acetonitrile B: Milli-Q Water	
Flow velocity	1 mL min <sup>-1</sup>	
Gradient	Time (min)	% A
	%B	
	0.00	30 70
	2.00	30 70
	20.00	80 20
	23.00	100 0.00
	30.00	100 0.00
Software	HP 1100 Chem Station	



**Limit of detection.** The noise of the analytic signal was estimated as the maximum height of a chromatogram of acetonitrile in the 9.3-10.3 min region. The limit of detection was estimated by running successive dilutions of the stock BPA solution until the height of the BPA peak was about three times this noise level [12,13]. The limits of detection so obtained ( $3 \mu\text{g L}^{-1}$  for fluorescence detection) are similar to those obtained by authors who have determined BPA in aqueous matrices [5,7].

**Precision.** Measurement precision was estimated by running a  $0.26 \text{ mg L}^{-1}$  solution of BPA in acetonitrile ten times. The relative standard deviation (RSD %) was 0.90% for fluorescence detection and 0.93% for UV.

**Recovery.** The accuracy of the method was estimated by performing a standard migration test (see below) for migration from PVC clingfilm No.1 into 3% acetic acid spiked with  $0.2 \text{ mg L}^{-1}$  of BPA. Recovery was 109.5% (SD 2.1%) with fluorescence detection and 105.1% (SD 2.5 %) with UV.

**Table 6.4.** Analytical performance parameters for fluorescence (FL) and UV detection.

Parameter	FL	UV
Calibration line		
Y-Intersect (a)	-18.3	-6.2363
Slope (b)	1795	158.37
Correlation coefficient (r)	0.9997	0.9995
Linear dynamic range (mg L <sup>-1</sup> )	0.015-4.00	0.125-4.00
Detection limit (µg L <sup>-1</sup> )	3.00	30.00

#### **6.4.2. Extraction**

To 100 mL of acetonitrile were added small pieces of PVC sheeting sample until further pieces were no longer covered by the solvent, and this mixture was heated in an hermetically closed container in an oven for 24 h at 40, 50 and 60°C, after which the resulting migration solutions were filtered and analysed by HPLC-FL. Extraction of BPA increased from 134 µg dm<sup>-2</sup> at 40°C to 317 µg dm<sup>-2</sup> at 60°C (Table 6.5). The average retention time of the BPA peak was 9.3 min (SD 0.2 min); Figure 6.2 shows a typical chromatogram.

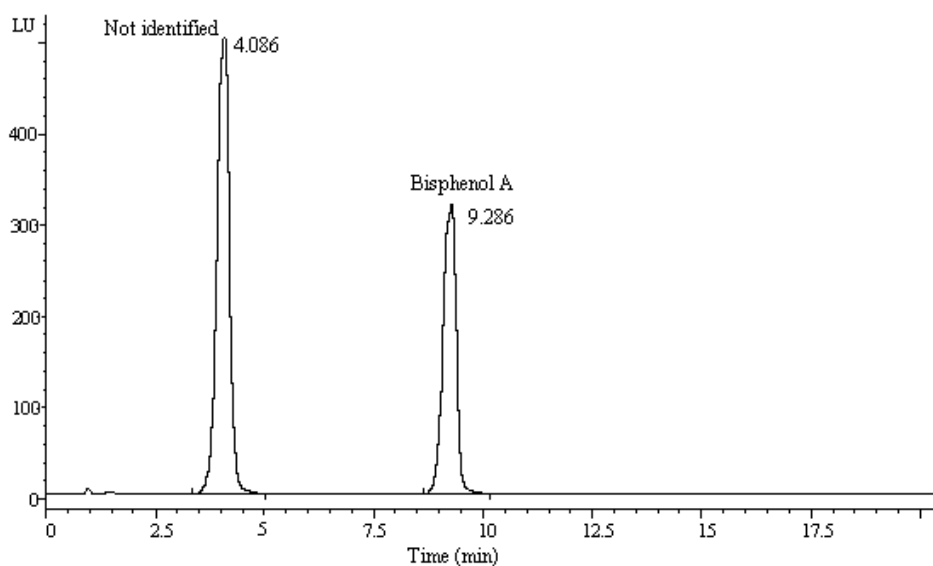
**Table 6.5.** Migration of bisphenol A from PVC sheeting into acetonitrile over 24 h ( $\mu\text{g dm}^{-2}$ )

Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\mu\text{g}/\text{dm}^2$
40	$134 \pm 5$
50	$190 \pm 7$
60	$317 \pm 11$

### 6.4.3. Migration tests

#### *Migration into official simulants*

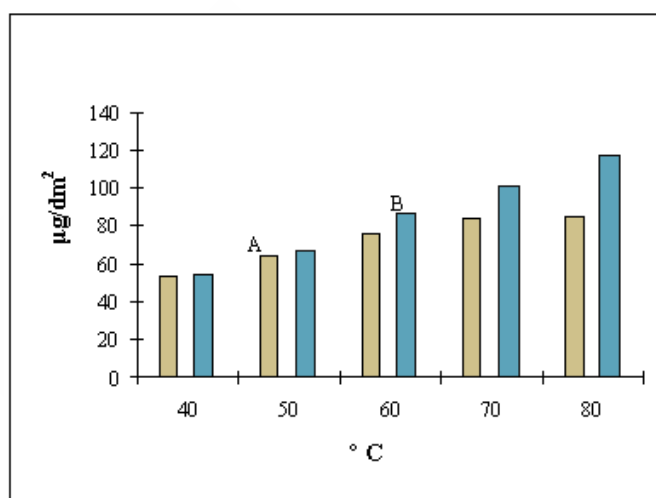
Table 6-6 lists migration of BPA from PVC plastic bags into water, 3% ( $\text{w v}^{-1}$ ) acetic acid and olive oil, with and without application of  $1.33 \text{ kg dm}^{-2}$  of pressure, under standard migration test conditions (10 days at  $40^{\circ}\text{C}$ ). The susceptibility of the simulants to migration increased in the order water < acetic acid < olive oil, and in all cases compression increased migration by between  $15$  and  $30 \mu\text{g dm}^{-2}$ . Similarly, in tests of migration into water and acetic acid carried out over 24 h at temperatures ranging from



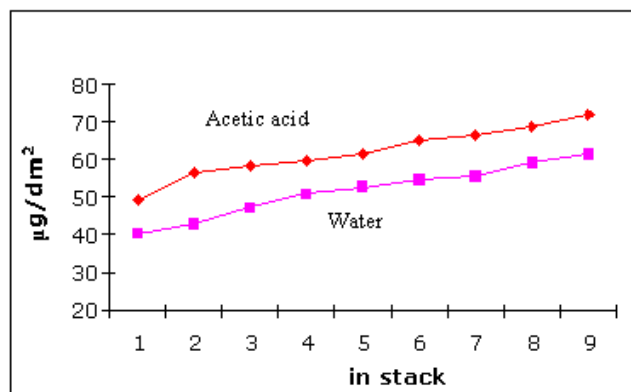
**Figure 6.2.** HPLC-FL chromatogram of an acetonitrile extract of the PVC sheeting of Figure 6.1.

40 to 80°C, migration into acetic acid always exceeded migration into water, and in both cases compression increased migration at temperatures of 60°C or higher (Figure 6.3, for simulant acetic acid). In tests of the effects of stacking on migration into water and acetic acid over 10 days at 40°C, migration increased with depth in the stack and was always about 10 µg dm<sup>-2</sup> greater for acetic acid than for water (Figure 6.4). Migration into olive oil in tests carried out over 4 or 24 h, with or without compression, at temperatures of 40 to 120°C, increased with temperature, with the duration of the test, and upon application of pressure (Figure 6.5, for 24 h); under the most severe conditions (24 h under pressure at 120°C)

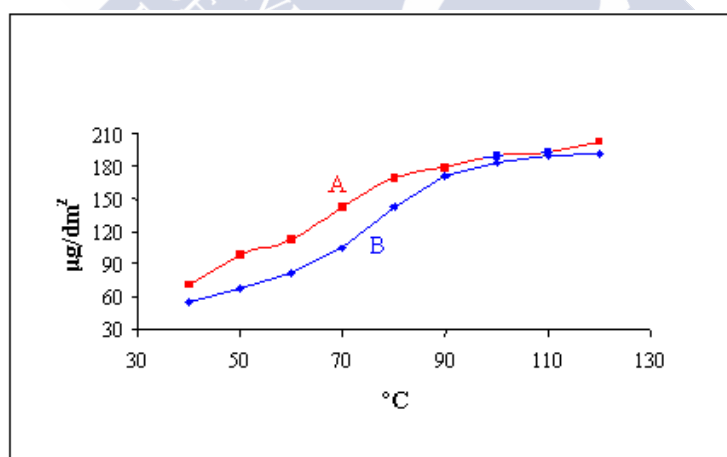
migration amounted to 63% of the total quantity extracted from the PVC with acetonitrile over 24 h at 60°C.



