



Facultad de Veterinaria  
**Universidad Zaragoza**



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

ESTUDIOS ANALÍTICOS PARA EVALUAR LA INTERACCIÓN ENVASE-ALIMENTO

ANALYTICAL STUDIES TO EVALUATE THE INTERACTION BETWEEN PACKAGING AND FOOD

**Autora:**

LUCÍA COELLO ADIEGO

**Directoras:**

MARÍA CELIA DOMEÑO RECALDE

MARGARITA PILAR AZNAR RAMOS

Facultad de Veterinaria

2019/2020

---

# Índice

1. RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1. LOS ACEITES MINERALES.....	3
2.2. FUENTES DE CONTAMINACIÓN.....	5
2.3. MARCADORES DE LOS ACEITES MINERALES.....	6
2.4. TINTAS.....	7
2.5. TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ACEITES MINERALES.....	9
3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	10
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	11
4.1. REACTIVOS.....	11
4.2. INSTRUMENTACIÓN.....	12
4.3. OPTIMIZACIÓN DE LA FIBRA.....	13
4.4. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE INYECCIÓN.....	16
4.5. DISEÑO DEL MÉTODO SCAN.....	16
4.6. DISEÑO DEL MÉTODO SIM.....	17
4.7. CÁLCULO DEL LÍMITE DE DETECCIÓN (LD) Y CUANTIFICACIÓN (LC).....	17
4.8. RECTAS DE CALIBRADO.....	19
4.9. MUESTRAS ANALIZADAS.....	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
5.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO HS-SPME-GC-MS.....	20
5.2. RESULTADOS SIM.....	22
5.3. RESULTADOS SCAN.....	27
6. CONCLUSIONES.....	31
CONCLUSSIONS.....	32
7. VALORACIÓN PERSONAL.....	33
8. BIBLIOGRAFÍA.....	34
9. ANEXOS.....	38
ANEXO I.....	38
ANEXO II.....	41
ANEXO III.....	46
ANEXO IV.....	47
ANEXO V.....	50

## **1. RESUMEN.**

Cada vez son más las personas que se preocupan por el consumo de alimentos envasados debido a una posible contaminación por la migración de compuestos químicos del envase al alimento. Estos envases suelen estar hechos con materiales multicapa, en los que además del polímero podemos encontrar otros componentes como tintas, adhesivos o barnices.

Entre los compuestos de interés se encuentran los hidrocarburos de aceites minerales (MOHs) provenientes de distintos envases plásticos alimentarios. Estos pueden provenir de diversas fuentes, pero además se utilizan en las tintas de impresión y adhesivos que forman parte de los envases alimentarios.

Dentro de los MOHs, se distingue la fracción de hidrocarburos saturados (MOSH) y la de hidrocarburos aromáticos (MOAH). El estudio se va a centrar en estos últimos debido a la gran toxicidad que supone su ingesta. Para ello, se va a optimizar un método de análisis mediante HS-SPME-GC-MS (Microextracción en Fase Sólida por Espacio de Cabeza, Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas) y se van a utilizar dieciséis marcadores de MOAH como indicadores de contaminación. Mediante un análisis en modo SIM se cuantificarán estos compuestos en diferentes sets de muestras de materiales de envase multicapa en los que habían utilizado diferentes tecnologías para la aplicación de las tintas (flexografía y huecoreverso). Por otro lado, se llevó a cabo paralelamente un análisis en modo SCAN para identificar compuestos de otras familias diferentes a los MOHs que pudiesen provenir de las tintas o adhesivos utilizados en los materiales.

## **ABSTRACT.**

More and more people are concerned about the consumption of packaged food due to possible contamination due to the migration of chemical compounds from the packaging to the food. These containers are usually made with multilayer materials, in which in addition to the polymer we can find other components such as inks, adhesives or varnishes.

Among the compounds of interest are mineral oil hydrocarbons (MOHs) from different plastic food containers. These can come from various sources, but they are also used in printing inks and adhesives that are part of food packaging.

Within the MOHs, the fraction of saturated hydrocarbons (MOSH) and that of aromatic hydrocarbons (MOAH) are distinguished. The study is going to focus on the latter due to the

great toxicity of their intake. For this, an analysis method will be optimized using HS-SPME-GC-MS (MS Microextraction in Solid Phase by Headspace, Gas Chromatography and Mass Spectrometry) and sixteen MOAH markers will be used as contamination indicators. Through an analysis in SIM mode, these compounds will be quantified in different sets of samples of multilayer packaging materials in which they had used different technologies for the application of the inks (flexography and reverse hue). On the other hand, an analysis in SCAN mode was carried out in parallel to identify compounds from families other than MOHs that could come from the inks or adhesives used in the materials.

## **2. INTRODUCCIÓN.**

### **2.1. LOS ACEITES MINERALES.**

Los aceites minerales son productos compuestos en su mayoría por hidrocarburos (MOH), derivados principalmente de la destilación del petróleo crudo. Sin embargo, también se pueden producir hidrocarburos sintéticamente a partir del carbón, gas natural y biomasa, es decir, pueden formarse de manera natural a partir de bacterias, hongos, organismos marinos, plantas e insectos, y en el procesado de algunos alimentos, como tratamientos térmicos, refinados de aceites, etc.

Tienen numerosas utilidades comerciales, en las que se incluyen: aditivos alimentarios, piensos, productos fitosanitarios, materiales en contacto con los alimentos, usos en la medicina, lubricantes, tintas de impresión, etc.

Los MOH pueden estar presentes en los alimentos, o por vía directa a través de los materiales de embalaje mediante el contacto directo, el uso de aditivos alimentarios y coadyuvantes tecnológicos, lubricantes de la maquinaria empleada durante la cosecha y producción de alimentos, etc., o bien como consecuencia de la contaminación ambiental. Todos estos usos pueden suponer una fuente de exposición para los consumidores según la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN, 2017).

En los aceites minerales se encuentran tres clases principales de hidrocarburos:

- Parafinas (alcanos lineales y ramificados)
- Naftenos (cicloalcanos con sustituyentes alquílicos)

- Aromáticos (incluyendo hidrocarburos aromáticos policíclicos HAPs alquil sustituidos, con cantidades pequeñas de HAPs).

