



Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Evaluación de la seguridad alimentaria en materiales plásticos  
utilizados para el cocinado de alimentos

Evaluation of food safety in plastic materials used for food  
cooking

Autor/es

Sara Artigas Chavarría (624879@celes.unizar.es)

Director/es

Margarita Aznar Ramos  
Celia Domeño Recalde

Facultad de  
Veterinaria

2017

---

## ÍNDICE

Resumen .....	3
Abstract .....	4
1. Justificación y objetivos .....	5
2. Introducción .....	6
2.1 Migración.....	6
2.2 Técnicas análisis .....	9
2.3 Legislación.....	11
3. Metodología .....	13
3.1 Materiales.....	13
3.2 Reactivos.....	13
3.3 Instrumental .....	13
3.4 Análisis por GC-O-MS .....	13
3.5 Selección del método de análisis .....	14
3.6 Test migración: .....	15
3.7 Análisis sensorial: Test triangular.....	16
3.8 Análisis olfatométrico mediante HS-SPME-GC-O-MS. ....	17
4. Resultados y discusión .....	20
5. Conclusiones .....	29
6. Conclusions .....	30
7. Aportaciones en materia de aprendizaje.....	31
8. Bibliografía.....	32

## Resumen

En los últimos años, el consumo de alimentos que se pueden cocinar en sus propios envases se ha incrementado debido a su comodidad, sin embargo, muchos consumidores perciben aromas y sabores extraños. Esto se debe a la posible migración que se produce por la interacción del envase con el alimento, favorecida por la temperatura. La migración además de producir cambios sensoriales también puede ocasionar problemas de seguridad. Por ello, el Reglamento Europeo 10/2011 establece una lista positiva de compuestos que pueden utilizarse en la fabricación de materiales plásticos para contacto alimentario y sus valores máximos de migración.

Este proyecto tiene como objetivo evaluar envases, bolsas para asar al horno, que se utilizan para el cocinado de alimentos y determinar cómo afectan a la composición del material las altas temperaturas utilizadas durante el cocinado. Para ello se ha utilizado la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa y se ha optimizado el tratamiento de muestra más adecuado (extracción con diclorometano o metanol, SPME con diferentes fibras...). Se evaluará también como afectan estas condiciones a la seguridad alimentaria analizando la posible migración en las condiciones de cocinado mediante un simulante alimentario. De la misma manera, estos cambios en el envase pueden dar lugar a modificaciones organolépticas después del cocinado que también serán estudiadas mediante cromatografía de gases acoplada a olfatometría y test sensorial.

Los resultados muestran que se forman numerosos compuestos volátiles, principalmente aldehídos, lo que podría llevar a cambios en las propiedades sensoriales del alimento. Sin embargo, la migración fue mínima, por lo que no debería afectar a la seguridad del alimento.

## Abstract

In recent years, the consumption of food that can be cooked in its own packaging has increased because of its comfort; however, many consumers perceive strange aromas and flavors. This is due to the possible migration that is produced by the interaction between the container and food, favored by the temperature. In addition to sensory changes, migration can also cause safety problems. For this reason, European Regulation 10/2011 establishes a positive list of compounds that can be used in the manufacture of food contact plastic materials and their maximum migration values.

This project aims to evaluate containers, baking bags, which are used for food cooking and to determine how the high temperatures used during cooking affect the composition of the material. For this purpose, gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) has been used and the most suitable sample treatment (extraction with dichloromethane or methanol, SPME with different fibers ...) has been optimized. It was also evaluated how these conditions affected food security by analyzing the possible migration to a food simulant under cooking conditions. In the same way, these changes in the packaging can give rise to organoleptic modifications that will also be studied by gas chromatography coupled to olfactometry (GC-O) and sensory test.

The results obtained show that numerous volatile compounds were formed, most of them aldehydes, that could lead to sensory modifications in the cooked food. However, migration was minimal and therefore food safety was not expected to be affected.

## 1. Justificación y objetivos

El objetivo del proyecto es evaluar los cambios sensoriales y la seguridad de envases que se utilizan para el cocinado de alimentos y determinar cómo afectan a la composición del material las condiciones de cocinado. El envase, en estos casos, ya no solo cumple el papel de conservación del alimento sino que además se utiliza como recipiente para cocinar el alimento. Esto implica que las condiciones de temperatura y presión que soporta el envase son diferentes a los envases habituales.

- El proyecto pretende comprobar si hay variaciones en la composición del material que compone el envase al someterlo a las condiciones de cocinado, para ello se utilizará la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas y se optimizarán las condiciones de análisis.
- Se evaluará también como afectan estas condiciones a la seguridad alimentaria analizando la posible migración del envase al alimento en las condiciones de cocinado.
- De la misma manera, estos cambios en el envase pueden dar lugar a modificaciones organolépticas después del cocinado que también serán estudiadas, mediante análisis sensoriales (test triangular) y análisis por olfatometría acoplada a cromatografía de gases.

## 2. Introducción

Actualmente la forma de alimentarse está cambiando rápidamente ya que cada vez se consume más comida preparada, lista para consumir, o incluso para cocinar en el propio envase, con lo que se consigue mayor rapidez y manchar menos, resultando más cómodo de cara al consumidor. El uso de este tipo de envases conlleva en la mayor parte de los casos el uso del horno y microondas para cocinar y/o calentar alimentos directamente en materiales plásticos. Estos materiales plásticos se emplean a temperaturas elevadas que podrían modificar su composición y dar lugar a aromas no deseados.

Estos envases plásticos pueden ser de materiales monocapa (un solo polímero) o materiales multicapa, en los que se combinan films de diferentes polímeros con diferentes propiedades de forma que el material puede cumplir todos los requerimientos (resistencia, permeabilidad...). Estos films están unidos con capas de adhesivo, en su mayoría poliuretano (Watson & Meah, 1995)(Dixon, 2011).

### 2.1 Migración

En todos los materiales de envasado hay una interacción entre el alimento, el envase y el entorno. Debido a esta interacción pueden tener lugar diferentes procesos, tales como la permeabilidad, o paso de sustancias o gases a través del envase; la sorción, o retención en el envase de sustancias del alimento o entorno; y la migración, o transferencia de sustancias del envase al alimento (Catalá & Gavara, 2002). La migración puede dar lugar a la incorporación al alimento de sustancias no deseadas, tanto de sustancias tóxicas que pueden hacerlos no aptos para el consumo, o bien, sustancias que produzcan alteraciones de las características sensoriales.

El proceso de migración se desarrolla en tres etapas: difusión del migrante en el envase, que tiene lugar por espacios libres transitorios originados por los movimientos naturales aleatorios de las cadenas de polímero y que obedece a las leyes de Fick; solvatación o disolución del migrante en la interfase alimento-envase; y finalmente, la dispersión del migrante en el alimento, si el alimento es sólido se difunde de acuerdo a las leyes de Fick (Catalá & Gavara, 2002)(Barnes, Sinclair, & Watson, 2007).

En los materiales poliméricos los mecanismos de transferencia de masa tienen lugar a través de la matriz polimérica. Los polímeros que componen los materiales plásticos, son moléculas de alto peso molecular generalmente inertes y de solubilidad limitada por lo que su transferencia está limitada. Las sustancias que pueden migrar aquellas de bajo peso molecular ( $< 1000$  Da) que se encuentran en la matriz polimérica, tales como aditivos, residuos o coadyudantes de la polimerización.

Dentro de la migración, podemos distinguir entre migración global y migración específica. La migración global es la cantidad total de los componentes del material que son transferidos al alimento, sean conocidos o no, en las condiciones de preparación menos favorables. Al incluir todos los componentes no se tienen en cuenta sus características toxicológicas (Catalá & Gavara, 2002). La migración específica representa la cantidad de una sustancia concreta e identificable que es transferida al alimento.

El análisis de la migración global y específica a un alimento es complejo por lo que se recurre a la utilización de simulantes alimentarios, es decir, sustancias caracterizadas por poseer un poder extractivo similar a los alimentos con los siguientes requerimientos: debe presentar la misma extensión con el simulante que con el alimento y debe permitir un análisis relativamente simple (Catalá & Gavara, 2002). Los simulantes alimentarios que se deben utilizar para cada alimento están descritos en el reglamento EU/10/2011 (Reglamento 10/2011).