**Figure 6.3.** Influence of temperature on 24-h migration of bisphenol A from PVC sheeting into 3% acetic acid with (B) or without (A) application of a pressure of 1.33 kg dm<sup>-2</sup>



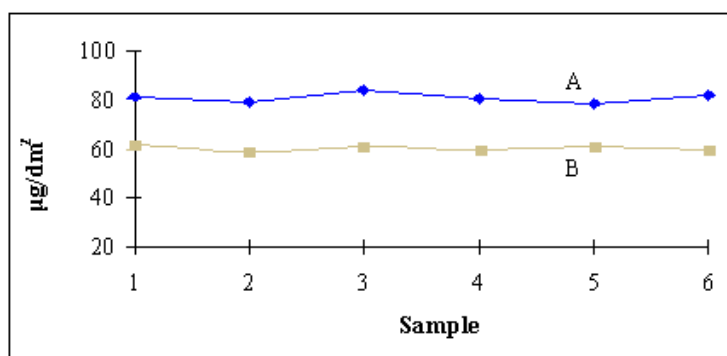
**Figure 6.4.** Influence of stack position, from 1 (top) to 9 (bottom) on migration of bisphenol A from PVC sheeting into 3% acetic acid (diamonds) or water (squares) over 10 days at 40°C (means ± SDs of 6 replicates).



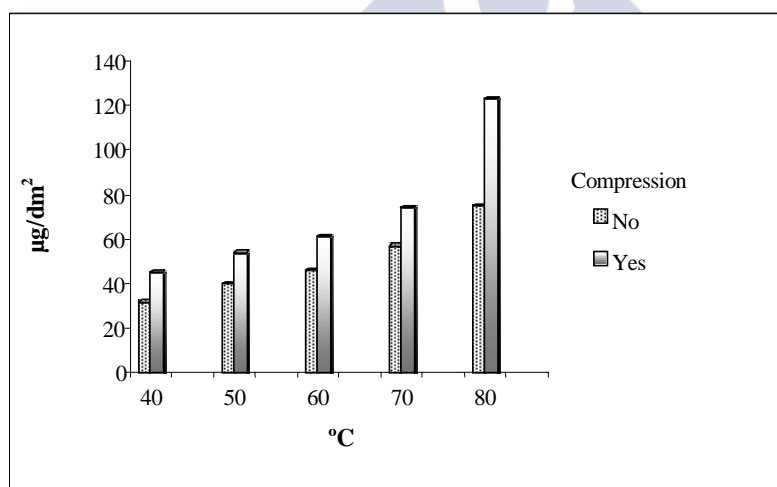
**Figure 6.5.** Influence of temperature on 24-h migration of bisphenol A from PVC sheeting into olive oil, with (A) or without (B) application of a pressure of 1.33 kg dm<sup>-2</sup>.

### ***Migration into agar***

In tests carried out over 10 days at 40°C, vacuum packing increased migration into 1.5% agar from about 60 to about 80  $\mu\text{g dm}^{-2}$  (Figure 6.6). In tests carried out over 24 h, with or without compression, at temperatures ranging from 40 to 80°C, migration was increased both by compression and by increasing temperature (Figure 6.7). The effects of both vacuum packing and compression are attributable to their facilitating the separation of water from the agar gel, so that BPA effectively migrates from the plastic into water rather than into the gel itself (at 80°C the aqueous phase of compressed samples was  $15 \pm 2$  g, i.e. 15 % of the total water content); in the case of vacuum packing, a similar migration-enhancing effect has been observed in a study of migration of the components of oxygen-scavenging systems [14].



**Figure 6.6.** Migration of bisphenol A over 10 days at 40°C into 1.5% agar contained in PVC plastic bags into which it had been packed with (A) and without (B) vacuum.



**Figure 6.7.** Influence of temperature on 24 h migration of bisphenol A from PVC sheeting into 1.5% agar, with or without application of a pressure of 1.33 kg dm<sup>-2</sup>.

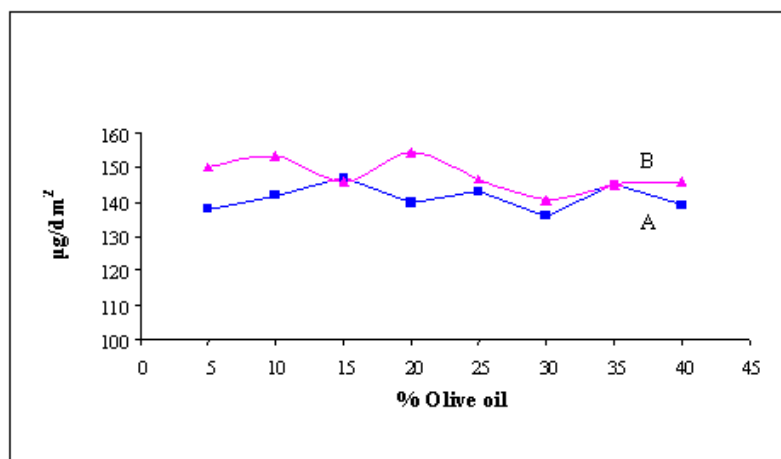


***Migration into mixtures of olive oil and sand***

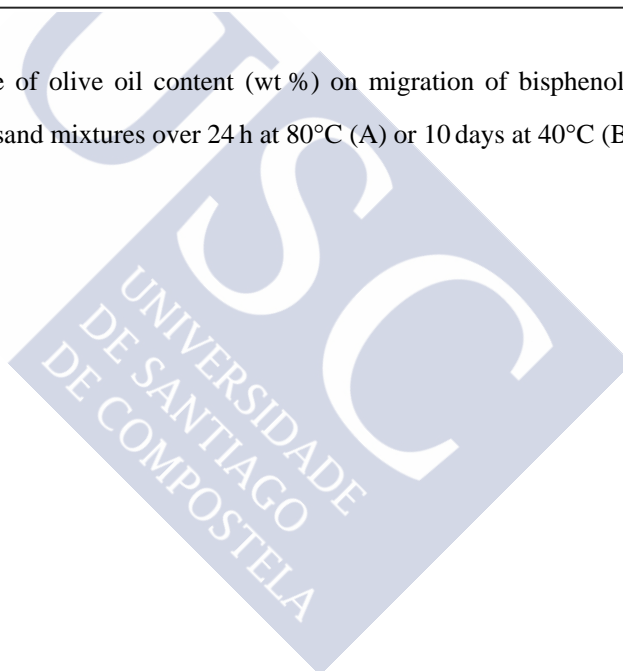
Oil-and-sand mixtures were prepared as simulants of foodstuffs with differing fat contents(5 to 40 % of oil). Migration tests were carried out over 10 days at 40°C and over 24 h at 80°C. Migration was on average slightly albeit non-significantly higher under the former conditions ( $148 \pm 12 \mu\text{g dm}^{-2}$  as against  $139 \pm 8 \mu\text{g dm}^{-2}$ ) Table 6.6, and was not significantly affected by the oil/sand ratio (Figure 6.8).

**Table 6.6.** Migration of bisphenol A from PVC sheeting into official food simulants over 10 days at 40°C ( $\mu\text{g dm}^{-2}$ ; means  $\pm$  SDs of 6 replicates).

Simulant	Compression	
	No	Yes
Water	$62 \pm 4$	$81 \pm 6$
3% (w/v) Acetic acid	$84 \pm 6$	$114 \pm 9$
Olive oil	$148 \pm 11$	$164 \pm 12$



**Figure 6.8.** Influence of olive oil content (wt %) on migration of bisphenol A from PVC sheeting into oil/sand mixtures over 24 h at 80°C (A) or 10 days at 40°C (B).



## **6.5. CONCLUSIONS**

The migration of BPA from PVC plastic sheeting into food simulants increases significantly with temperature and with application of pressure or vacuum, but migration into olive oil is not significantly reduced by dilution of the oil with sand, even at a sand:oil ratio of 5:95 by weight.



### *Acknowledgements*

This work was supported by the Spanish Interministerial Committee for Science and Technology (CICYT) and the European Commission under project 1FD97-2167-C02-01.