Sin embargo, también pueden contener pequeñas cantidades de compuestos nitrogenados y azufrados.

Según la opinión científica emitida por el Panel de Contaminantes de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) de 2020 sobre la evaluación del riesgo de los aceites minerales, estos se agrupan en dos categorías:

- Aceites minerales saturados (MOSH: *Mineral Oils Saturated Hydrocarbons*), que comprenden los grupos de parafinas y naftenos. Son de cadena abierta.
- Aceites minerales aromáticos (MOAH: *Mineral Oils Aromatic Hydrocarbon*). Pueden contener azufre.

Cabe destacar que la EFSA ha tenido en cuenta, para la evaluación del riesgo, hidrocarburos con un número de átomos de carbono comprendido entre 10 y 50.

Se encuentran entre los productos comerciales de los que se posee poca información sobre su composición química, ya que sus especificaciones suelen referirse a las propiedades relacionadas con el uso al que se destinan, como las propiedades físico-químicas y la viscosidad, entre otras. Los productos pueden tener la misma especificación, pero distinta composición química dependiendo de la fuente del aceite y su procesado. Los aceites minerales de grado alimentario se tratan de forma que el contenido de hidrocarburos aromáticos sea mínimo.

Según la Recomendación (UE) 2017/84 de la Comisión, de 16 de enero de 2017, sobre la vigilancia de hidrocarburos de aceites minerales en alimentos y en materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos, se considera que, en los alimentos, los MOH son tratados de manera que se reduzca al mínimo el contenido de hidrocarburos aromáticos de aceites minerales (MOAH). Esto es debido a los posibles efectos de los MOH sobre la salud humana. Los MOAH pueden actuar como carcinógenos y genotóxicos, mientras que algunos MOSH se acumulan en los tejidos humanos y pueden causar efectos nocivos en el hígado. Es por esto por lo que es importante organizar la vigilancia de los MOH para entender mejor la presencia de MOSH y MOAH en los productos alimenticios que más contribuyen a la exposición alimentaria.

Los hidrocarburos saturados pueden acumularse en los tejidos grasos humanos. Se detectaron MOSH con una cadena de carbono hasta C45 y se cuantificó en los órganos de ratas (hígado,

bazo). Los MOSH con una cadena de carbono por debajo de C16 no se acumulan en el cuerpo humano.

Según el Dictamen de la EFSA de 2012, se identifica la exposición humana a hidrocarburos de aceites minerales de diferentes fuentes entre 0,03 y 0,3 mg de MOH/kg de peso corporal, siendo más alta en los consumidores más jóvenes que en los adultos y ancianos, suponiendo que aproximadamente solo el 20% de esta ingesta proviene de MOAH. La estimación más elevada de los grandes consumidores se encontró en niños de 3 a 10 años, contribuyendo significativamente en su exposición total la migración procedente de los materiales de envasado de papel y cartón reciclado, es decir, los fabricados con fibras recicladas, por los posibles efectos sobre la salud humana (Muncke, 2013).

Según el estudio del Instituto Federal de Evaluación de Riesgos (BfR, 2019) se ha definido un valor de 12 mg/kg de alimento para MOSH con una cadena de carbono de C10 a C16 como valor de referencia para una migración tolerable de papeles, cartones o cartones hechos con fibras recicladas. Para una longitud de cadena de C16 a C20, se estableció un nivel de migración tolerable de 4 mg/kg de alimento. Hasta ahora no se ha definido ninguna migración tolerable para las otras fracciones debido a la falta de datos toxicológicos.

Aun así, no ha sido posible establecer un valor de Ingesta Diaria Admisible (IDA), ya no se ha considerado adecuados los valores de las IDA tomados como referencia en el estudio del Panel de la EFSA (EFSA, 2017).

Según un estudio de la EFSA sobre migración de aceites minerales en alimentos envasados con papel y cartón reciclados, se demuestra que cuando no se utilizaban barreras funcionales (recubrimientos que impidan migrar) existía una transferencia significativa hacia los alimentos.

Los materiales reciclados se pueden utilizar en todas las etapas de la cadena de suministro de alimentos (producción, almacenamiento y procesamiento de materias primas, transporte, refinado, producción y comercio). Por tanto, los puntos de entrada de estos contaminantes son posibles en cualquiera de esas etapas.

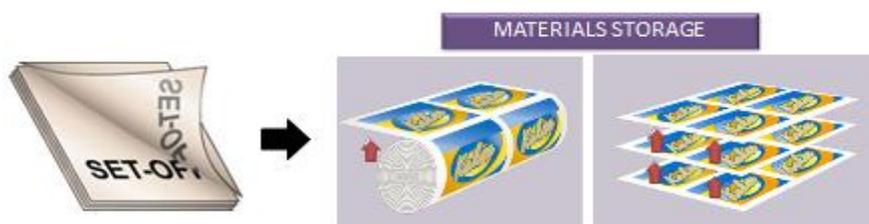
## **2.2. FUENTES DE CONTAMINACIÓN.**

Según el panel de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN, 2020), se han identificado las fuentes de contaminación de aceites minerales en los alimentos. Estas

fuentes son los materiales en contacto con los alimentos como, por ejemplo, tintas de impresión en papel y cartón, lubricantes para la fabricación de latas de conserva, adhesivos, etc.

Algunos parámetros, como el tiempo de conservación y las condiciones de almacenamiento, pueden incrementar la migración de los MOH del embalaje a los alimentos. Dado que los MOH son más fáciles de detectar en grandes cantidades, en la estrategia de muestreo se deben de tener en cuenta esos parámetros cuando su migración es la más alta.

En lo referente a las tintas se encuentran ciertos problemas con el fenómeno set off. Este se produce porque los materiales de envases flexibles, como puede ser la tapa de un yogur, se guardan en rollos. Durante su almacenamiento, la cara interna del material, que estará en contacto con el alimento, entra a su vez en contacto con la cara externa, donde se encuentran las tintas, de forma que los compuestos presentes en las tintas podrán ser transferidos a la cara interna del material (Portal Graf, 2017) (La imprenta, 2019).