Para la determinación de los valores de migración se realiza un ensayo de migración, para ello se pone en contacto una superficie, conocida del material de envase a evaluar, con un simulante alimentario o un alimento, en unas condiciones de tiempo y temperatura predeterminadas que reproduzcan las condiciones de uso real en las situaciones más extremas. Posteriormente, se determina el contenido de los compuestos presentes en el simulante (Catalá & Gavara, 2002). Las condiciones de tiempo y temperatura para dichos ensayos están definidas en el Reglamento EU/10/2011 (Reglamento 10/2011)

La migración puede producir modificaciones sensoriales debido a la transferencia de sustancias sensorialmente activas del envase hacia el producto, apareciendo olores y sabores extraños. Muchas de estas sustancias tienen la capacidad de producir alteraciones en la calidad sensorial del alimento aún estando presentes en concentraciones por debajo de los límites establecidos por razones toxicológicas, y, generalmente, por debajo de límites de detección instrumentales (Catalá & Gavara, 2002).

Esto significa que una forma adecuada para determinar los compuestos responsables de los cambios sensoriales es la utilización de técnicas sensoriales. Para determinar si la migración ha causado cambios significativos en la percepción sensorial del alimento son de gran utilidad los ensayos de diferenciación, entre los que se encuentran: el test triangular.

Una vez que se ha determinado que hay modificaciones en la percepción sensorial hay que identificar los compuestos responsables de estos cambios. Para ello, es necesario el análisis instrumental y, dado que estos compuestos en muchos casos son percibidos por debajo de los límites de detección de los equipos de análisis. La técnica más utilizada es la cromatografía de gases acoplada paralelamente a un detector instrumental (espectrómetro de masas, detector de ionización de llama...) y a un puerto olfatométrico. De esta forma, se obtiene un cromatograma de la muestra que permite la identificación de los compuestos y paralelamente los datos de los aromas percibidos a cada tiempo de retención y su intensidad (Vera, 2013).

Para finalizar, son muchos los factores que afectan a la magnitud, velocidad e intensidad de migración, entre ellos el tiempo de contacto y la temperatura ejerciendo esta última una fuerte influencia en la cantidad y tipo de sustancias que migran al alimento o al simulante (Watson & Meah, 1995). Para algunos plásticos las altas temperaturas pueden afectar a la identidad de las especies que migran debido a la descomposición térmica de las sustancias en el plástico antes de la migración o en el medio receptor después de la migración (Watson & Meah, 1995). Además, la probabilidad de la migración de monómeros y oligómeros aumenta cuando un plástico es expuesto a altas temperaturas ya que aumenta la difusión de los compuestos en el material (Bhunja et al, 2013).

También habría que tener en cuenta el calentamiento por microondas ya que esta radiación puede inducir tanto efectos térmicos como no térmicos. Los alimentos expuestos a las microondas se calientan como resultado de la disipación de la energía principalmente en agua, y también por la conducción iónica o electrolitos disueltos. Los alimentos absorben la energía electromagnética generada por las microondas produciendo un calentamiento dieléctrico en un elemento no conductor (Catalá & Gavara, 2002).

## **2.2 Técnicas análisis**

Para el análisis de migración y de los cambios producidos en el material al someterlo a altas temperaturas se utiliza la cromatografía acoplada a espectrometría de masas. La cromatografía es una técnica de separación dinámica en la que los analitos se distribuyen en dos fases: una fase estacionaria que se mantiene fija y una fase móvil que se mueve a través de ella. Los analitos se mueven en continuo por la fase estacionaria estableciendo los procesos de distribución y por lo tanto de separación. Se puede distinguir entre la cromatografía de gases, donde la fase móvil es un gas y la cromatografía de líquidos donde la fase móvil es un líquido.

La espectrometría de masas es una técnica de detección que permite obtener información de la masa molecular del compuesto analizado así como obtener información estructural del mismo. Para ello es necesario ionizar las moléculas y obtener los iones formados en fase gaseosa. Actualmente es el detector más utilizado en cromatografía porque el espectrómetro de masas es capaz de detectar bajas concentraciones de analito, suministra información cualitativa y cuantitativa y puede distinguir diferentes sustancias que tienen el mismo tiempo de retención (Harris, 1995).

La cromatografía de gases acoplada a la olfatometría permite la separación individual de los componentes y la capacidad de asignar descriptores olfativos a los picos del cromatograma. Se consigue ya que a la salida de la columna de cromatografía una parte va hacia el detector y la otra al puerto de olfatometría y así con la nariz humana se evalúan las cualidades aromáticas de los compuestos que se eluyen de la columna cromatográfica, a la vez que el detector instrumental proporciona un cromatograma.

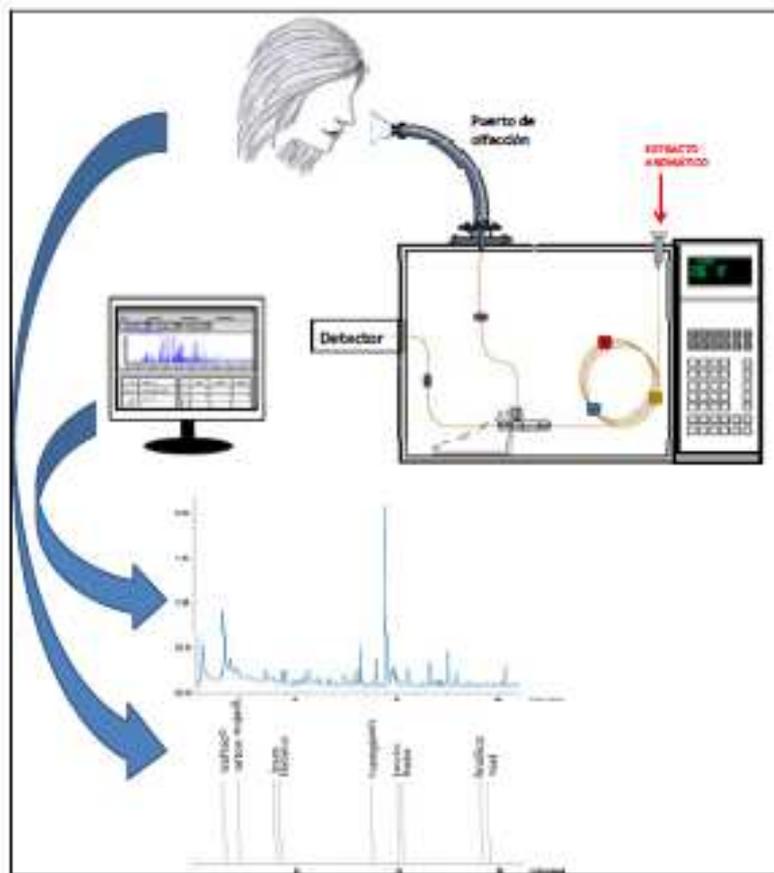


Figura 1: Esquema de la olfatometría acoplada a cromatografía (GC-O)

Hay distintas técnicas olfatométricas con el fin de evaluar la importancia sensorial de los compuestos aromáticos: técnicas de dilución, de frecuencia de citación, de tiempo-intensidad, de intensidad posterior y de frecuencia modificada. En la técnica de frecuencia modificada cada individuo anota el tiempo de retención al que se detectan los olores, su descripción y su intensidad, la intensidad se valora en una escala del 1 al 3, siendo el 1 la valoración más baja y el 3 la más alta.

La inyección de muestras en análisis por GC-O puede realizarse por inyección líquida de un extracto de la muestra o mediante el análisis por microextracción en fase sólida (SPME) que permite una preconcentración de los analitos y por tanto mayor sensibilidad. La microextracción en fase sólida es una técnica utilizada para extraer compuestos desarrollada por el Dr. Pawliszyn. Esta técnica no requiere el uso de solventes y es muy utilizada para la identificación y cuantificación de moléculas de bajo peso molecular que migran de los polímeros (Alin, 2012), ya que es muy eficiente para determinar concentraciones bajas de analito debido a su alto poder de concentración. Se

trata de una fibra pequeña de sílice fundida recubierta con un film delgado de base polimérica. Los polímeros utilizados pueden tener diferente naturaleza química y se seleccionaran en función de los analitos que se quieran retener. Los analitos son adsorbidos por esta fibra hasta que se alcanza un equilibrio en el sistema (Pawliszyn, 2000).

La extracción de los analitos puede llevarse a cabo mediante la inmersión directa de la fibra en la muestra, si se trata de muestras líquidas, o mediante la extracción del espacio de cabeza. Posteriormente, la fibra es insertada en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases donde tiene lugar la desorción térmica (200-300 °C) de los analitos atrapados en la fibra (Muñoz, 2011).