### **6.6. REFERENCES**

- [1] European Commission, **1982**. Directive 82/711/EEC of 18 October 1982. *Official Journal of the European Communities* L222, 12 August 1997, 10.
- [2]. López-Cervantes, J.; Paseiro-Losada, P. *Food Additives and Contaminants*. In press.
- [3]. Lau, O. W.; Wong, S. K. **1997**. *Anal. Chim. Acta.* 347, 249-256.
- [4] Paseiro-Losada, P.; Lopez-Mahia, P.; Vazquez-Odoriz, L.; Simal-Lozano, J.; Simal-Gandara, J. *J-Assoc-Off-Anal-Chem.* **1991**, 74(6): 925-928.
- [5] Paseiro-Losada, P.; Simal-Lozano, J.; Paz-Abuin, S.; Lopez-Mahia, P.; Simal-Gandara, J. *Fresenius J. Anal. Chem.* Mar. **1993**; 345(7): 527-532.
- [6] Olmo, M. del; González-Casado, A.; Navas, N. A.; Vilchez, J. L. *Analytica Chimica Acta.* **1997**, 346, 87-92.
- [7] Mountfort, K. A.; Kelly, J.; Jickells, S. M.; Castle, L. *Food Additives and Contaminants.* **1997**, vol. 14(6-7), 734-740.

- [8] Gonzalez-Casado, A.; Navas, N.; Olmo, M. del; Vilchez, J. L. *J. Chromatogr. Sci.*, **1998**, 39, 565-569.
- [9] Howe, S. R.; Borodinsky, L. *Food Additives and Contaminants*. **1998**, vol. 15, no. 3, 370-375.
- [10] Lee, H-B.; Peart, T. E. *Journal of AOAC International*. **2000**. vol. 83, No. 2, 290-297.
- [11] Zafra, A.; Olmo, M. del; Pulgar, R.; Navalón, A.; Vilchez, J. L. *Chromatographia*, **2002**, 56, August (No. 3/4).
- [12] Momson, G.H. *Analytical Chemistry*. **1980**, 52, 2242-2249.
- [13] Knoll, E. J. **1985**. *J. Chromatogr. Sci.* 23, 422-425.
- [14] López-Cervantes, J.; Sánchez-Machado, D. I.; Pastorelli, S.; Rijk, R.; Paseiro-Losada, P. 2003. *Food Additives and Contaminants*. 20. No. 3, 291-299.



**MIGRATION OF ETHYLENE TEREPHTHALATE OLIGOMERS  
FROM PET ROASTING BAGS INTO OLIVE OIL\***

\* Versión aceptada para publicación como: J. López-Cervantes / D.I. Sánchez-Machado / J. Simal-Lozano / P. Paseiro-Losada  
*Chromatographia*, In press. March, 2003.





## 7.1. SUMMARY

We describe an high performance liquid chromatography with detection Ultraviolet (HPLC-UV) method for the quantification of ethylene terephthalate oligomers in olive oil, from which they were extracted with acetonitrile. Oligomers, from monomers ( $M_1$ ) to pentamers ( $M_5$ ), were jointly and/or individually identified by liquid chromatography with mass spectrometry, Electron impact mass spectrometry (EIMS) low-resolution and high-resolution, and were quantified by HPLC-UV using a acetonitrile solution of the major oligomer (the trimer  $M_3$ ) as standard. For  $M_3$ , recovery was 98.9%, the detection limit  $60 \mu\text{gL}^{-2}$ , and the method precision 2.03% (RSD). Migration of oligomers  $M_1$ - $M_5$  into 50 mL of olive oil sealed in each of two brands of  $10 \times 10$  cm poly(ethylene terephthalate) roasting bag was evaluated under two sets of conditions that approached but remained below the limit at which the bag material became physically deformed: heating for 7 min at 850 W in a microwave oven, or for 60 min at  $200^\circ\text{C}$  in a conventional oven. Total migration was about  $2.7 \text{ mg dm}^{-2}$  in the former case, and  $3.5$ - $4.1 \text{ mg dm}^{-2}$  in the latter.

### key words

Column liquid chromatography

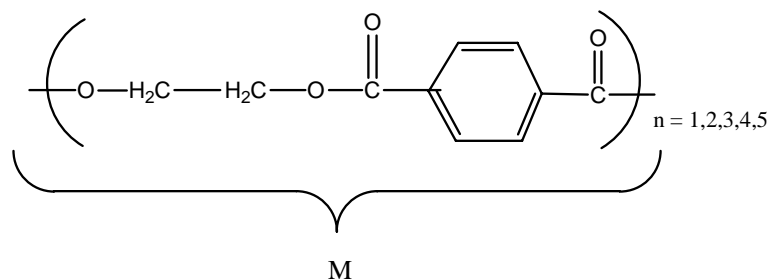
UV detection

Poly(ethylene terephthalate)

Olive oil

## **7.2. INTRODUCTION**

Poly(ethylene terephthalate) (PET) is a thermoplastic polyester resin that is manufactured industrially by copolymerization of ethylene glycol and dimethyl terephthalate. Among the numerous products it is used to manufacture several kinds of container for foods and beverages. In particular, a number of PET food containers, including frozen food trays and roasting bags, are intended to be used as containers for food being heated in microwave or conventional ovens. PET is not deformed by heat at temperatures below 220°C, but heating to temperatures above its glass transformation temperature, 74°C, increases the ease with which residual monomers and oligomeric polymerization intermediates (Figure 7.1) can migrate from the PET into the contained foodstuff [1-3]. Although no ethylene terephthalate oligomer is subject to a specific migration limit under European Union (EU) regulations, total migration from PET food containers is subject to the general limits on overall migration, 60 mg kg<sup>-1</sup> or 10 mg dm<sup>-2</sup> [4].



**Figure 7.1** General structure of ethylene terephthalate oligomers  $M_n$ .

Published methods for overall determination of ethylene terephthalate (PET) oligomers include reverse-phase HPLC with UV detection [3, 5-8] and the combination of adsorption column chromatography with gel permeation chromatography [9]. For identification of individual oligomers, liquid chromatography with mass detection (HPLC-MS) has been employed [10]. Here we describe the use of HPLC-UV to quantify their migration into the EU fatty food simulant olive oil [11] from PET roasting bags following identification of the roasting bag material and of individual oligomers by Fourier transform infrared (FTIR), Liquid Chromatography with Mass Spectrometry (HPLC-MS), EIMS

### **7.3. EXPERIMENTAL**

#### **7.3.1. Samples**

Two brands of 10 × 10 cm plastic roasting bag for conventional or microwave ovens were purchased in a local supermarket. Neither bore any indication of composition or instructions about tolerable food contact temperature or duration. In both cases the plastic was 15 μm thick, as measured with a Palmer digital micrometer (Reference 5900602). In cutting and handling samples of the roasting bag material for analysis, care was always taken to avoid stretching.

#### **7.3.2. Reagents**

Water was purified using apparatus from Millipore Ireland B.V. (Carrigtwohill, Ireland). HPLC-grade *n*-heptane was purchased from Aldrich-Chemie (Steinheim, Germany), HPLC-grade acetonitrile from Merck (Darmstadt, Germany), and helium (He N-50) and nitrogen (N<sub>2</sub>B-50) from Sociedad Española de Oxígeno (Madrid, Spain). Olive oil complying with EU specifications was purchased in a local supermarket.

#### **7.3.3. Apparatus and Operating Conditions**

*Infrared Spectrometry (FTIR)* was performed on a Mattson Genesis II FTIR apparatus running under WINFIRST software and equipped with a Pike Technologies horizontal attenuated total reflectance (HATR) accessory. For identification of the roasting bag material,

conventional transmission mode IR spectra in the 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  region were recorded from samples consisting of discs 2 cm in diameter, and HATR spectra from 1 × 8 cm strips placed on the ZnSe crystal of the HATR apparatus. For identification of dried acetonitrile extracts of the bag material, transmission mode spectra were recorded over the 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  region from extract incorporated in KBr discs. Spectra were interpreted by consulting polymer spectra libraries.

***Liquid Chromatography with Mass Spectrometry (HPLC-MS)***

was performed using a Spectra-Physics P200 binary pump and a Fisons VG Biotech Platform mass detector. The conditions used for identification of PET oligomers are listed in Table 7.1.

***Electron impact mass spectrometry (EIMS)***. Low-resolution EIMS (LR-EIMS) was performed with an Agilent Technologies HP5988A quadrupolar mass spectrometer, and high-resolution EIMS (HR-EIMS) with a Micromass Autospec mass spectrometer.