**Figura 1: Imagen explicativa de la impresión set off.**

Los aceites minerales también pueden proceder de la maquinaria empleada en la cosecha, como diésel y aceite lubricante; así como de aceites lubricantes utilizados en el sector industrial y de agentes de limpieza a base de disolventes con aceites minerales.

Por último, otras fuentes de contaminación son los aditivos alimentarios, coadyuvantes tecnológicos y otros usos: antiadherentes, aceites para recubrimiento de alimentos, aceites minerales en piensos, antiespumantes, ceras parafínicas autorizadas, coformulantes de productos fitosanitarios y agentes antipolvo en cereales.

### **2.3. MARCADORES DE LOS ACEITES MINERALES.**

Como ya se ha explicado anteriormente, hoy en día es imposible analizar individualmente cada compuesto que forma parte del grupo de hidrocarburos de los aceites minerales. Por tanto, se han seleccionado una serie de posibles marcadores con la finalidad de detectar, identificar y

cuantificar los hidrocarburos aromáticos procedentes de las muestras de distintos envases alimentarios empleando la técnica GC-MS.

Los MOAH con tres anillos aromáticos pueden ser genotóxicos, por lo que es necesario desarrollar un método analítico para MOAH con más de un anillo aromático, pudiendo proponer o recomendar un límite (Maes et al., 2019).

Se recomendaron el Antraceno y el Perileno como marcadores de aceites minerales, pero no fueron suficientes. Normalmente, para demostrar la presencia de MOAH se utilizaban las relaciones m/z (masa/carga) tales como 91, 105, 113 y 119 para su identificación en un Detector de Masas, pero estas masas coincidían con muchas sustancias naturales como terpenos, fitoesteroles, olefinas y carotenoides.

Estas sustancias pueden interferir con el análisis espectral de masas y aumentar el valor de la detección señal, provocando una sobreestimación de los resultados en el análisis MOAH.

Se han mostrado resultados concluyendo que los marcadores químicos son necesarios para llegar específicamente a la fuente de contaminación y su relación con los aceites minerales (Spack et al., 2017).

#### **2.4. TINTAS.**

Actualmente, las tintas de impresión se fabrican a base de pigmentos, aceites vegetales y de aceites minerales. Esto es debido a la mejoría en cuanto al rendimiento, es decir, la capacidad de la tinta para imprimir un número determinado de pliegos.

Las tintas de impresión para envases de alimentos no están cubiertas por ninguna legislación específica de la UE. Por lo tanto, se siguen las Directrices de European Printing Ink Association sobre tintas de impresión aplicadas a las superficies de materiales y envases que están en contacto con los alimentos. Las tintas para envases se formulan y fabrican de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación de EuPIA, teniendo en cuenta muchos parámetros individuales y variables relacionados con el sustrato, la aplicación y el uso final con el fin de minimizar el potencial de migración de los componentes de la tinta a los alimentos y permitir que el envase final cumpla con los requisitos legales del Reglamento (CE) nº 1935/2004 (EuPIA, 2019).

Las tintas de impresión que se utilizan comúnmente en materiales plásticos multicapa utilizados para el envasado de alimentos presentan compuestos que pueden migrar a dichos alimentos por difusión a través de las multicapas y por el fenómeno del "set-off", explicado anteriormente. Para evitar este problema, el diseño correcto del embalaje es fundamental. Se ha estudiado la

seguridad por diseño de materiales multicapa (Domeño et al., 2017), determinando la migración de 4 multicapas diferentes fabricadas con tereftalato de polietileno (PET), aluminio (Al) y polietileno (PE). Las diferencias estructurales entre los materiales, como la presencia de tintas o revestimientos de laca, así como las diferencias entre la posición de las capas, permitieron el estudio de enfoque de la seguridad por diseño.

Así pues, según Domeño et al., se puede conocer la importancia de la seguridad del enfoque de diseño al fabricar materiales en contacto con los alimentos, particularmente si el material final es un impreso multicapa. Se concluye que, con el uso apropiado de la estructura y el barniz correcto, se puede prevenir o disminuir considerablemente el problema de “set-off” de modo que los materiales finales cumplan con la legislación de la UE para materiales en contacto con los alimentos.

Según el dossier de Food Packaging Forum de 2017, las capas que actúan como barrera en la superficie interna del envase minimizan la migración de compuestos, recomendando su uso ya que se reduce la migración en un 99% y garantiza que ninguna sustancia desconocida alcance una concentración que pueda poner en peligro la salud del consumidor, recomendando los materiales PA y PET como barreras protectoras contra la migración de aceite mineral.

En cuanto a la migración de las tintas, el sector alimentario europeo (Food and Drink Europe) ha presentado una ‘caja de herramientas’ (BLL, 2019) para la prevención de la transferencia de hidrocarburos de aceites minerales a los alimentos. Informan sobre las tintas de impresión, entre otras fuentes, y sus correspondientes rutas de entrada o las causas de esta. En cuanto a la entrada de MOSH/MOAH por envases primarios, se recomienda utilizar tintas de baja migración y sin aceite mineral, evitando el arrastre de tintas que contienen aceite mineral en la empresa de imprentas (en los soportes de aceite mineral que contienen tintas de otros procesos de impresión durante la reconfiguración de la máquina en la empresa de impresión, por ejemplo), aplicando en todo momento las “Buenas Prácticas de Fabricación”. También se recomienda utilizar la barrera funcional con envase con impresión interior, usando tintas de impresión sin aceite mineral para la impresión en el interior también, teniendo cuidado con los falsos positivos en los resultados de las tintas de impresión sin aceite mineral causados por sustancias asociadas con agentes aglutinantes. Por último, se recomienda evitar el contacto de superficies impresas con superficies de contacto con alimentos con la impresión según estipula el Reglamento nº2023/2006.

## 2.5. TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE ACEITES MINERALES.

El análisis de los MOH es complejo al no existir patrones analíticos certificados que sean de aplicación general, y separarlos mediante cromatografía de gases, que es la técnica habitual, es muy difícil. Por este motivo en lugar de picos individuales en el cromatograma suelen detectarse jorobas de señal que engloban y enmascaran un grupo de compuestos que no tienen por qué corresponder sólo a aceites minerales. Dichas jorobas se producen y los datos se malinterpretan como MOSH en los alimentos y se consideran exclusivamente como "contaminación por aceite mineral", dando lugar a conclusiones injustificadas e incorrectas, y a sobrestimar la concentración.