Puesto que en nuestro caso las muestras eran un film, se utilizó la extracción del espacio de cabeza (HS-SPME) donde los analitos son extraídos de la fase gaseosa en equilibrio con la muestra por lo que la fibra no entra en contacto directo con la muestra. Es el procedimiento más utilizado para analizar matrices complejas o cuando se trabaja con compuestos volátiles (Muñoz, 2011)(Avelino et al, 2015).

### **2.3 Legislación**

- Reglamento (CE) N° 1935/2004 del Parlamento Europeo y del consejo del 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos.

Este Reglamento tiene como finalidad garantizar el funcionamiento efectivo del mercado interior en relación con la comercialización de los materiales y objetos destinados a entrar en contacto directo o indirecto con alimentos, proporcionando al mismo tiempo la base para garantizar un elevado nivel de protección de la salud humana y de los intereses de los consumidores. Se aplicará a los materiales y objetos terminados que: estén destinados a entrar en contacto con alimentos; estén ya en contacto con alimentos y estén destinados a tal efecto; o de los que quepa esperar razonablemente que entrarán en contacto con alimentos o que transferirán sus componentes a los alimentos en condiciones normales o previsibles de empleo.

Los materiales y objetos habrán de estar fabricados de conformidad con las buenas prácticas de fabricación para que, en las condiciones normales o previsibles de empleo, no transfieran sus componentes a los alimentos en cantidades que puedan: representar un peligro para la salud humana, provocar una modificación inaceptable de la composición de los alimentos o provocar una alteración de las características organolépticas de éstos.

- Reglamento (CE) N° 2023/2006 de la Comisión del 22 de diciembre de 2006 sobre buenas prácticas de fabricación de materiales y objetos destinados a entrar en contacto con los alimentos.

Este Reglamento establece las normas sobre buenas prácticas de fabricación para los grupos de materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos.

- Reglamento (CE) N° 10/2011 de la Comisión del 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos.

El presente Reglamento establece requisitos específicos para la fabricación y comercialización de materiales y objetos plásticos: destinados a entrar en contacto con alimentos, ya en contacto con alimentos o que es razonable suponer que entren en contacto con alimentos. Para la migración global, los materiales y objetos plásticos no cederán sus constituyentes a los simulantes alimentarios en cantidades que superen en total los 10 miligramos de constituyentes liberados por decímetro cuadrado de superficie de contacto (mg/dm<sup>2</sup>). Y para migración específica, los materiales y objetos plásticos no cederán sus constituyentes a los alimentos en cantidades superiores a los límites de migración específica (LME) que se establecen en el anexo I de este Reglamento, estos límites de migración específica se expresan en mg de sustancia por kg de alimento (mg/kg). Con respecto a las sustancias para las que el anexo I no establezca límite de migración específica ni otras restricciones, se aplicará un límite genérico de migración específica de 60 mg/kg. Todas aquellas sustancias que no estén presentes en el anexo I no deberán superar 10 ng/g en la migración.

### **3. Metodología**

#### **3.1 Materiales**

Se utilizaron para los ensayos bolsas para asar al horno de dos marcas diferentes (material 1 y material 2), que fueron adquiridas en una gran superficie.

#### **3.2 Reactivos**

Los compuestos: (E)-2-octenal, (E)-2-nonenal, nonanal, decanal, octanal, octanol, citral, dodecanal y benzofenona fueron de calidad analítica y adquiridos en Sigma-Aldrich Química (Barcelona, España).

El metanol (calidad LC-MS) fue adquirido en ScharlauChemie S.A (Sentmenat, España) y el diclorometano en Panreac (Barcelona, España).

El Tenax ® TA 80/100 fue suministrado por Supelco (Bellefonte, PA, USA)

#### **3.3 Instrumental**

Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas 5977BMSD de Agilent Technologies acoplado a un inyector automático 7693 de Agilent Technologies; la columna es HP-5MS (DB-5) de 30 metros de longitud, 0.25 milímetros de diámetro exterior y 0.25 micrómetros de diámetro interior de Agilent Technologies. Puerto olfatométrico Phaser con humidificador.

Centrifugadora Microfuge® 18 Centrifugede Beckman y baño de ultrasonidos Branson 3510.

#### **3.4 Análisis por GC-O-MS**

La inyección se llevó a cabo en splitless a una temperatura de 250°C. Para la inyección líquida el volumen de inyección fue de 1 µL. Para la inyección por SPME, las condiciones de adsorción fueron 20 minutos a 80°C y la desorción 2 minutos a 250°C.

El programa del horno fue: 40°C de temperatura inicial durante cinco minutos y a continuación una rampa de 10°C por minuto hasta que alcanzaba los 300°C. El gas portador fue helio con un caudal de 1mL/min.

La detección en el espectrómetro de masas se llevó a cabo en modo SCAN de 50 a 400mz.

Para la detección por olfatometría, el puerto olfatómico se acondicionó a 160°C.

### **3.5 Selección del método de análisis**

Con el fin de conocer que técnicas proporcionaban un perfil de volátiles más completo de los materiales estudiados se realizaron varios análisis con el material: extracción con diclorometano, extracción con metanol y análisis directo por microextracción en fase sólida del espacio de cabeza (HS-SPME). En esta última se utilizaron distintas fibras para ver cual daba mejor resultados.

- **Extracción con diclorometano**

El material se cortó en trozos pequeños con ayuda de unas tijeras, y se introdujeron 0,3g en viales de 20 mL de vidrio que se cerraron herméticamente.

Se prepararon 6 réplicas del material y tres de ellas se sometieron a calentamiento siguiendo las instrucciones de uso del material para el cocinado de alimentos (190°C durante hora y media), mientras las otras 3 se conservaron a temperatura ambiente.

Una vez transcurrida la hora y media se procedió a la extracción de los seis viales con diclorometano. La extracción se realizó añadiendo 3mL, 2mL, y 2mL de diclorometano en tres extracciones consecutivas que se llevaron a cabo durante una hora en el equipo de ultrasonidos. Una vez realizadas las tres extracciones se mezclaron los extractos y se procedió a su concentración bajo una corriente de nitrógeno hasta 1mL. Durante esta concentración se termostataron los viales para evitar la congelación del disolvente.

Paralelamente se preparó un blanco de 7mL diclorometano que se concentró de la misma manera que las muestras (Aznar et al, 2011).

Una vez concentrados, los extractos se guardaron en viales para su inyección en el cromatógrafo de gases.

#### ▪ **Extracción con metanol**

Se repitió el mismo procedimiento usado para la extracción con diclorometano pero en este caso el disolvente usado fue metanol.

#### ▪ **Extracción por HS-SPME**

Se cortaron cuadrados del material de un tamaño de 2,5x2,5cm y se introdujeron en un vial de vidrio de 20mL que se cerró herméticamente. Tres se llevaron al horno a 190°C durante hora y media y otros tres se dejaron sin temperatura. Se preparó también un blanco (sólo el vial) con temperatura y otro sin temperatura.

Este procedimiento se repitió utilizando tres tipos de fibras diferentes que se diferencian por su polaridad para observar que fibra era la que obtenía mejores resultados.

- 100µm PDMS (polydimethylsiloxane).
- 75µm Carboxen/PDMS (carboxen/polydimethylsiloxane).
- 50/30µmDVB/CAR/PDMS (divinybenzene/carboxen/polydimethylsiloxane).

### **3.6 Test migración:**

Para el test de migración, en primer lugar se limpió el Tenax. El Tenax es un polímero de alta porosidad de poli (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno), en forma de polvo fino (Vera, 2013). Presenta una elevada superficie específica por lo que tiene una gran capacidad de adsorción sobre todo de volátiles (Bustos, 2013). Se seleccionó para los ensayos de migración ya que los disolventes líquidos no podían ser sometidos a las condiciones de migración requeridas (190°C, hora y media).

Para la limpieza se introdujo el Tenax en un cartucho de celulosa y el cartucho en un Soxhlet. Se limpió con acetona durante seis horas (Aznar et al, 2011) y una vez limpio se secó en la estufa a 100°C durante 4 horas.