***High Performance Liquid Chromatography with UV and Fluorescence Detection (HPLC-UV-FL)*** was performed using an Agilent Technologies HP 1100 chromatograph equipped with a diode array detector and a fluorescence scanning detector arranged in series. Optimized conditions for quantification of PET and its oligomers are listed in Table 7.2.

**Migration cells.** In migration tests, olive oil was sealed into the roasting bags using a VM 101HG sealing apparatus from Audion Elektro B.V. (Weesp, The Netherlands).

**Table 7.1.** Optimized HPLC-MS conditions for identification of PET oligomers.

Ionization mode	APCI (-)		
Mass Range	20-500		
Ionization source temperature	125 °C		
Cone voltage	70 V		
Electron multiplier voltage	700 V		
Drying gas	N <sub>2</sub> at 175 L h <sup>-1</sup>		
SIR (Selector Ion Recording)	m z <sup>-1</sup> 192, 384, 576, 768, 960		
Binary pump	Thermo Separation Product Spectra P200		
Injection volume	50 µL		
Column	Kromasil 100 C18 5µ (15 cm x 0.4 cm)		
Mobile phase	A: Acetonitrile B: Milli-Q water		
Flow rate	1 mL min <sup>-1</sup>		
Gradient	Time (min)	% A	% B
	0.00	30	70
	2.00	30	70
	20.00	80	20
	23.00	100	0.00
	30.00	100	0.00
Software	MassLynx version 1.03, Windows 3.1		

**Table 7.2.** Optimized HPLC-UV conditions for identification and quantification of PET oligomers.

Pump	HP 1100 Quaternary		
Injection volume	50 $\mu$ L		
Thermostat	HP 1100		
Detector	Ultraviolet (UV) HP 1100		
	Scan range 190 a 400 nm		
	Fluorescence (FL) HP 1100		
	Scan excitation range 220 to 380 nm		
Degasser	HP 1100 Vacuum degasser		
Wavelength	Ultraviolet: Sig. 225 nm, Ref 360.1 nm		
	Fluorescence: excitation 225nm, emission 305nm		
Column	Kromasil 100 C18 5 $\mu$ (15 cm x 0.4 cm)		
Mobile Phase	A: Acetonitrile		
	B: Milli-Q Water		
Flow velocity	1 mL min <sup>-1</sup>		
Gradient	Time (min)	% A	% B
	0.00	30	70
	2.00	30	70
	20.00	80	20
	23.00	100	0.00
	30.00	100	0.00
Software	HP Chem Station		

## **7.4. RESULTS AND DISCUSSION**

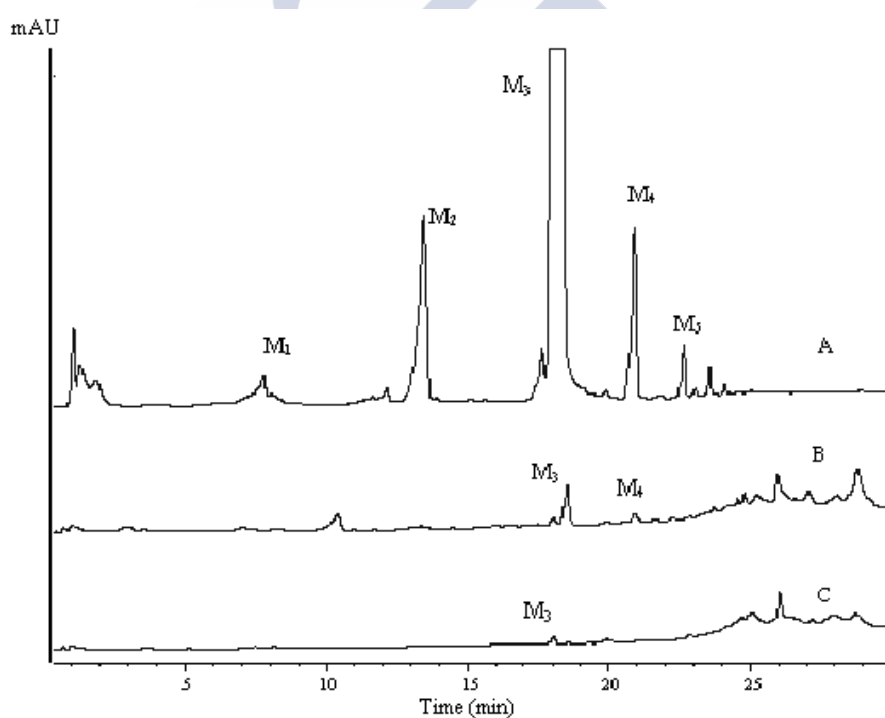
### **7.4.1. Preliminary studies**

Comparison of the transmission mode and HATR-FTIR spectra of roasting bag samples with those available in polymer spectra libraries showed both brands to consist of PET.

*Preliminary migration trials.* In preliminary migration tests, three bags of one brand (6 dm<sup>2</sup> of bag material) were cut in small pieces and heated in for 4 h at 100°C in 50 mL of olive oil. To a 5 mL sample of the resulting migration solution was added 5 mL of *n*-heptane and 10 mL of acetonitrile and this mixture was shaken for 2 min and centrifuged for 3 min, after which the acetonitrile layer (extract A) was drawn off, filtered, and analysed by HPLC-UV-FL in full scan mode over the range 200-340 nm for UV and 200-280 nm for fluorescence excitation (fluorescence spectra were recorded at an emission wavelength of 305 nm). Both chromatograms showed significant unknown peaks at retention times of 8.0, 13.6, 18.4, 20.3 and 22.8 min; since the UV signals were more intense than the FL signals, only UV detection (Figure 7.2A) was used in subsequent work. In the HPLC-UV chromatogram of extract B (obtained by re-application of the extraction procedure to the olive oil layer left upon separation of extract A) only two small peaks clearly matched significant unknown peaks of extract A (Figure 7.2B); and in that of extract C



(obtained by re-application of the extraction procedure to the olive oil layer left upon separation of extract B) even the major peak of extract A ( $M_3$  in Figure 7.2) was very small (Figure 7.2C), suggesting that three successive extractions sufficed to extract almost all the material in these peaks from the olive oil (the area of the  $M_3$  peak in Figure 7.2C amounts to less than 1% of the sum of the areas of the peaks labelled  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ ,  $M_4$  and  $M_5$  in Figures 7.2A-C).

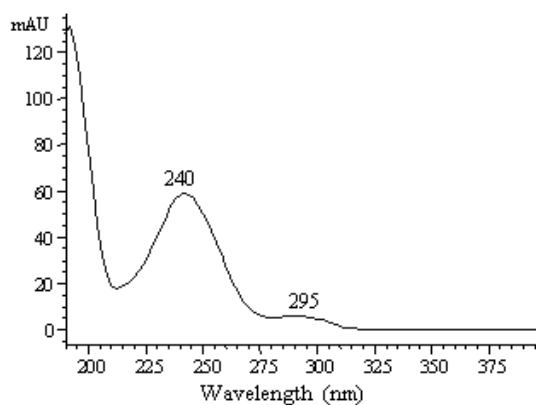


**Figure 7.2** HPLC-UV chromatograms of the first (A), second (B) and third (C) acetonitrile extracts of olive oil heated in the presence of PET roasting bag material.