Según el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), la cromatografía de gases es una técnica que permite separar una gran cantidad de compuestos de las tintas, aun estando en concentraciones muy bajas. Consiste en introducir la muestra en forma de gas en la cabeza de una columna cromatográfica, la cual separa los compuestos según la interacción de estos con la fase estacionaria de dicha columna. Así pues, la muestra es arrastrada por un flujo de gas portador inerte, normalmente Helio (He), que es la fase móvil. De esta manera, los compuestos de las muestras interactúan con la fase estacionaria de la columna produciéndose la retención de los analitos. La muestra separada por la columna sale hacia un detector, el cual detecta y cuantifica dicha muestra emitiendo una señal proporcional a la concentración de analitos. Dicho detector acoplado al equipo es un espectrómetro de masas, encargado de generar la señal correspondiente.

Lo que se realiza para el análisis en la mayoría de las investigaciones científicas, es una extracción seguida de una pre-separación mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada con un cromatógrafo de gases con un detector de ionización de llama (HPLC-GC-FID). Sin embargo, cuenta con el inconveniente de tener un alto coste y la necesidad de conectar dos equipos en serie (HPLC-GC) algo que no es accesible para la mayoría de los laboratorios.

Otra opción que se investiga es utilizar la cromatografía de gases, usando como detector un espectrómetro de masas (GC-MS), con alguna etapa previa de separación. Esto unido al uso de marcadores individuales de MOAHs puede solucionar problemas detectados en el análisis.

Así pues, para este trabajo se empleó la técnica de análisis SPME-GC-MS (microextracción en fase sólida, cromatografía de gases y espectrometría de masas), que permite analizar una muestra sólida directamente sin el empleo de disolvente. Consiste en una técnica de microextracción en fase sólida (con una fibra SPME) en modo headspace (HS, espacio de cabeza)

y los métodos empleados para la separación e identificación de los compuestos fueron cromatografía de gases (GC) con detector de espectrometría de masas (MS).

Existen diferentes métodos de inyección, como por ejemplo el “Headspace”, con “Fibra SPME”, utilizado debido a su alta sensibilidad y tolerancia al agua, y la “inyección directa” en el que se emplea una jeringa de líquidos, pero se deteriora con una concentración de agua superior al 20%.

Se evitó realizar una previa extracción de los polímeros con un solvente (como el diclorometano, acetonitrilo) y concentrarlo para tener suficiente sensibilidad porque requiere mucho tiempo, mucho tratamiento de la muestra y es menos sensible que la técnica mediante SPME.

Cabe destacar que el muestreo por HS evita que los residuos no volátiles de la muestra entren en el Cromatógrafo de Gases, manteniéndolos en un vial y transfiriendo los componentes volátiles al inyector y columna (Cromlab S.L, 2015).

La microextracción en fase sólida (SPME) ha experimentado un rápido desarrollo desde su introducción hace más de 20 años, teniendo un gran impacto sobre las prácticas de muestreo y preparación de muestra en el análisis químico, bioanálisis, los alimentos y las ciencias ambientales (Ríos, 2017).

En un principio, SPME fue introducida para analizar compuestos relativamente volátiles en el campo del medio ambiente; actualmente, su uso se ha extendido a muy diversas áreas de análisis dado que representa un gran avance en la preparación de muestras en una gran variedad de matrices: gaseosas, líquidas, sólidas y biológicas, y para una amplia gama de analitos volátiles a partir de compuestos no volátiles. Presenta una serie de ventajas: es una técnica muy simple, lo que la hace de fácil uso y transporte, minimiza el consumo de disolvente orgánico, los tiempos de preparación de muestra mínimos, requiere pequeños volúmenes de muestra, es fácilmente automatizable, presenta un bajo coste y la capacidad de producir resultados analíticos cualitativos y cuantitativos en muestras complejas. Otra ventaja que presenta es la posibilidad de utilizarse con todos los tipos de muestras, ya sean gaseosas como el aire, líquidas como aguas o bebidas, o sólidas como alimentos (Ríos, 2017).

### **3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.**

En la actualidad, existe una creciente preocupación por el consumo de alimentos envasados debido a una posible contaminación por la migración de compuestos químicos del envase al

alimento. Entre estos compuestos que pueden migrar se encuentran los aceites minerales que son objeto de gran interés en la actualidad y se están intentando legislar. El problema es que no existe ningún método oficial ni acreditado para realizar el análisis en alimentos y envases alimentarios.

El objetivo de este trabajo es determinar la presencia de aceites minerales y de otros posibles aditivos presentes en las tintas y adhesivos utilizados en la fabricación de materiales multicapa que pudieran migrar posteriormente al alimento.

La estrategia para conseguir esos objetivos consistió en desarrollar un método para la detección de aceites minerales en tintas y envases alimentarios utilizando marcadores seleccionados previamente.

Para ello se ha utilizado la cromatografía de gases con detector de masas trabajando de dos formas distintas: método SIM y método SCAN.

Con el método SIM se lleva a cabo el reconocimiento exclusivo de las masas seleccionadas para los marcadores determinando los MOAH. Además de identificar los marcadores se pueden cuantificar mediante la recta de calibrado con los patrones y la interpolación de las muestras en dicha recta, conociendo así la concentración de cada analito. Así pues, previamente se trabajó en la optimización del método de inyección, con los parámetros de tiempo y temperatura de extracción.

Con el método SCAN se detectan todas las masas en un intervalo de 50-450 uma con el único objetivo de identificar todos los compuestos presentes en las tintas, adhesivos y polímeros que puedan suponer un riesgo toxicológico.

#### **4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.**

##### **4.1. REACTIVOS.**

Se trabajó con una serie de disoluciones patrón con los 16 compuestos a diferentes concentraciones (ver Tabla 1) partiendo de una disolución madre que contiene una concentración de 100 ppm, preparado en n-Hexano de grado HPLC suministrado por la marca comercial "Honeywell". Todas las soluciones se almacenaron a temperatura de refrigeración. A partir de la disolución madre se fueron haciendo diluciones para conseguir un rango amplio de concentración de los patrones.