Para el test de migración se prepararon tres bolsitas hechas con los films del material de 2,5x2,5cm mediante termosellado. Luego en cada bolsa se introdujeron 0,34g de Tenax y se termoselló. De esta forma la proporción fue de 4 gTenax/dm<sup>2</sup> laminado que marca la legislación (UNE-EN 14338 19). El experimento se realizó por triplicado

Estas muestras se pusieron sobre una placa de Petri y se introdujeron al horno a 190°C durante una hora y media. Una vez fuera y habiendo dejado que se enfriaran se introdujo el Tenax en un vial y se extrajo dos veces consecutivas con 3.4mL de metanol dejándolo cada vez una hora en el equipo de ultrasonidos. Finalmente los extractos se mezclaron y se guardaron en un vial. También se preparó un blanco de la misma manera pesando 0,34g de Tenax limpio y haciendo la extracción.

El extracto se centrifugó, para eliminar posibles partículas de Tenax y se concentró con una corriente de N<sub>2</sub> hasta 1,5mL y una vez concentrado se prepararon los viales para inyectar en el cromatógrafo.

### **3.7 Análisis sensorial: Test triangular**

El test triangular es un test diferencial, que sirve para comprobar si hay diferencias sensoriales entre muestras, ya que muestran si los sujetos que hacen el análisis pueden detectar diferencias entre las muestras ensayadas.

Los test diferencial se pueden usar para varios objetivos: para demostrar que dos muestras son percibidas como diferentes o para determinar si dos muestras son suficientemente similares, de forma que se puede demostrar una diferencia o una similitud. Es particularmente útil en situaciones donde los efectos de un tratamiento producen cambios en el producto que no pueden ser simplemente categorizados por uno o dos atributos.

El principio del test triangular consiste en presentar a cada sujeto tres muestras codificadas, e informarles que dos muestras son iguales y una diferente. Luego se les dice que las prueben (sientan o examinen) de derecha a izquierda, con la opción de ir hacia atrás para repetir la evaluación de cada uno mientras el test está en marcha, y que seleccione la diferente. Finalmente, se cuenta el número de respuestas correctas y se miran las tablas estadísticas para su interpretación.

Para analizar e interpretar los resultados se cuenta el número de respuestas correctas y el número total de respuestas. Luego se determina si el número de respuestas correctas es igual o mayor que el número indicado en la tabla para un determinado nivel de significación (Meilgaard, Civille, & Carr, 1999).

Para preparar las muestras se cortan doce cuadrados del material de 2,5x2,5cm y se depositan en viales. De estos viales, 6 se introducen el horno a 190°C durante hora y media (muestras A) y 6 se dejaron a temperatura ambiente (muestras B)

Para el test, se prepararon cuatro set de muestras (AAB, ABB, BAB y AAB), de las cuales cada persona olería dos. Finalmente se realizaron 15 test de dos set de muestras, por lo tanto 30 resultados.

Una vez hecho el test se pidió a los catadores que describieran el olor de una muestra sometida a calentamiento.

### **3.8 Análisis olfatométrico mediante HS-SPME-GC-O-MS.**

Para la olfatometría se prepararon cuadrados de 2,5x2,5cm del material y se introdujeron en viales, unos se llevan al horno a 190°C hora y medio (muestras con temperatura) y los otros se mantuvieron a temperatura ambiente (muestras sin temperatura).

Los viales con las muestras se pre-acondicionaron a 80°C durante 20 minutos. A continuación, se introdujo la fibra en el espacio de cabeza y se mantuvo durante 20 minutos a 80°C para facilitar la adsorción de los compuestos volátiles en la misma.

Pasado este tiempo, se retiró la fibra y se procedió a su desorción térmica en el inyector de cromatógrafo de gases a 250°C durante 2 minutos.

El análisis olfatométrico fue llevado a cabo por 5 catadores previamente entrenados con una disolución de entrenamiento con 7 compuestos de distinta naturaleza química y diferentes descriptores a una concentración de 20 ppm. Los compuestos son los que se presentan en la siguiente tabla:

*Tabla 1: compuestos estándar olfatométricos*

<b>Tiempo</b>	<b>Compuesto</b>	<b>Descriptor</b>
<b>8,21</b>	Isovalerato de etilo	Frutal, dulce, verde
<b>10,88</b>	1-octen-3ona	Champiñón, setas
<b>11,84</b>	Limoneno	Limón, naranja
<b>13,04</b>	Linalol	Floral, lavanda
<b>14,53</b>	Octanoato de etilo	Frutal, grasa
<b>16,85</b>	Eugenol	Clavo, miel
<b>17,43</b>	Vainillina	Dulce, caramelo

Para la olfatometría, el catador se situó en el puerto olfatométrico y anotó los aromas percibidos usando los descriptores que se consideró adecuados, así como el tiempo en el que se percibieron y su intensidad.

El análisis de datos se realizó pasando todos los datos a una hoja de cálculo, de manera que se pudieran ordenar los descriptores de todos los catadores en función del tiempo en el que se percibieron. Una vez ordenados, se procedió a agruparlos en función de los descriptores, tras agruparlos se estimó un tiempo medio y se calculó la frecuencia modificada con la intensidad y frecuencia:

$$FM(\%) = \sqrt{F(\%) * I(\%)}$$

Donde F es la frecuencia detectada en porcentaje e I es la media de la intensidad en porcentaje de la máxima intensidad (Campo et al, 2005).

Una vez calculada la frecuencia modificada, se seleccionaron aquellos compuestos cuya FM fue mayor o igual a 50% (Campo et al, 2005) y que sólo estaban presentes en las muestras sometidas a temperatura.

Para esos compuestos se calculó el índice de retención, para ello se inyectó una disolución de alcanos (entre C8 y C24) en las mismas condiciones cromatográficas de las muestras.

Para calcular el índice de retención de un compuesto se necesita saber su tiempo de retención y el tiempo de retención de los alcanos entre los que se encuentra el compuesto desconocido. A continuación se aplica la siguiente fórmula:

$$IR = 100n + 100 \frac{tr - tr(n)}{tr(N) - tr(n)}$$

Donde: n es el número de carbonos del alcano menor, tr el tiempo de retención del compuesto desconocido, tr (n) tiempo de retención del alcano menor y tr (N) tiempo de retención del alcano mayor.

Una vez calculado el índice de retención y comparando los espectros de masas de los compuestos detectados con los de la librería NIST, se procedió a la identificación de los compuestos responsables de los olores. Se consultó también la base de datos de Flavornet ([www.flavornet.org](http://www.flavornet.org)) que proporciona índices de retención en diferentes columnas cromatográficas y el aroma de un gran número de compuestos volátiles. Para confirmar los compuestos identificados se inyectaron mediante SPME disoluciones de los estándares que se disponían en el laboratorio a una concentración de 10 ppm en agua.

Tanto el test de migración como los análisis por HS-SPME-GC-O-MS se realizaron para el material 1 y el material 2.

## 4. Resultados y discusión

De los resultados obtenidos en los análisis realizados para ver que técnica mostraba mejores resultados se dedujo que la técnica que proporcionaba un perfil de volátiles más completo era la HS-SPME puesto que es donde se observó un mayor número de compuestos que diferenciaban las muestras con temperatura y las muestras sin temperatura. En los cromatogramas obtenidos con los extractos de metanol (figura 1) y diclorometano (figura 2) no se observaron apenas diferencias entre muestras con y sin temperatura.

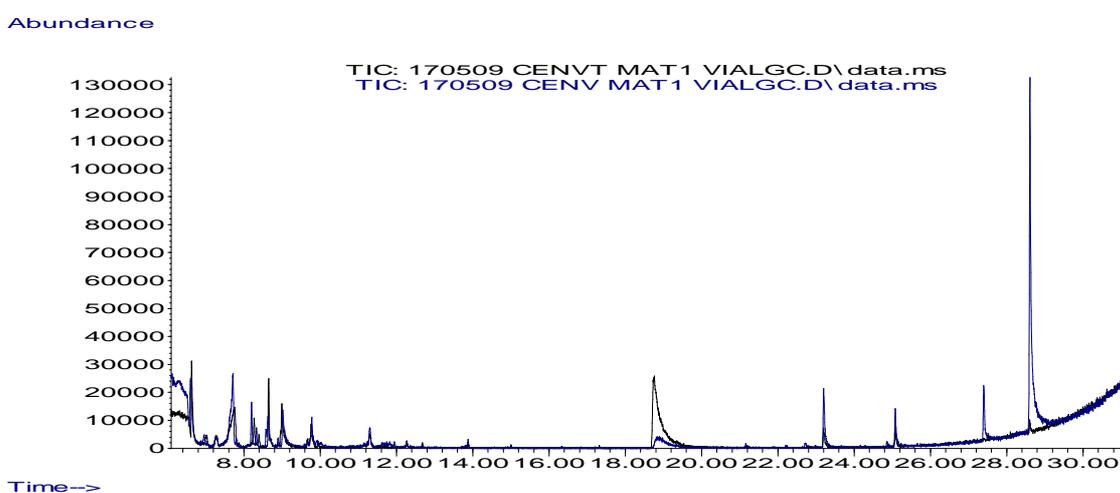


Figura 2: Cromatograma de un extracto con metanol de material con temperatura (línea negra) y material sin temperatura (línea azul)