#### **7.4.2. Identification of migrants**

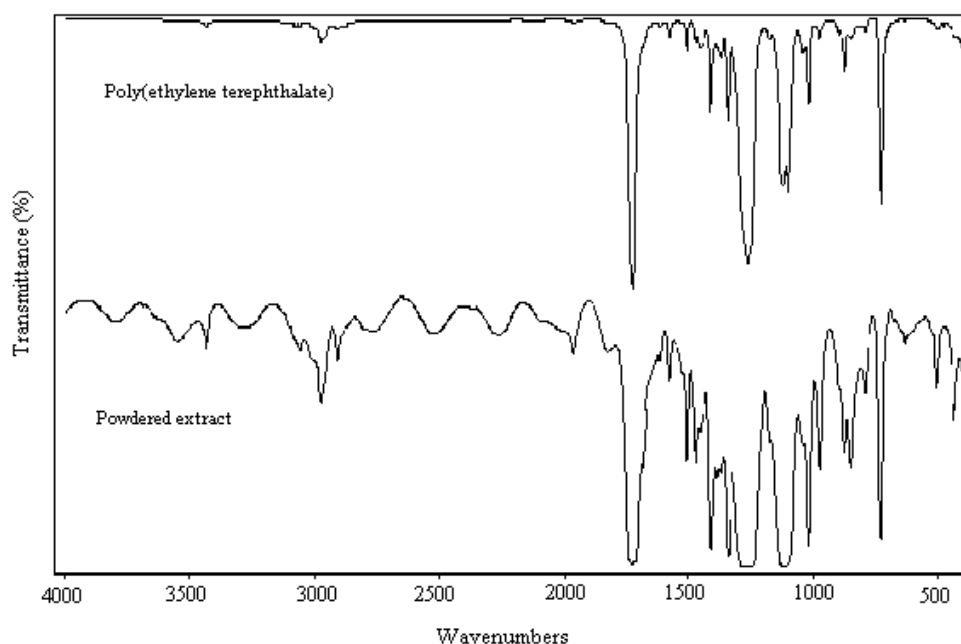
*Purification and chromatographic behaviour of acetonitrile extract.* In view of the commercial unavailability of pure PET oligomers and the probable difficulty of synthesizing pure samples, we decided to identify migrants by comparison with the more easily identifiable results of extracting the roasting bag material directly with acetonitrile. To 100 mL of acetonitrile were added small pieces of roasting bag (all of the same brand) until further pieces were no longer covered by the solvent, and this mixture was heated in an hermetically closed container in an oven for 24 h at 60°C, after which the resulting migration solution was filtered and analysed by HPLC-UV in full scan mode over the range 200-340 nm. The chromatogram peaks at retention times of 8.0, 13.2, 18.1, 20.3 and 22.8 min all showed very similar spectra, presumably because they all correspond to PET oligomers (the spectrum in this region is attributed to absorbance by the benzene ring and carbonyl bonds; Figure 7.3 shows that of the peak at 13.2 min, which has two maximums at 240 and 295 nm). These spectra were stored in our personal HPLC library for future use as identification standards. The remaining migration solution was condensed to dryness under a stream of nitrogen at 40°C, and the resulting white powder (hereinafter "the oligomeric acetonitrile extract") was washed twice with 5

mL of acetonitrile.



**Figure 7.3.** UV absorption spectrum of the HPLC-UV peak appearing at 13.2 min in chromatograms of acetonitrile heated for 24 h in the presence of PET roasting bag material.

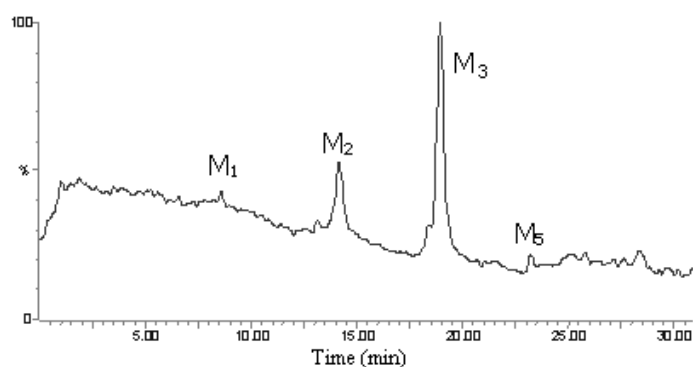
**Identification by FTIR.** Comparison of the FTIR spectrum of the purified acetonitrile extract with those available in a polymer library showed 95% agreement with that of PET (Figure 7.4), suggesting that the extract consists of PET oligomers.



**Figure 7.4.** FTIR spectrum of purified acetonitrile extract, with that of PET for comparison

**Identification by HPLC-MS.** A saturated (near to 200 ppm) solution of the oligomeric acetonitrile extract in acetonitrile was first analysed by HPLC-MS in full scan mode ( $m/z$  scanned from 50-1000 in 0.5 s) in series of experiments carried out to optimize probe temperature (varied between 200 and 500°C) and cone voltage (varied between 20 and 70 eV). The optimal conditions are listed in Table 7.1. Signals were observed at retention times of 8.0, 13.6, 18.4 and 22.8 min (Figure 7.5); the cause of the absence of a peak corresponding to the 20.3 min HPLC-UV

peak is unknown. When progressively diluted solutions were run, the disappearance of the major (18.4 min) peak identified the limit of detection of oligomers as 0.15 mg L<sup>-1</sup>.

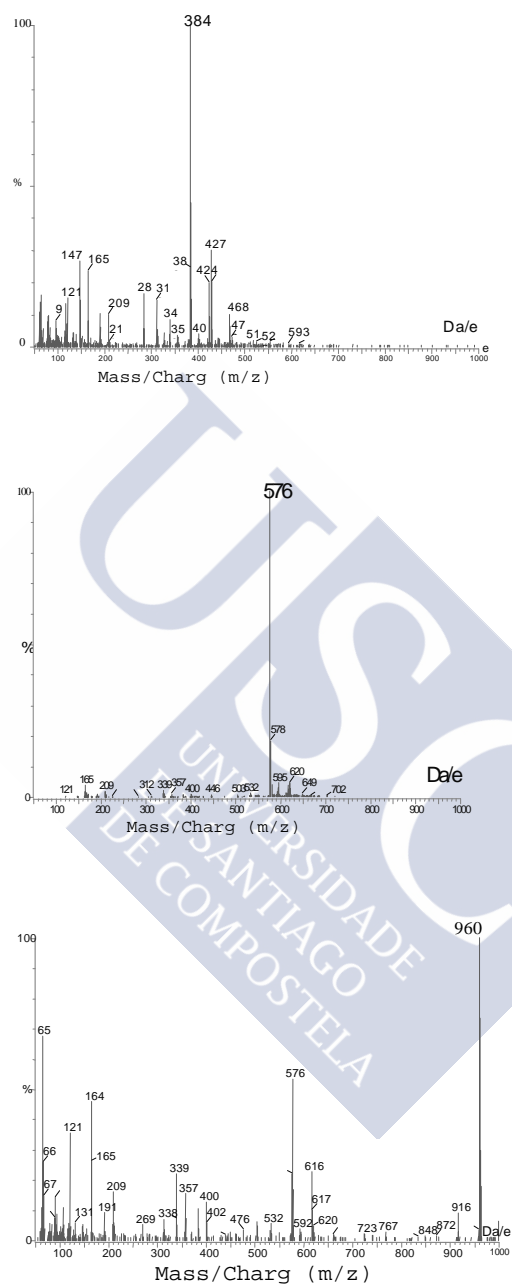


**Figure 7.5.** HPLC-MS full scan mode chromatogram of a solution of purified acetonitrile extract in acetonitrile.

The mass spectra of the four peaks (those for the last three are shown in Figure 7.6) identified them as corresponding, in order of increasing retention time, to the PET oligomers M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> and M<sub>5</sub>, although a systematic difference of 17 between the observed and theoretical  $m/z$  values of the base peaks for M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> and M<sub>5</sub> suggests that these oligomers exist in cyclic form rather than as the linear forms that. On the basis of these spectra,  $m/z$  values of 192, 384, 576 and 960 might be chosen for quantitative analysis of the 8.0, 13.6, 18.4 and 22.8 min peaks,

respectively, in single ion recording (SIR) MS mode. Furthermore, analysis of the purified acetonitrile extract in SIR mode at  $m/z = 768$  also allowed detection of  $M_4$  at the expected retention time of 20.3 min. In previous reports of the detection of PET oligomers by HPLC-MS, the oligomers detected were  $M_3$  and  $M_4$  (likewise in cyclic form) [6] or  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$  [8].

**Identification by EIMS** Positive ion mode EIMS, performed using a source temperature of 300°C, a probe temperature of 600°C and a fragmentation voltage of 90 eV, showed two main groups of major fragments: one attributable to the loss of  $\text{CO}_2$  ( $m/z = 149, 341, 533, 725$  and  $917$  for  $M_1, M_2, M_3, M_4$  and  $M_5$ , respectively), and the other to the gain of a proton ( $m/z = 193, 385, 577, 769$  and  $961$ , respectively).