Así pues, y con el fin de identificar los MOAH en las muestras, se seleccionaron para el estudio 16 compuestos como representantes de las diferentes familias de aceites minerales procedentes de las tintas, estos marcadores han sido objeto de estudio en una tesis realizada en el grupo de investigación. Estos son: 2-metilnaftaleno; 1-metilnaftaleno; bifenilo; 2,6-dimetilnaftaleno; acenafteno; 9,9-dimetilfluoreno; diisopropinaftaleno; 3,3',5,5'-tetrametilbifenilo; 4-metildibenzotiofeno; 4,6-dimetildibenzotiofeno; 3,6-dimetilfenantreno; 1-metilpireno; benzo(b)napto(2,1-d)tiofeno, criseno, benzo(d)fluoranteno y perileno.

**Tabla 1:  
Concentraciones de  
los patrones.**

Disoluciones patrón
100ppm
10ppm
7,5ppm
5ppm
2,5ppm
1ppm
0,75ppm
0,5ppm
0,1ppm
0,05ppm
0,01ppm
0,005ppm
0,001ppm

#### **4.2. INSTRUMENTACIÓN.**

Para el análisis se utilizó un cromatógrafo de gases Agilent 7890A equipado con un automuestreador Combi PAL de la marca comercial CTC Analytics, acoplado a un detector de espectrometría de masas como detector.



**Figura 2: Cromatógrafo de gases Agilent 7890<sup>a</sup> empleado.**

#### **4.3. OPTIMIZACIÓN DE LA FIBRA.**

Para poder estudiar la presencia de marcadores en las tintas hay que elegir previamente la fibra de SMPE óptima para extraer los compuestos por adsorción y posterior desorción, que permita obtener la mejor señal. Eso implica hacer una serie de ensayos para elegir una fibra que permita extraer la concentración más parecida a la real en la muestra. Las fibras de sílice adsorben los compuestos volátiles presentes.

Según Gerstel, en el proceso de SPME se pueden diferenciar dos etapas. Una primera etapa de extracción en la que la fibra se pone en contacto con la muestra durante un tiempo y temperatura determinados, de manera que se produce una volatilización de los analitos volátiles, en el espacio de cabeza, desde la muestra a la fibra hasta que se alcanza el equilibrio. Posteriormente, en una segunda etapa, se realiza la desorción de los analitos retenidos por la fibra. Por eso se dice que la microextracción en fase sólida implica fundamentos de transferencia de masa y termodinámicos.

Así pues, la desorción térmica de los analitos se lleva a cabo en el inyector del cromatógrafo de gases y para que ésta sea eficiente se debe de tener en cuenta la volatilidad del analito, optimizando la temperatura del inyector, tiempo de exposición durante la desorción y la temperatura inicial del horno. También influyen en la desorción el espesor del recubrimiento de la fibra a emplear y la profundidad de esta en el inyector.

Se debe utilizar una temperatura y tiempo de trabajo de la fibra adecuados para que la desorción de los analitos de la fibra sea completa y no haya efecto memoria, esto es, si el tiempo o la

temperatura de desorción no son suficientes para la desorción completa de los analitos (Ríos, 2017).

Para los ensayos se utilizan las disoluciones patrón con los 16 compuestos mencionados anteriormente, que son los marcadores de los MOH, preparados a partir de la disolución madre de 100 ppm. Así pues, las concentraciones exactas se calcularon a partir de valores de dicha disolución madre. Se recogen en las Tablas 2, 3, 4, 5 y 6 (Ver Anexo I).

La fibra que se emplea en la técnica de inyección SPME es de sílice fundida y está recubierta de un material sorbente, en la mayoría de los casos un recubrimiento polimérico.

El pequeño tamaño de la fibra y su geometría cilíndrica permiten incorporarla en el interior de una aguja de una jeringa, de tal forma que esta puede retraerse y desplegarse de su interior quedando expuesta así a la muestra. De esta manera, se facilita su manipulación y al mismo tiempo se protege la fibra cuando no se utiliza, ya que ésta permanece dentro de la aguja.

Cada fibra de SPME está ensamblada en el interior de una aguja de acero inoxidable, lo que le permite atravesar el septum del cromatógrafo de gases y ser introducida directamente en el inyector para la desorción de los analitos.

La casa comercial "Supelco" fue la que suministró las diferentes fibras estudiadas en este trabajo.



**Figura 3: Mecanismos empleados para SPME de Supelco,**  
**a) Portafibras para cromatografía líquida con fibra.**  
**b) Portafibras para cromatografía de Gases con fibra.**  
**c) Fibras.**

Existen en el mercado varios tipos de fibras que se diferencian en el grosor y la polaridad de sus fases estacionarias. También se diferencian en como estén inmobilizadas las capas de la fase estacionaria sobre la fibra de sílice fundida; encontramos fases ligadas o no ligadas,

parcialmente entrecruzadas o fuertemente entrecruzadas. Las fases no ligadas son estables en algunos disolventes orgánicos miscibles con el agua. Por su parte, las fases ligadas son estables con todos los disolventes polares a excepción de algunos apolares. Y en cuanto a las fases entrecruzadas, son estables en la mayoría de disolventes orgánicos miscibles con el agua, además de algunos apolares (Vera, 2013).

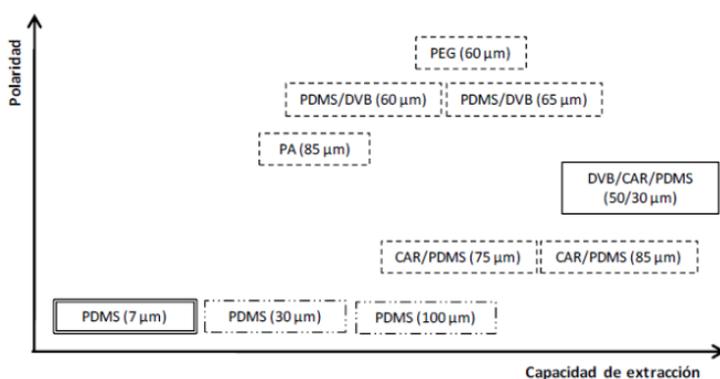
Para el desarrollo del método se probaron tres tipos de fibras diferentes tres fibras diferentes: DVB/CAR/PMDS (Divinilbenceno/Carboxen/polidimetilsiloxano) con 50/30  $\mu\text{m}$  de espesor, CAR/PMDS (Carboxen/polidimetilsiloxano) con 85  $\mu\text{m}$  de espesor y PMDS (Polidimetilsiloxano) con 100  $\mu\text{m}$  de espesor.