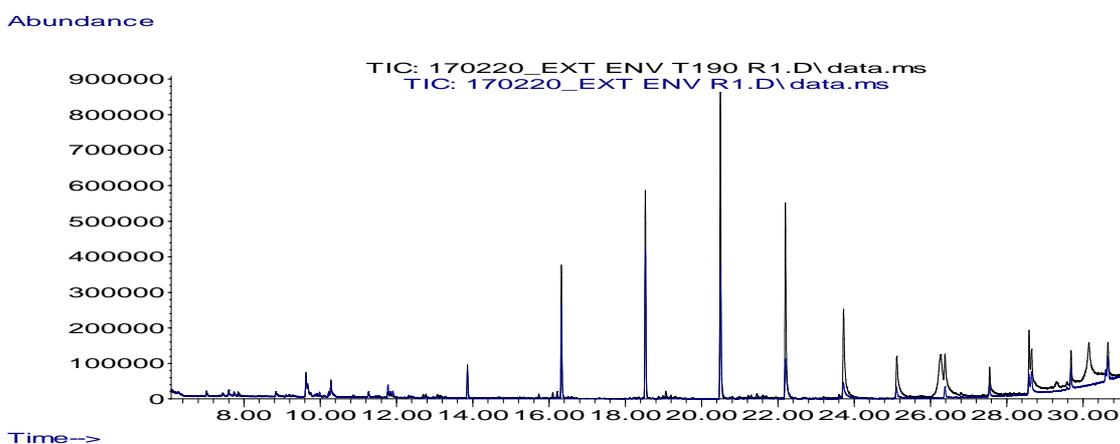


Figura 3: Cromatograma de un extracto con diclorometano, de material con temperatura (línea negra) y material sin temperatura (línea azul)

Algunos de los picos observados eran siloxanos procedentes del vial.

En la extracción con metanol solo se formó un compuesto el ester dimetílico de ácido 1,4-bencenodicarboxílico en el minuto 18,76 y en la extracción con diclorometano el tetradecanoato de metilo en el minuto 21,12 y el ftalato de diisooctilo en el minuto 28,59.

Los análisis de la muestra por HS-SPME se llevaron a cabo con 3 fibras de diferentes polaridades: fibra PDMS, fibra Carboxen/PDMS y fibra DVB/CAR/PDMS. De las tres fibras, la que mejores resultados dio fue la fibra de DVB/CAR/PDMS. Con esta fibra se obtuvo un alto número de compuestos diferentes entre las muestras con y sin temperatura distribuidos en todo el cromatograma y con mayor intensidad que en las otras dos fibras estudiadas. Se muestran a continuación los cromatogramas obtenidos con las diferentes fibras.

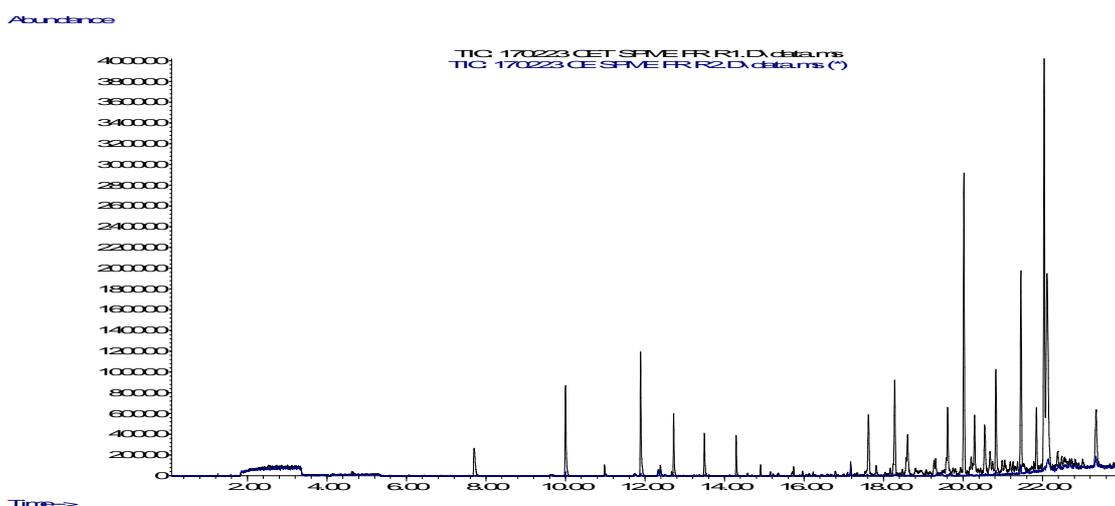


Figura 4: Cromatograma obtenido por HS-SPME (fibra PDMS) de muestras de material con (línea negra) y sin (línea azul) sin temperatura

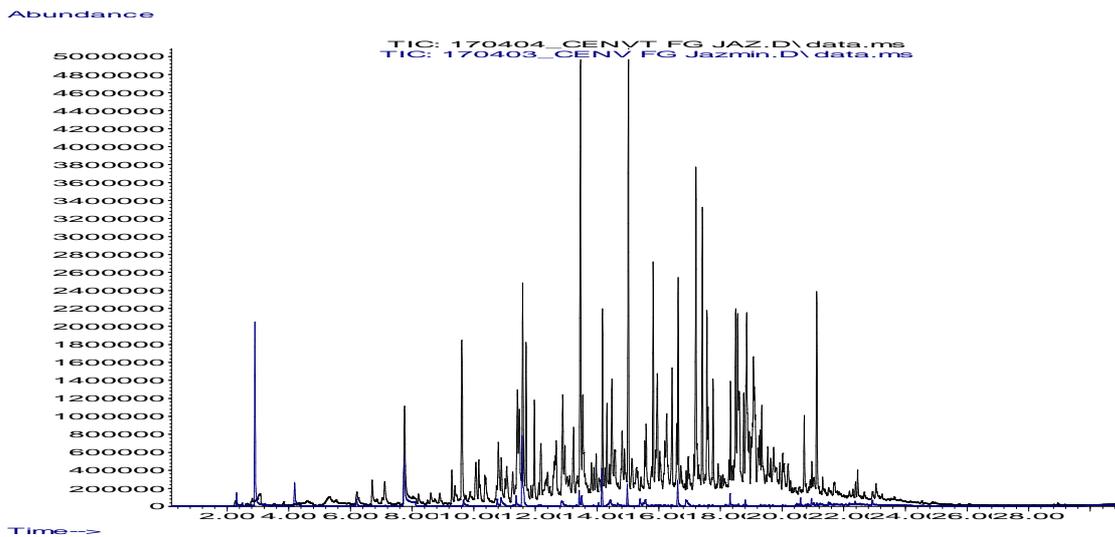


Figura 5: Cromatograma obtenido por HS-SPME (fibra DVB/CAR/PDMS) de muestras de material con (línea negra) y sin (línea azul) sin temperatura