**Figure 7.6.** Mass spectra of the 13.6, 18.4 and 22.8 min HPLC-MS peaks shown in Figure 7.5.

### 7.4.3. Quantification of PET oligomers by HPLC-UV

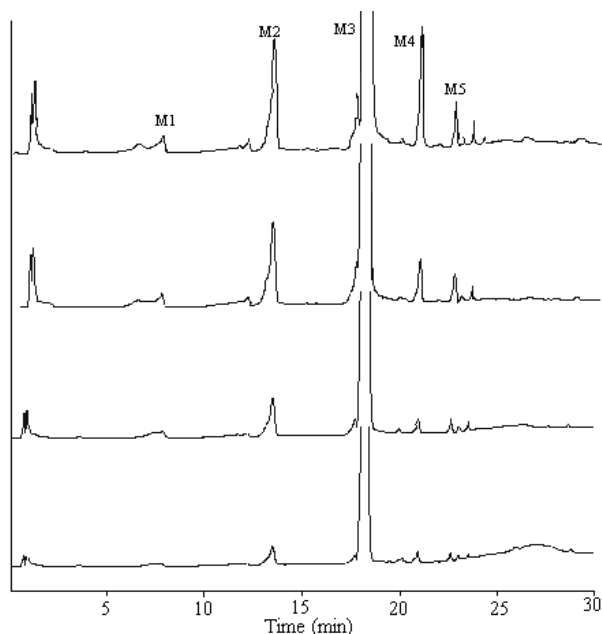
#### *Calibration and quality parameters*

**Standards and calibration.** An approximately 200 ppm solution of the acetonitrile extract in acetonitrile (100 mL) was concentrated to 15 mL, the precipitate was redissolved in 100mL of acetonitrile, and this concentration-redissolution cycle was repeated until a product was obtained that appeared to be virtually pure  $M_3$  (Figure 7.7). This purification may have been due to the precipitate being collected when the solubility limit had been reached by the major component ( $M_3$ ) but not by the others. A  $26 \text{ mg mL}^{-1}$  stock standard solution of this purified  $M_3$  in acetonitrile was prepared, and calibration standards were prepared in triplicate by transferring 1.5, 3.3, 6.5, 13.0 and 26 mL volumes of the stock standard to 100 mL flasks and making up to the mark with acetonitrile. A calibration line was constructed from the HPLC-UV peak areas of nine injections per concentration (three for each standard); Table 7.3 lists its parameters. Assuming the chromatographic signal to reflect the number of monomer units, this calibration line was also used to quantify, on a weight basis, oligomers other than  $M_3$ .

**Limit of detection.** The detection limit listed in Table 7.3,  $60 \mu\text{g L}^{-1}$ , was verified by running a solution of  $M_3$  of this concentration. The signal-to-noise ratio of the  $M_3$  peak was about 3 [12,13], where noise was defined



as the maximum amplitude of a blank chromatogram in the interval 18.1 to 18.3 min.



**Figure 7.7.** HPLC-UV chromatograms obtained at successive stages of purification of the extract by means of repeated dissolution in acetonitrile and concentration to dryness under a stream of N<sub>2</sub>.

**Precision.** The relative standard deviation of a set of ten independent determinations of a 1.5 mg/L solution of M<sub>3</sub> in acetonitrile was 2.03%.

**Extraction efficiency.** To confirm the efficiency of acetonitrile for extraction of PET oligomers from olive oil, 5 mg of purified acetonitrile extract was dissolved in 100 mL of olive oil (dissolution was confirmed by

the absence of any precipitate or turbidity after 24 h at 40°C), this mixture was extracted twice with acetonitrile as described above (see Preliminary migration trials), and the PET oligomer contents of the two extracts were quantified separately as described above. The combined PET oligomer peaks of the two extracts corresponded to 99.6% of the known concentration, rather higher than the 98.4 % reported by Begley and Hollifield [3] for extraction of PET oligomers in corn oil.

**Table 7.3.** Parameters of the calibration line used for HPLC-UV quantitation of PET oligomers.

Intersection (a)	99.675
Slope (b) (mg L <sup>-1</sup> )	62.9
Correlation coefficient (r)	0.9991
Linear dynamic range (mg L <sup>-1</sup> )	0.1-13.0
Detection limit (µg L <sup>-1</sup> )	60

**Recovery.** Accuracy was estimated by preparing a 3.5 mg L<sup>-1</sup> solution of M<sub>3</sub> in olive oil, sealing this solution and blank solutions in roasting bags that were then heated for 4 h at 100°C in a conventional oven or for 7 min at 850 W in a microwave oven (for the rationale behind these conditions, see below), extracting twice with acetonitrile as above, and

analysing the pooled extracts by HPLC-UV. Recovery was 96.9% when the conventional oven was used, and 97.2% with the microwave oven.

#### 7.4.5. Application to the commercial samples

**Potential migration.** Total PET oligomer content in the roasting bags was determined by cutting into small pieces and weighing 2 dm<sup>2</sup> of each brand, extracting with 100 mL of acetonitrile in an hermetically closed vessels for 24h at 60°C, and analysing the filtered migration solutions by HPLC-UV as described above. Values for the individual oligomers are listed in Table 7.4; for both brands, M<sub>3</sub> (the only oligomer detected by both Milon [6] and Guarini *et al.* [8]) made up more than half the total PET oligomer content. Total migration for all oligomers was 8.71 ± 0.23 mg dm<sup>-2</sup> for one brand and 8.37 ± 0.13 mg dm<sup>-2</sup> for the other (the difference is not statistically significant), equivalent to 4% (w w<sup>-1</sup>) in the polymer

**Table 7.4.** PET oligomer contents of two brands of PET roasting bag (mg dm<sup>-2</sup>).

Brand	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	M <sub>5</sub>	Total
1	0.73 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.82 ± 0.09	5.58 ± 0.69	1.04 ± 0.31	0.54 ± 0.02	8.71 ± 0.23
2	0.73 ± 0.01	0.85 ± 0.09	5.19 ± 0.24	1.06 ± 0.29	0.54 ± 0.02	8.37 ± 0.13

<sup>a</sup> Mean and standard deviation (n=6)

***Migration into olive oil.*** In migration tests, 50 mL of olive oil was sealed into each of twelve 10 × 10 cm roasting bags (six of each brand) and, since neither brand supplied instructions for use regarding the duration or temperature of heating, these packages were then heated under "worst case" conditions [11] (in this case conditions approaching but not reaching the limit at which the bag material became physically deformed): for 7 min at 850 W in a microwave in this case conditions approaching but not reaching the limit at which the bag material became physically deformed ve oven, or for 60 min at 200°C in a conventional oven. Samples of the resulting migration solutions were extracted twice with acetonitrile as described above (see Preliminary migration trials), and the pooled extracts were filtered and analysed by HPLC-UV. Migration values for PET oligomers are listed in Table 7.5 together with the oligomeric total migration, being M<sub>3</sub> accounted for more than half the oligomeric total migration with conventional heating and more than two-thirds with microwave heating. Although the total migration values are in all cases below the EU limit ( 10 mg dm<sup>-2</sup> [4]), they are high enough to suggest the desirability of re-evaluation of the safety of ET monomer and its oligomers, and of reconsideration of whether specific migration limits should be established, especially for M<sub>3</sub>.

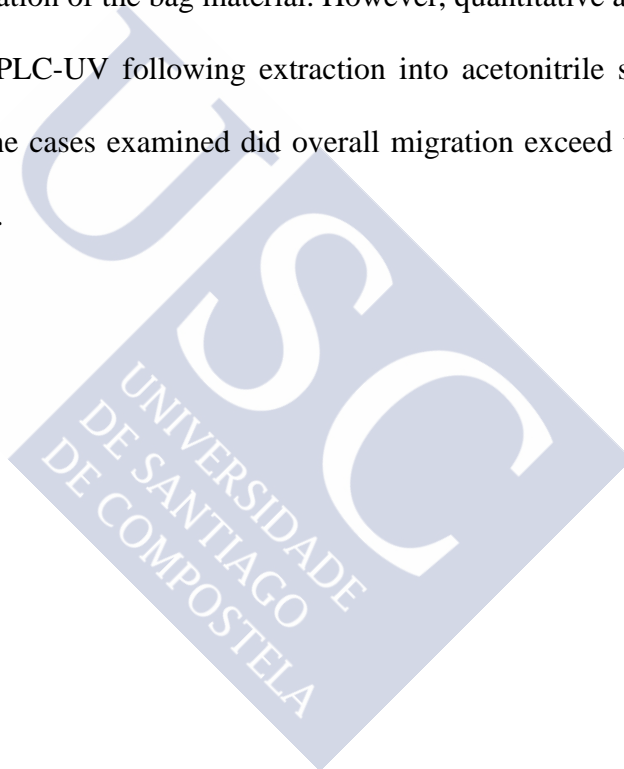
**Table 7.5.** Migration of PET oligomers from two brands of PET roasting bag into olive oil under heating for 7 min at 850 W in a microwave oven (<sup>a</sup>) or for 60 min at 200°C in a conventional oven (<sup>b</sup>), (mg dm<sup>-2</sup>).