Para el estudio, se utilizaron 10  $\mu\text{L}$  de un vial de 20 mL que contenía una disolución de 10 ppm de los 16 compuestos nombrados anteriormente, y se inyectó en el cromatógrafo empleando un mismo método de inyección estándar (con temperatura de incubación de 50°C y un tiempo de extracción de 15 minutos).

En la figura 4, puede observarse la alta polaridad y capacidad de extracción de la fibra de DVB/CAR/PMDS, por tanto, tiene una mayor utilidad para extraer compuestos polares.

La fibra CAR/PMDS, posee una cierta apolaridad y una capacidad de extracción media, siendo poco selectiva. Ésta es la que se emplea al principio para el método estándar.

Por último, la fibra PMDS, se observa que posee una muy alta apolaridad y capacidad de extracción, siendo muy selectiva. Como la columna cromatográfica es apolar, esta fibra es la más interesante por la gran capacidad de separación de compuestos apolares, como son los de este trabajo.



**Figura 4: Polaridad/Capacidad de extracción de las distintas fibras de SPME de “Supelco”.**

#### 4.4. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO DE INYECCIÓN.

La optimización del método de inyección es importante debido al binomio tiempo/temperatura de extracción, ya que influye la volatilidad de los compuestos presentes en las muestras.

Se inyectan de forma repetida las disoluciones patrón correspondientes a las concentraciones de 1 ppm; 0,1 ppm; 0,01 ppm y 0,001 ppm con distintos métodos de inyección, variando únicamente el tiempo de inyección y temperatura de incubación (ver Tabla 7), manteniéndose el tiempo de desorción en 2 minutos para evitar una posible pérdida de compuestos o un error en el proceso.

**Tabla 7: Distintos tiempos y temperaturas de las disoluciones patrón correspondientes a las concentraciones de 1ppm, 0,1ppm, 0,01ppm y 0,001ppm.**

	Temperatura de incubación (°C)	Tiempo de extracción (s)
V1	88	1050
V2	31	1050
V3	60	60
V4	40	1800
V5	60	1050
V5	60	1050
V6	40	300
V7	80	1800
V8	60	2111
V5	60	1050
V9	80	300
V5	60	1050
V5	60	1050

#### 4.5. DISEÑO DEL MÉTODO SCAN.

Primero se emplea el detector de iones en "modo SCAN o barrido" con la finalidad de seleccionar todos los iones monitoreados y confirmar los tiempos de retención de los estándares. Así pues, se identifican todos los compuestos de cada una de las muestras utilizando el espectrómetro de

masas y dichos iones monitoreados se seleccionan en base a su abundancia relativa en el espectro. El rango de masas que se emplean para este método es de 50 a 400 m/z.

Así pues, es útil para poder observar los resultados obtenidos cambiando variables. Los datos se adquirieron y procesaron utilizando el software de análisis de datos MSD ChemStation.

#### **4.6. DISEÑO DEL MÉTODO SIM.**

Posteriormente se emplea modo de monitoreo selectivo de iones (SIM) cuya finalidad es la detección de los marcadores de MOAH seguido de un análisis cuantitativo de dichos analitos. Con este método se puede obtener un límite de detección más bajo que con el método SCAN, ya que la sensibilidad es de diez a cien veces mejor (Shimadzu, 2021).

Con este método se obtuvo la recta de calibrado con los patrones y se realizó una posterior interpolación en la recta para obtener la concentración.

El método se elabora a partir del cromatograma de una disolución patrón de 0,5 ppm; y para todos los compuestos se introduce en el programa: el área del pico que corresponde al compuesto, la masa mayoritaria que corresponde con la masa de cuantificación, la segunda masa más abundante que corresponde con la masa de confirmación y el intervalo de tiempo en el que el equipo procesa estas masas. Con la fibra PMDS seleccionada, los patrones preparados, las variables de inyección establecidas y el método de cuantificación generado se procede a inyectar todos los patrones con los que se van a establecer los límites de detección y cuantificación y se van a obtener las rectas de calibrado para cada uno de los compuestos, para posteriormente poder interpolar las áreas en dichas rectas y obtener así la concentración de los compuestos.

#### **4.7. CÁLCULO DEL LÍMITE DE DETECCIÓN (LD) Y CUANTIFICACIÓN (LC).**

El límite de detección (LD) es la concentración más pequeña del compuesto mediante la cual el pico de la señal es tres veces la altura del ruido. Es decir, representa la cantidad más pequeña del analito en la muestra que puede ser distinguida de forma fiable del valor cero, incorporándose en un mismo parámetro las probabilidades de cometer errores por falso no detectado y falso detectado (Cuadros et al., 2013).

Su fórmula es  $LD = \frac{3 \times hr \times C1}{hm - hb}$ , en la que: "hr" es la altura del ruido; "C1" es la menor concentración en la que la altura del pico del compuesto es 3 veces mayor a la del ruido; "hm"

es la altura del pico correspondiente al compuesto” y “hb” es la altura del blanco en el tiempo que aparece el pico.

El límite de cuantificación (LC) del método cuantitativo es la mínima concentración o masa de analito que ha sido validada con una exactitud aceptable aplicando el método analítico completo. A menudo es definido arbitrariamente como la mínima cantidad de analito que puede ser cuantificada con una precisión del 10 o 20%. Esto se basa en el hecho contrastado de que la desviación estándar relativa aumenta drásticamente cuando disminuye la cantidad de analito (Cuadros et al., 2013).

$$\text{Su fórmula es: } LC = \frac{10 \times hr \times C1}{hm - hb}$$

Los límites de detección y de cuantificación se necesitan para poder realizar las rectas de calibrado de cada uno de los compuestos. Así pues, se calculan una vez se ha seleccionado el método de cuantificación a realizar, la fibra PMDS, las variables de inyección y los patrones.