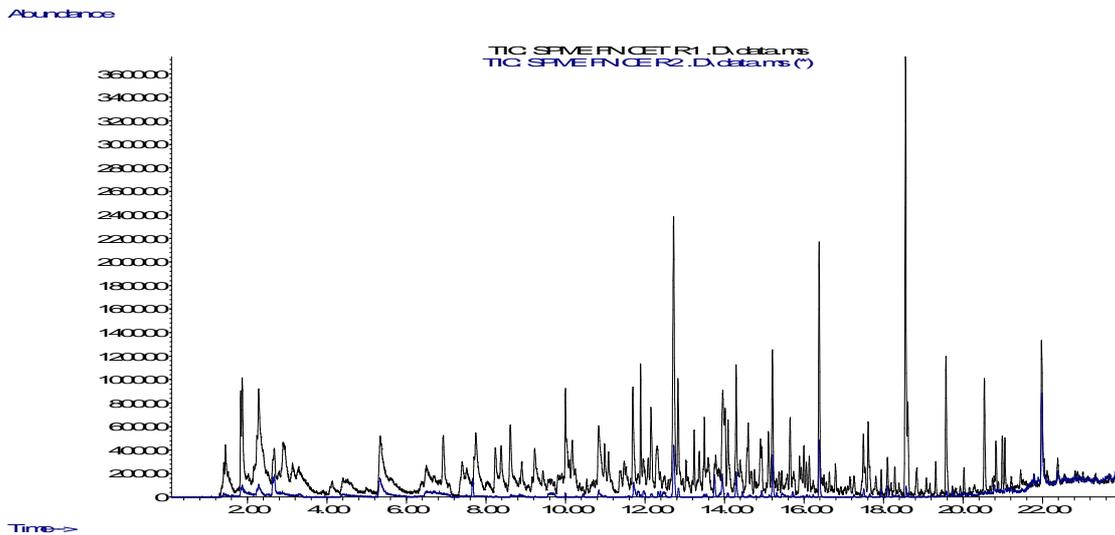


Figura 6: Cromatograma obtenido por HS-SPME (fibra Carboxen/PDMS) de muestras de material con (línea negra) y sin (línea azul) sin temperatura

Una vez seleccionada la mejor técnica de análisis y la fibra se procedió a la identificación de los compuestos formados en el tratamiento térmico siendo estos. La tabla 2 muestra los compuestos identificados únicamente en el material 1 sometido a tratamiento térmico y sus tiempos de retención (tr), índices de retención (IR), match y número CAS. Se consideró que un espectro se había identificado correctamente con la librería NIST si el match estaba por encima de 750. Se agruparon los compuestos en tres grupos según su intensidad, se le dio un valor de 3 a los compuestos con una

abundancia mayor de 4500000, de 2 para los compuestos con una abundancia mayor de 200000 y de 1 para los de mayor de 100000.

*Tabla 2: Compuestos identificados en el material 1 con temperatura*

tr (min)	IR	Int	Compuesto	Match	CAS
6,71	<800	<1	3-metil-2-butenal-	936	107-86-8
7,12	<800	<1	Hexanal	800	66-25-1
9,28	867	<1	5-metil-3-metilen-5-hexen-2-ona	838	51756-18-4
9,62	742	2	Acetato de 3-metilciclopentilo	815	24070-70-0
11,49	985	1	2-Pentilfurano	909	3777-69-3
11,70	996	2	Octanal*	926	124-13-0
11,96	1010	1	1-Buteniloxipentano	786	54004-25-0
12,75	1058	<1	(E)-2-Octenal*	756	2548-87-0
12,88	1067	1	1-Octanol	867	111-87-5
13,46	1103	3	Nonanal*	930	124-19-6
14,32	1159	1	(E)-2-Nonenal*	864	60784-31-8
14,48	1169	1	1-nonanol	848	143-08-8
15,02	1205	3	Decanal*	937	112-31-2
15,82	1262	2	(Z)-2-Decenal	878	2497-25-8
15,95	1271	1	Citral*	847	5392-40-5
16,26	1294	1	2-Octilfurano	806	4179-38-8
16,43	1306	1	Undecanal	860	112-44-7
17,20	1366	2	2-Undecenal	910	2463-77-6
17,40	1381	2	ni (mz: 84.1/127.1/128.1/101.1/ 95.1/109.1/69.1)	980	
17,56	1394	2	ni (mz: 84.1/127.1/128.1/101.1/ 95.1/109.1/69.1)	988	
17,76	1410	1	Dodecanal*	830	112-54-9
18,32	1454	1	6,10-Dimetilundeca-5,9-dien-2-ona (Geranil acetona)	872	689-67-8
18,49	1468	2	(E)-2-Dodecenal		
18,57	1474	1	1-Dodecanol	802	112-53-8
20,72	1661	1	Dihidrojasmonato de metilo	818	24851-98-7
22,46	1822	<1	Miristato de isopropilo	854	110-27-0

ni: no identificado; \*compuestos confirmados con estándar

Los compuestos con índice de retención 1381 y 1394 no pudieron ser identificados, en la tabla se muestran sus principales iones en su espectro de masas.

Los compuestos con una mayor intensidad en el cromatograma fueron el nonanal y el decanal, ambos confirmados con la inyección de su estándar.

Para el material 2 se ha obtenido el siguiente cromatograma con la fibra DVB/CAR/PDMS.

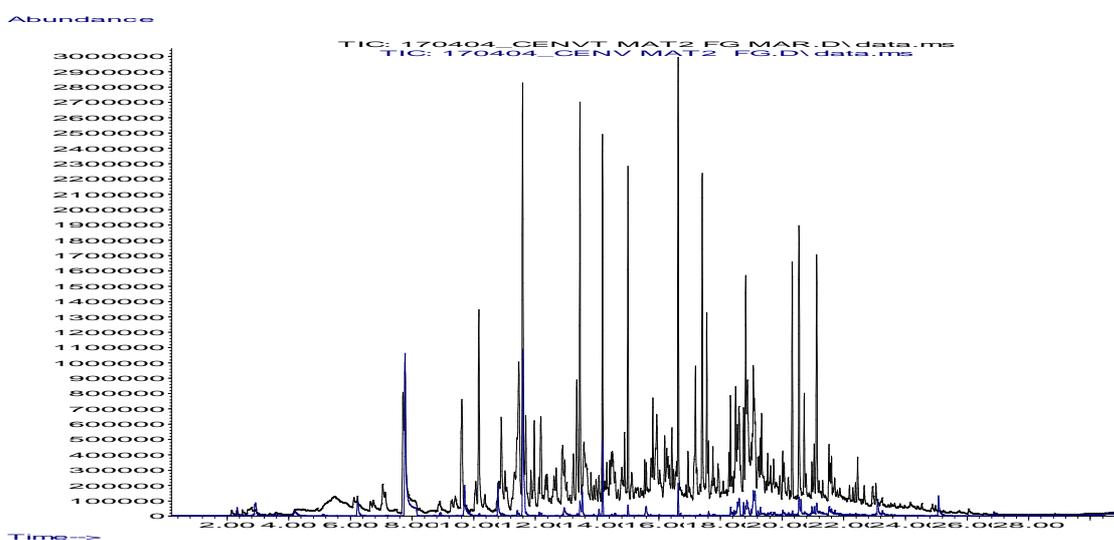


Figura 7: Cromatograma obtenido por HS-SPME (fibra DVB/CAR/PDMS) de muestras de material 2 con (línea negra) y sin (línea azul) sin temperatura

Y se han podido identificar los compuestos que se indican en la tabla 3, también muestra sus tiempos de retención (tr), índices de retención (IR), número CAS, match e intensidades.

Tabla 3: Compuestos identificados en el material 2 con temperatura

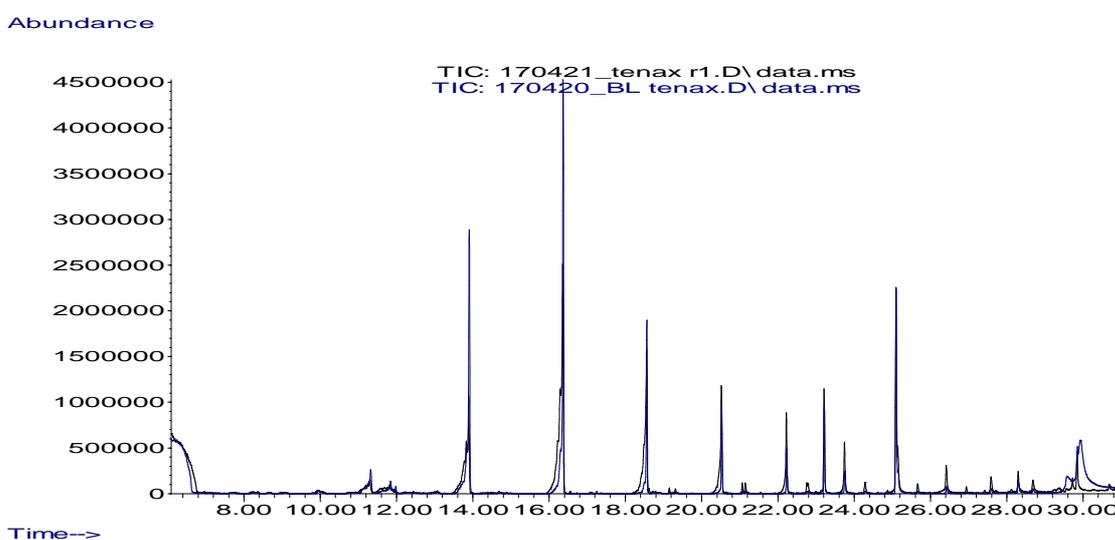
tr (min)	IR	Int	Compuesto	Match	CAS
9,62	742	1	Acetato de 3-metilciclopentilo	814	24070-70-0
10,9	953	<1	Benzaldehido	853	100-52-7
11,69	996	1	Octanal*	880	124-13-0
11,85	1004	<1	3-Careno	834	13466-78-9
13,46	1013	2	Nonanal*	930	124-19-6
14,89	1196	<1	Dodecano	805	112-40-3
14,98	1202	2	Decanal*	915	112-31-2
17,19	1366	1	2-Undecenal	864	2463-77-6
17,40	1381	2	ni (mz: 84.1/127.1/128.1/101.1/ 95.1/109.1/69.1)	980	
17,56	1394	1	ni (mz: 4.1/127.1/128.1/101.1/ 95.1/109.1/69.1)	988	
17,76	1410	<1	Dodecanal*	818	112-54-9
18,33	1454	<1	6,10-Dimetilundeca-5,9-dien-2-ona (Geranil acetona)	841	3796-70-1