Brand	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	M <sub>4</sub>	M <sub>5</sub>	Total
1 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.02	0.17 ± 0.02	1.97 ± 0.05	0.15 ± 0.15	0.10 ± 0.02	2.73 ± 0.06
1 <sup>b</sup>	0.33 ± 0.01	0.40 ± 0.07	2.32 ± 0.22	0.80 ± 0.10	0.24 ± 0.04	4.09 ± 0.09
2 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.02	0.16 ± 0.01	1.95 ± 0.03	0.14 ± 0.15	0.14 ± 0.01	2.72 ± 0.05
2 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.05	0.39 ± 0.04	2.25 ± 0.14	0.36 ± 0.05	0.20 ± 0.02	3.51 ± 0.06



## **7.5. CONCLUSIONS**

Ethylene terephthalate oligomers M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub> and M<sub>5</sub> migrate from PET roasting bags into the EU fatty food simulant olive oil when bags containing the simulant are heated under likely roasting conditions causing no physical deformation of the bag material. However, quantitative analysis of migration by HPLC-UV following extraction into acetonitrile showed that in neither of the cases examined did overall migration exceed the EU limit of 10 mg dm<sup>-2</sup>.



*Acknowledgements*

This work was supported by the Spanish Interministerial Committee for Science and Technology (CICYT) and the European Commission under project 1FD97-2167-C02-01.

**7.6. REFERENCES**

- [1] Lau, O.-W.; Wong, S.-K. *J. Chromatogr. A*. **2000**. 882, 255-270.
- [2] Baner, A.; Brandsch, J.; Franz, R.; Piringner, O. *Food Additives and Contaminants*. **1996**. 13 (5), 587-601.
- [3] Begley, T.H. ; Hollifield, H.C. *J. Agric. Food Chem.* **1990**. 38, 145-148.
- [4] European Commission. Commission Directive 2002/72/EC of 6 August 2002 *Official Journal of the European Communities* L220/18, 15 of August **2002**.
- [5] Chikazumi, N.; Mukoyama, Y.; Sugitani, H. *Journal of Chromatography*, **1989**. 479, 85-95.
- [6] Milon, H. *Journal of Chromatography*. **1991**. 554, 305-309.
- [7] Forrest, L. Bayer. *Food Additives and Contaminants*. **2002**. 19, supplement, 111-134.
- [8] Castle, L. and Gilbert, J. *Analytical Proceeding*. **1990**. 27 (9), 237-239.
- [9] Shiono, S. *Analytical Chemistry*. **1979**. 51, 2398-2400.

- [10] Guarini, A.; Guglielmetti, G.; Po, R. *Journal of Chromatography*, **1993**, *647*, 311-318.
- [11] European Commission. Commission Directive 82/711/EEC of 18 October 1982, *Official Journal of the European Communities* L222, 23 of October **1982**.
- [12] G.H. Momson, *Analytical Chemistry*. **1980**. *52*, 2242-2249.
- [13] E. J. Knoll. . *J. Chromatogr. Sci.* **1985**. *23*, 422-425.





**CONCLUSIONES GENERALES**





1. Los constituyentes de los absorbedores de oxígeno que migra son principalmente NaCl y Fe.
2. En los ensayos de migración con simulantes de alimentos grasos en presencia de absorbedores de oxígeno, es importante considerar la naturaleza química del material migrante y del simulante, como sucede con el aceite de oliva, isooctano y el etanol, donde hay migración de NaCl en simulante etanol al 95% pero no en simulante aceite de oliva e isooctano.
3. En simulantes sólidos (agar) o disolución líquida ( $\text{NaNO}_3$ ), la migración superó los límites máximos establecidos por la Legislación Europea (Directiva 90/128/CEE).
4. En alimentos acuosos se presentaron niveles de migración que superan los límites máximos permitidos por la Legislación Europea, para los dos absorbedores de oxígeno estudiados.
5. Se desarrolló un método para detectar la presencia de bisfenol A en film de uso alimentario y se cuantificó la migración en simulantes de alimentos oficiales en la Unión Europea.

6. . El BPA solamente fue detectado en films que tienen como base Cloruro de Polivinilo. Sin embargo, el contenido total cuantificado en todos los casos es menor que el límite de migración específico que se indica en la UE ( $0.5 \text{ mg dm}^{-2}$ ).
7. La migración de BPA desde un plástico de PVC hacia los simulantes de alimentos se incrementa significativamente con la temperatura y con la aplicación de presión o vacío, pero la migración en aceite de oliva no se afecta significativamente por dilución del aceite con arena incluso en una proporción en peso aceite: arena de 5:95.
8. Se desarrolló un método que permite la extracción identificación, y cuantificación de los oligómeros  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ ,  $M_4$  y  $M_5$  de PET, que migran de bolsas de asar en aceite de oliva. Los valores de migración cuantificados por HPLC-UV en plásticos PET, demuestran que en ninguno de los casos evaluados la migración global excede los límites especificados por la Unión Europea ( $10 \text{ mg dm}^{-2}$ ).

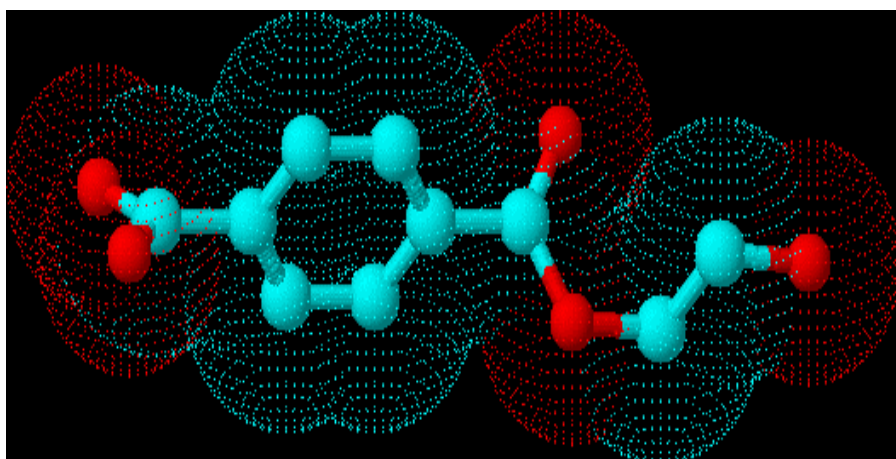
9



**APÉNDICE**

Estructuras identificadas de Tereftalato de Polietileno (ET), Capítulo 7.