En la Tabla 8 se muestran los límites de detección y cuantificación obtenidos.

**Tabla 8: Parámetros analíticos del método.**

	<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo retención (min)</b>	<b>Masas de conf.</b>	<b>LD (ppm)</b>	<b>LC (ppm)</b>
1	<b>2-MN</b>	10,08	142,1 (115,1)	0,63	2,10
2	<b>1-MN</b>	10,26	142,1 (115,1)	0,36	1,19
3	<b>BP</b>	11,22	154,1	0,64	2,15
4	<b>2,6-MN</b>	11,55	156,2 (141,1)	0,56	1,86
5	<b>ACE</b>	12,53	153,10 (75,1)	0,08	0,26
6	<b>9,9-DMF</b>	13,68	179,1 (194,2)	0,00	0,01
7	<b>2,6-DIPN</b>	15,31	197,2 (212,2)	0,00	0,00
8	<b>3,3,5,5-TMB</b>	15,97	210,2 (195,2)	0,00	0,00
9	<b>4-MBT</b>	16,79	198,10 (165,1)	0,01	0,02
10	<b>4,6-DMBT</b>	17,78	212,10 (197,1)	0,01	0,02
11	<b>3,6-DMP</b>	18,32	206,10 (191,2)	0,00	0,01
12	<b>1-MPYR</b>	20,78	216,10 (189,3)	0,03	0,09
13	<b>BZNT</b>	21,87	234,10 (189,1)	0,16	0,52
14	<b>CHRY</b>	22,42	228,20 (200)	0,58	1,93

#### **4.8. RECTAS DE CALIBRADO.**

La validación de los métodos analíticos para el análisis cualitativo y cuantitativo de los analitos por GC-MS, también se realizó determinando la linealidad y rango lineal, además del LD y LC.

Así pues, habiendo seleccionado la fibra PMDS, teniendo los patrones preparados, las variables de inyección estipuladas, el método de cuantificación generado y los patrones con los que se van a establecer los límites de detección y cuantificación inyectados, se procede a generar las gráficas con rectas de calibrado para cada analito con sus funciones relacionadas con la señal emitida (ver Anexo II).

La linealidad y el rango lineal se determinaron mediante calibración estándar externa empleando ocho soluciones diferentes: 0,1ppm; 0,5ppm; 0,75ppm; 1ppm; 2,5ppm; 5ppm; 7,5ppm y 10ppm tomando las áreas de los compuestos en dichos patrones.

#### **4.9. MUESTRAS ANALIZADAS.**

Las muestras que se han empleado para el análisis proceden de distintos polímeros de envases plásticos para diversos alimentos (infantiles, sazónadores culinarios, ...).

Los distintos polímeros procedían de tres sets de muestras diferentes. El set 1 contenía diferentes envases flexibles del tipo flexo-reverso (FR), tomando 3 muestras: la primera (A) era el polímero base (sin tinta), la segunda (B) era un polímero con tinta y la tercera (C) era un polímero con tinta y adhesivo (material final).

El segundo set contenía envases flexibles del tipo flexo-anverso (FA), tomando esta vez 2 muestras: la primera (A) era el polímero base y la segunda (B) era un polímero con tinta.

Por último, el set 3 contenía envases del tipo hueco-reverso (HR), cogiendo 3 muestras: la primera (A) era el polímero base, la segunda (B) era un polímero con tinta y la tercera (C) era un polímero con tinta y adhesivo (material final).

Las muestras se protegieron con papel de aluminio para evitar la contaminación cruzada en el laboratorio. Los materiales se cortaron en pequeños trozos de aproximadamente 1 cm de cada lado.

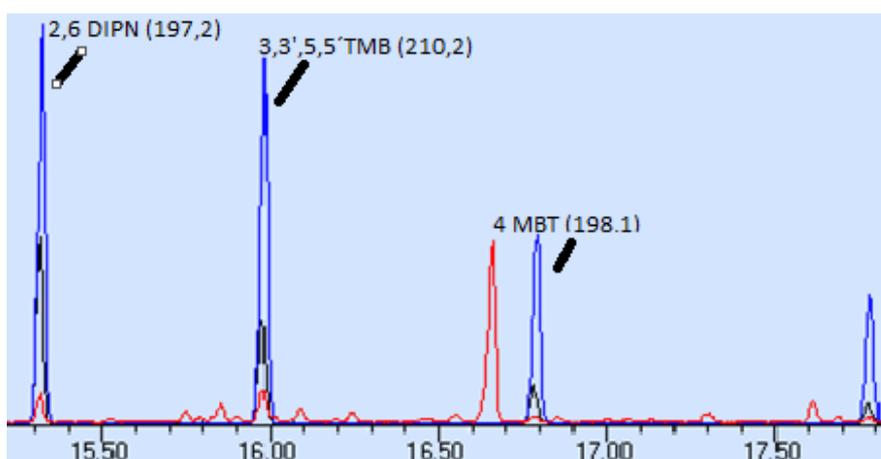
Posteriormente, se pesaron las muestras en viales de vidrio de 20 mL con tapón de aluminio y se inyectaron mediante HS-SPME-GC-MS. Las muestras se analizaron por SIM y SCAN.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 5.1. OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO HS-SPME-GC-MS.

Para la optimización de las condiciones de análisis se analizó un patrón de 10 ppm con los compuestos, empleando tres fibras diferentes (PMDS, CAR/PMDS y DVB/CAR/PMDS) y un mismo método de inyección estándar: temperatura de extracción de 50°C y un tiempo de extracción de 15 minutos.