20,33	1628	2	Laurato de isopropilo	930	10233-13-3
20,55	1647	2	Benzofenona*	934	119-61-9
20,72	1661	1	Dihidrojasmonato de metilo	815	24851-98-7
21,04	1668	1	1,3-di-iso-propilnaftaleno	800	
21,52	1732	1	1,3-di-iso-propilnaftaleno	853	
22,46	1822	<1	Miristato de isopropilo	847	110-27-0
22,94	1870	<1	7-Acetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralin	837	88-29-9

ni: no identificado; \*compuestos confirmados con estándar

Muchos de los compuestos detectados habían sido previamente detectados en el material 1. En esta muestra, los compuestos con más intensidad fueron también el nonanal y decanal, junto con el laurato de isopropilo y la benzofenona.

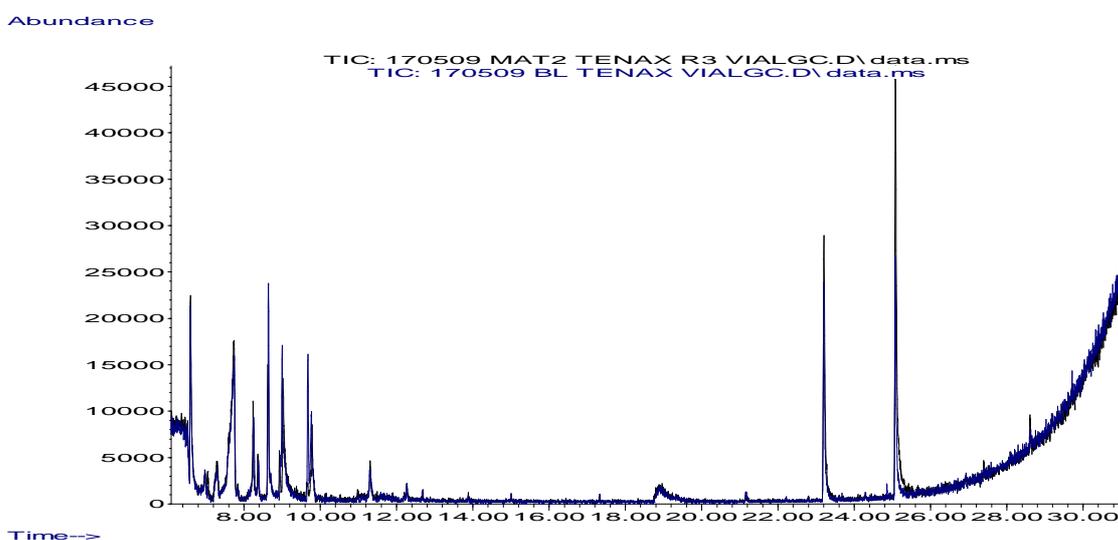
Los resultados obtenidos de los **ensayos de migración** en el material 1 con Tenax mostraron que fueron muy pocos los compuestos que migraron, ya que sólo se observó la presencia de octadecenoato de metilo, en el minuto 24,87. Este compuesto se utiliza como plastificante.



*Figura 8: Cromatograma de la migración en Tenax de muestras del material 1 sometidas a calentamiento (línea negra) y del blanco (línea azul)*

Algunos de los picos observados eran siloxanos procedentes del vial.

Para el material 2, no se observó ninguna migración. El único compuesto que se apreció fue un siloxano en el minuto 7,05 cuyo origen fuera probablemente el vial.



*Figura 9: Cromatograma de la migración en Tenax de muestras del material 2 sometidas a calentamiento (línea negra) y del blanco (línea azul)*

Sin embargo, como queda reflejado anteriormente en los resultados con SPME sí que se formaron numerosos compuestos, pero la mayoría de estos fueron volátiles y se ha demostrado con numerosos estudios que la migración de los volátiles al alimento calentado es un proceso ineficiente, sólo del 0,3% al 3% de los volátiles desprendidos se transfieren al alimento (Watson & Meah, 1995). Esto se debe probablemente a que el simulante no retuvo las sustancias volátiles y se disiparon.

En cuanto a las modificaciones organolépticas se obtuvieron los siguientes resultados:

En el **test triangular**, se obtuvo un total 30 resultados. Para 30 muestras y un alfa de 0,001 las respuestas correctas tienen que ser mayores de 19 (Meilgaard, Civille, & Carr, 1999). Los resultados correctos fueron 28, por lo que se concluyó que había diferencias significativas entre muestras sometidas a temperatura y muestras guardadas a temperatura ambiente.

Los descriptores que los analistas usaron para describir el olor fueron: plástico quemado, caucho, goma elástica, plástico bajo el sol, quemado, manguera, aceite quemado, alquitrán, cerrado y viejo.

En cuanto a la **olfatometría**, la tabla 4 muestra los odorantes que se encontraban sólo en el material con temperatura y con una frecuencia modificada mayor o igual del 50%.

*Tabla 3: compuestos odorantes presentes en el material tras sufrir el calentamiento con una frecuencia modificada mayor o igual al 50%.*

<b>IR</b>	<b>tr (min)</b>	<b>Descriptores</b>	<b>FM (%)</b>
<800	6,5	grasa, disolvente, plástico, taller, rueda, coche	65,32
801	8,02	disolvente, químico, metálico, plástico, nuevo quemado	51,10
824	8,47	dulce, agrio, almendra, rancio, floral, dulce frutal, animal	73,03
858	9,1	caucho, grasa, aldehído	65,32
912	10,13	chuchería salada, palomitas, queso	56,57
944	10,72	floral, patata, pepino, agradable	76,38
1048	12,57	flor, limón, verde	51,60
1058	12,73	patatas bolsa, bicho, maíz, mal, gas	59,16
1073	12,97	metálico, punzante, mal, gas, caucho quemado	50,00
1077	13,05	frutal, clavo, champiñón	59,16
1085	13,18	quemado, pica	52,44
1105	13,5	regaliz negro, herbal, maíz, almendra, aceite coche	84,98
1206	13,03	infusión, limón, lavanda, velo	54,77
1239	15,5	floral, pepino	63,25
1266	15,87	insecto, coco, herbal, cítrico	55,78
1321	16,62	insecto, bicho, tostado	57,74
1370	17,25	dulce, raro, mal	59,63
1397	17,6	limón, mal, lavanda, floral, oruga	66,67
1466	18,47	dulce, flores, fresa madura	66,67

De todos ellos los compuestos que se han podido identificar teniendo en cuenta el índice de retención, la base de datos de Flavornet y los espectros de masas son los que se describen en la tabla:

Tabla 4: Compuestos identificados responsables de los aromas

IR	t (min)	Descriptor	Compuesto	Match	CAS	Descriptor (flavornet)	IR (flavornet)
<800	6,24	grasa, disolvente, plástico, taller, rueda, coche	tolueno	881	108-88-3	pintura	773
1058	12,75	patatas bolsa, bicho, maíz, mal, gas	(E)-2-Octenal*	746	2548-87-0	verde, fruto seco, grasa	1060
1073	12,85	metálico, punzante, mal, gas, caucho, quemado	1-Octanol	805	111-87-5	químico, metal, quemado	1072
1077	12,96	frutal, clavo	Oxido de linalol	779	5989-33-3	flores	1070
1105	13,46	herbal, maíz, almendra, aceite coche	Nonanal*	930	124-19-6	grasa, verde, cítrico	1104
1206	15,01	infusión, limón, lavanda, velo	Decanal*	937	112-31-2	sopa, sebo, piel naranja	1209
1266	15,82	insecto, coco, herbal, cítrico	(Z)-2-Decenal	910	2497-25-8	naranja, sebo	1250
1370	17,21	dulce, raro, mal	2-Undecenal	914	2463-77-6	acre, dulce, aceite	1366
1466	18,5	dulce, flores, fresa madura	(E)-2-Dodecanal	793	4826-62-4	Verde, grasa, dulce	1462

\*compuestos confirmados con estándar

Los resultados muestran que los aldehídos fueron los compuestos con mayor impacto aromático en las muestras sometidas a alta temperatura, siendo el nonanal el compuesto con mayor frecuencia modificada (84,9%). Los compuestos detectados en el cromatograma con índices de retención 1384 y 1391 también tuvieron impacto aromático en la cromatografía por lo que su futura identificación es importante. La olfatometría permitió también detectar compuestos con impacto aromático que debido a su baja intensidad en el cromatograma no habían sido considerados inicialmente como compuestos diferenciadores entre muestras con y sin temperatura, tales como el óxido de linalol. Por otro lado, compuestos con mayor intensidad en el cromatograma mostraron un impacto menor, lo que confirma el alto valor de esta técnica para el análisis del perfil aromático de una muestra.

## 5. Conclusiones

- La mejor técnica para analizar el perfil de volátiles de los materiales estudiados fue la HS-SPME-GC-MS puesto que fue donde se observaron más diferencias entre las muestras con o sin temperatura. Esto se debió a que la mayoría de compuestos eran muy volátiles y a la alta capacidad de preconcentración de la SPME. Esta técnica además requiere muy poca manipulación del material, lo que constituye una gran ventaja.
- La mejor fibra de SPME para detectar los compuestos que diferenciaban las muestras antes y después de haber sido sometidas a temperatura fue la 50/30µm DVB/CAR/PDMS, ya que fue la fibra con la que más compuestos se identificaron.
- La mayor parte de los compuestos que estaban presentes en el material sólo tras haber sido sometido a alta temperatura eran aldehídos, tales como el octanal, decanal, 2-Decenal, (Z)-2-Undecenal o 2-dodecenal.
- Del test triangular se dedujo que había diferencias significativas sensoriales entre las muestras con y sin temperatura. El material al calentarlo emitía un olor desagradable a plástico quemado.
- En la olfatometría se percibieron 21 zonas aromáticas con valores de frecuencia modificada mayores al 50%. De ellos, 9 pudieron ser identificados, siendo aldehídos en su mayor parte. El nonanal fue el compuesto con la mayor frecuencia modificada, 84,9% y por tanto uno de los principales responsables de las modificaciones en el aroma del material.
- El ensayo de migración mostró que la migración de compuestos fue mínima lo que se puede deber a la naturaleza volátil de los compuestos.
- Comparando los dos materiales se observó a que el efecto de la temperatura provocó en ambos la aparición de compuestos de naturaleza similar.

## 6. Conclusions

- The best technique for analyzing the volatile profile of the studied materials was the HS-SPME-GC-MS, since more differences between the samples with or without temperature were observed. This was due to the fact that the majority of compounds were very volatile and to the high preconcentration capacity of the SPME. This technique also requires very little manipulation of the material, which is a great advantage.
- The best SPME fiber to detect the compounds that differentiated the samples before and after they were subjected to temperature was the 50/30 $\mu$ m DVB/CAR/PDMS, since it was the fiber with which most compounds were identified.
- Most of the compounds that were present in the material only after being subjected to high temperature were aldehydes, such as octanal, decanal, 2-Decenal, (Z) -2-Undecenal or 2-dodecenal.
- From the triangular test it was concluded that there were significant sensorial differences between the samples with and without temperature. The material upon heating emitted an unpleasant odor of burnt plastic.
- In olfactometry, 21 aromatic zones with modified frequency values greater than 50% were detected. Nine zones could be identified, being mostly aldehydes. The nonanal was the compound with the highest modified frequency, 84,9%.
- The migration test showed that the migration of compounds was minimal which could be due to the volatile nature of the compounds.
- Comparing the two materials it was observed that the effect of temperature led to the formation of compounds of similar nature.

## **7. Aportaciones en materia de aprendizaje**

Con este trabajo he ganado autonomía en el laboratorio, además he podido utilizar equipos que no había utilizado antes y he conocido técnicas de análisis nuevas relacionadas con la cromatografía de gases, la espectrometría de masas y la olfatometría.

Además me ha permitido conocer muchos aspectos relacionados con la migración del envase al alimento, tales como legislación relacionada, ensayos de migración y el mecanismo por el que se rige. Aspectos que no se han desarrollado con detalle a lo largo del grado.

Finalmente, me ha servido para la adecuada búsqueda de artículos científico y selección y síntesis de la información.

## 8. Bibliografía

Alin, J. (2012). *Migration from plastic food packaging during microwave heating*. Stocolm: KTH Chemical Science and Engineering.

Avelino, M., André, L., & Cardeal, Z. (2015). Analysis of plasticiser migration to meat roasted in plastic bags. *Food Chemistry* (178), 195-200.

Aznar, M., Vera, P., Canellas, E., Nerín, C., Mercea, P., & Stormer, A. (2011). Composition of the adhesives used in food packaging multilayer materials and migration studies from packaging to food. *Journal of Materials Chemistry* (21), 4358-4370.

Barnes, K. A., Sinclair, C. R., & Watson, D. (2007). *Chemical migration and food contact materials*. Cambridge: CRC.

Bhunja, K., Sablami, S. S., Tang, J., & Rasco, B. (2013). Migration of Chemical Compounds from Packaging Polymers during Microwave, Conventional Heat Treatment, and Storage. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12, 523-545.

Bustos, J. (6 de junio de 2013). Ensayos de migración específica en simulante E para alimentos secos (tenax). Centro Nacional de Alimentación.

Campo, E., Ferreira, V., Escudero, A., Marqués, J. C., & Cacho, J. (2005). Quantitative gas chromatography–olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of four Madeira wines. *Analytica Chimica Acta* .

Castle, L. (1994). *Ensayos de migración para plásticos en contacto alimentario en aplicaciones de akta temperatura*. Watson D.H. y Meah M.N.

Catalá, R., & Gavara, R. (2002). *Migración de componentes y residuos de envases en contacto con los alimentos*. Valencia: Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC.

Dixon, J. (2011). Multilayer Packaging for Food and Beverages. En ILSI, *Packaging Materials* (Capítulo 9). Bruselas: ILSI (International Life Sciences Institute).

Harris, D. C. (1995). *Análisis químico cuantitativo*. California: Editorial Reverté, SA.

Meilgaard, Civille, & Carr. (1999). *Sensory evaluation techniques*. New York: CRC.

Muñoz, L. A. (2011). *Aplicación de la cromatografía de gases-olfatometría en la caracterización del aroma del vinagre del vino, de los pistachos y del aceite de oliva*. Tarragona: Universidad de Tarragona.

Pawliszyn, J. (2000). Solid-Phase Microextraction. *Solvent Based Separation* , 1416-1421.

Reglamento (CE) N° 1935/2004 del Parlamento Europeo y del consejo del 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos.

Reglamento (CE) N° 2023/2006 de la Comisión del 22 de diciembre de 2006 sobre buenas prácticas de fabricación de materiales y objetos destinados a entrar en contacto con los alimentos.

Reglamento (CE) N° 10/2011 de la Comisión del 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos.

UNE-EN 14338 19. Papel y cartón para contacto alimentario. Condiciones para la determinación de la migración desde el papel y cartón utilizando óxido de polifenileno modificado (MPPO) como simulante

Vera, P. (2013). *Estudio de adhesivos en envase alimentario: desarrollo de métodos de análisis, difusión y migración de sus componentes a los alimentos envasados*. Zaragoza: Universidad de Zaragoza.

Watson, D., & Meah, M. (1995). *Revisiones sobre ciencia y tecnología de los alimentos: volumen II (Migración de sustancias químicas desde el envase al alimento)*. Zaragoza: Acribia.