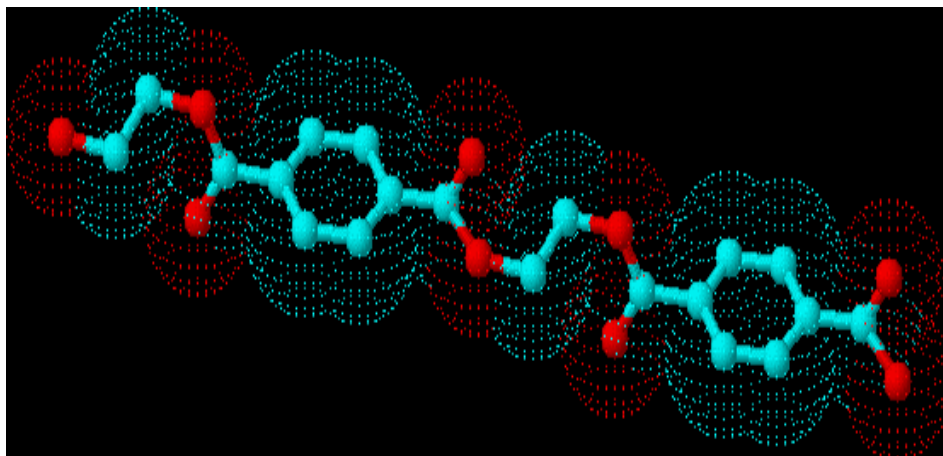
**M<sub>1</sub>**



**Figure 9.1.** Structure of ethylene terephthalate monomer M<sub>1</sub>

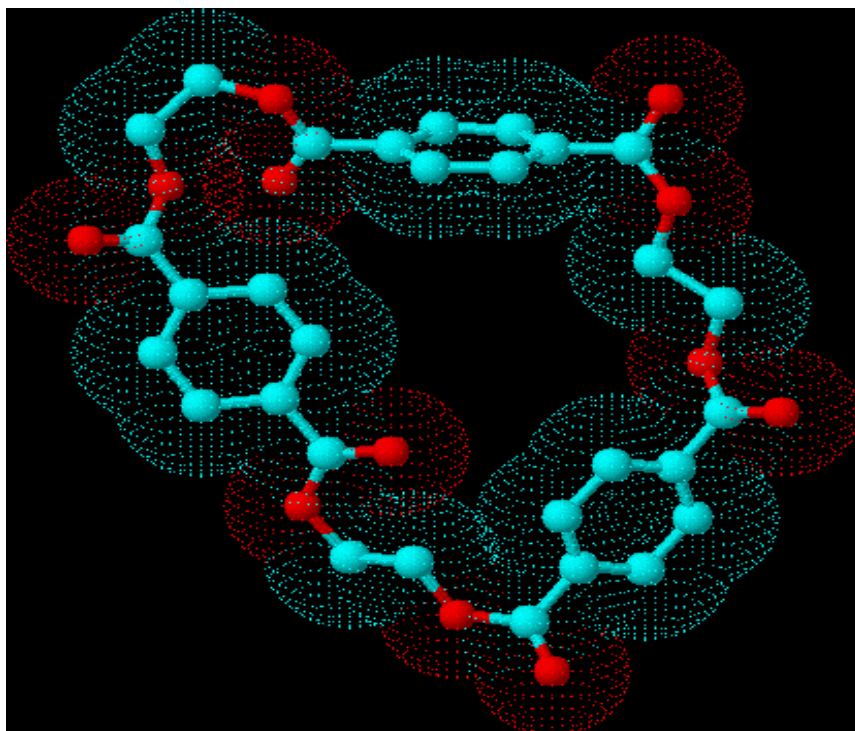
Molecular formula	= C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>
Molecular Weight	= 210.183
Composition	= C(57.14%) H(4.80%) O(38.06%)
Molar Refractivity	= 51.12 ± 0.3 cm <sup>3</sup>
Molar Volume	= 153.8 ± 3.0 cm <sup>3</sup>
Parachor	= 430.7 ± 4.0 cm <sup>3</sup>
Index of Refraction	= 1.578 ± 0.02
Surface Tension	= 61.4 ± 3.0 dyne/cm
Density	= 1.365 ± 0.06 g/cm <sup>3</sup>
Dielectric Constant	= Not available
Polarizability	= 20.26 ± 0.5 10 <sup>-24</sup> cm <sup>3</sup>

**M<sub>2</sub>**



**Figure 9.2** Structure of ethylene terephthalate oligomer M<sub>2</sub>

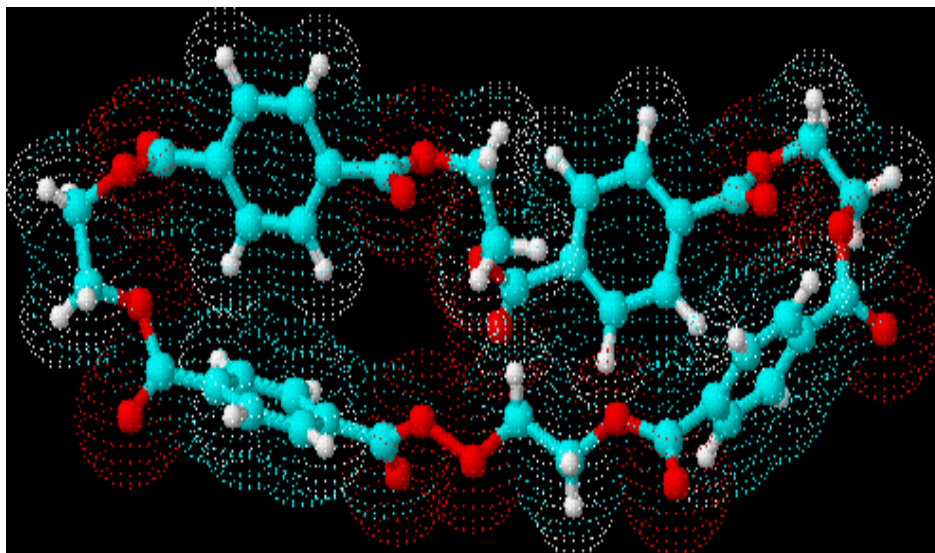
Molecular formula	= C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>
Molecular Weight	= 402.352
Composition	= C(59.70%) H(4.51%) O(35.79%)
Molar Refractivity	= 98.87 ± 0.3 cm <sup>3</sup>
Molar Volume	= 290.5 ± 3.0 cm <sup>3</sup>
Parachor	= 815.5 ± 4.0 cm <sup>3</sup>
Index of Refraction	= 1.596 ± 0.02
Surface Tension	= 62.0 ± 3.0 dyne/cm
Density	= 1.384 ± 0.06 g/cm <sup>3</sup>
Dielectric Constant	= Not available
Polarizability	= 39.19 ± 0.5 10 <sup>-24</sup> cm <sup>3</sup>

M<sub>3</sub>

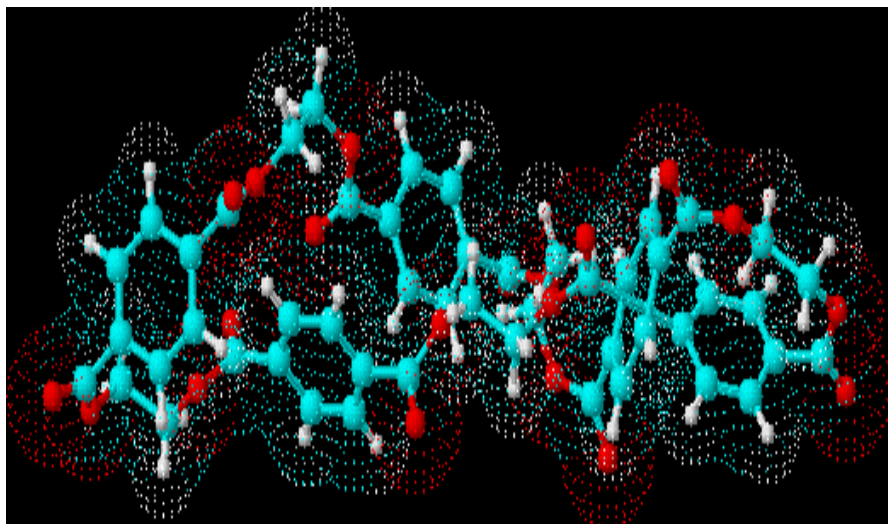
**Figure 9.3** Structure of ethylene terephthalate oligomer M<sub>3</sub>

Molecular formula	= C <sub>30</sub> H <sub>24</sub> O <sub>12</sub>
Molecular Weight	= 576.504
Composition	= C(62.50%) H(4.20%) O(33.30%)
Molar Refractivity	= 139.53 ± 0.3 cm <sup>3</sup>
Molar Volume	= 440.4 ± 3.0 cm <sup>3</sup>
Parachor	= 1150.3 ± 6.0 cm <sup>3</sup>
Index of Refraction	= 1.546 ± 0.02
Surface Tension	= 46.5 ± 3.0 dyne/cm
Density	= 1.309 ± 0.06 g/cm <sup>3</sup>
Dielectric Constant	= Not available
Polarizability	= 55.31 ± 0.5 10 <sup>-24</sup> cm <sup>3</sup>



**M<sub>4</sub>****Figure 9.4** Structure of ethylene terephthalate oligomer M<sub>4</sub>

Molecular formula	= C <sub>40</sub> H <sub>34</sub> O <sub>17</sub>
Molecular Weight	= 786.688
Composition	= C(61.07%) H(4.36%) O(34.57%)
Molar Refractivity	= 194.37 ± 0.3 cm <sup>3</sup>
Molar Volume	= 563.9 ± 3.0 cm <sup>3</sup>
Parachor	= 1585.2 ± 4.0 cm <sup>3</sup>
Index of Refraction	= 1.605 ± 0.02
Surface Tension	= 62.4 ± 3.0 dyne/cm
Density	= 1.395 ± 0.06 g/cm <sup>3</sup>
Dielectric Constant	= Not available
Polarizability	= 77.05 ± 0.5 10 <sup>-24</sup> cm <sup>3</sup>

M<sub>5</sub>

**Figure 9.5** Structure of ethylene terephthalate oligomer M<sub>5</sub>

Molecular formula	= C <sub>50</sub> H <sub>40</sub> O <sub>20</sub>
Molecular Weight	= 960.841
Composition	= C(62.50%) H(4.20%) O(33.30%)
Molar Refractivity	= 232.55 ± 0.3 cm <sup>3</sup>
Molar Volume	= 734.0 ± 3.0 cm <sup>3</sup>
Parachor	= 1917.1 ± 6.0 cm <sup>3</sup>
Index of Refraction	= 1.546 ± 0.02
Surface Tension	= 46.5 ± 3.0 dyne/cm
Density	= 1.309 ± 0.06 g/cm <sup>3</sup>
Dielectric Constant	= Not available
Polarizability	= 92.19 ± 0.5 10 <sup>-24</sup> cm <sup>3</sup>