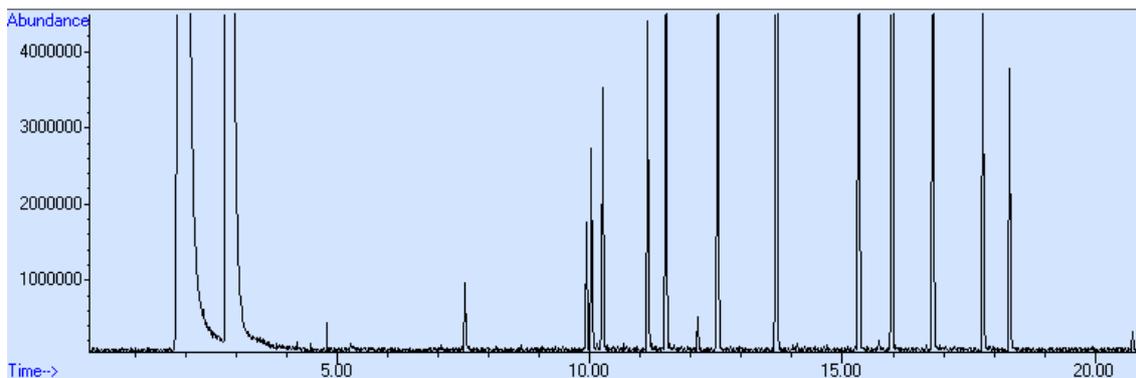
La figura 19 muestra una sección de la superposición de los cromatogramas obtenidos para cada una de las fibras y señala los compuestos identificados.



**Figura 19:** Sección cromatograma HS-SPME-GC-MS del patrón 10ppm en la que se superpone la fibra DVB/CAR/PMDS (representada en color negro), fibra PMDS (representada en color azul) y CAR/PMDS (representada en color rojo).

A partir del cromatograma puede interpretarse que la fibra PMDS es la más apropiada para la determinación de nuestros analitos, ya que es la más selectiva de todas y tiene una alta capacidad de extracción para los distintos compuestos. Esta fibra cuenta con una estructura apolar.

En la figura 20, puede observarse el cromatograma de los patrones analizados en una disolución de 10ppm.



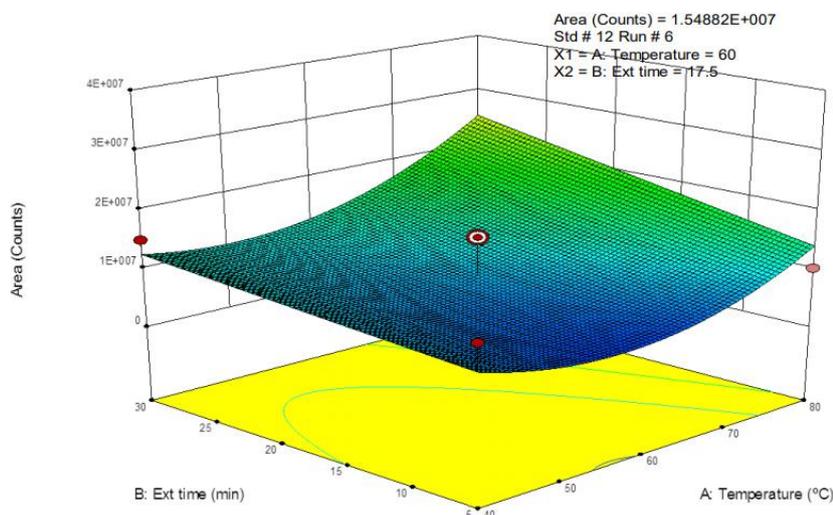
**Figura 20: Cromatograma de los compuestos.**

Posteriormente, se seleccionaron las condiciones de tiempo y temperatura de extracción.

En la figura 21, se puede observar una representación gráfica de la comparación de resultados realizada con el programa Design Expert en el que se han integrado las áreas de las señales emitidas por cada uno de los patrones. La figura representa el área total de todos los compuestos integrados. Aunque el área máxima se observó a unas condiciones de 80°C y 30 minutos de extracción, las condiciones finalmente seleccionadas fueron :

- Temperatura de extracción: 60°C
- Tiempo de extracción: 1050 segundos (17,5 minutos).

La razón de esta elección fue que los compuestos más volátiles no eran detectados con suficiente sensibilidad a 80°C y 30 minutos, probablemente debido a que a esas condiciones eran desplazados por los compuestos más pesados. En las condiciones seleccionadas (60 °C y 17,5 min) era posible detectar estos compuestos con suficiente sensibilidad.



**Figura 21: Gráfica 3D comparativa de las condiciones óptimas de inyección.**

Cabe destacar que los dos últimos compuestos, el benzo(d)fluoranteno y perileno, no se tienen en cuenta en el presente estudio ya que no se puede obtener una sensibilidad adecuada, por lo que no se pueden obtener resultados precisos con estos.

## **5.2. RESULTADOS SIM.**

Lo que se buscaba mediante el análisis por SIM era determinar los marcadores de MOAHs presentes en los diferentes sets de muestras, determinar su origen (polímero, tintas o adhesivos) y cuantificarlos.

Una vez obtenidas las áreas de los distintos compuestos en todas las muestras de los 3 sets, se procede a interpolar las señales de los compuestos en las ecuaciones de las rectas de calibrado (ver anexo II). Los resultados obtenidos de las muestras de los sets se reflejan en las Tablas 9, 10 y 11. Las casillas en color rojo corresponden a los compuestos que están por debajo del LD, las de color amarillo a los que están por encima del LD y por debajo del LC y las de color verde son los valores de los compuestos que están por encima del LC. Estos últimos son los únicos que se han podido cuantificar.

Siete de los compuestos estudiados se pudieron cuantificar en las muestras analizadas ya que sus valores estaban por encima del LC. Estos compuestos fueron: acenafteno; 9,9-dimetilfluoreno; diisopropinaftaleno; 3,3,5,5-tetrametilbifenilo; 4-metildibenzotiofeno; 4,6-dimetildibenzotiofeno y 3,6-dimetilnaftaleno. Por otro lado, seis de los compuestos se pudieron detectar en todas las muestras pero estaban por debajo del LC: 2-metilnaftaleno; 1-metilnaftaleno; bifenilo; 2,6-dimetilnaftaleno; 1-metilpireno y benzo(b)napto(2,1-d)tiofeno. Solamente un compuesto, el criseno, contaba con valores por debajo del límite de detección.

Los cromatogramas de las muestras FR, FA y HR se encuentran en el anexo III (Figuras 22, 23 y 24).

Tabla 9: Concentración (ppm), media y desviación estandar de los distintos marcadores en las muestras FR (set1).

Compuestos	FR A1	FR A2	FR A3	Media	Desv. Est.	FR B1	FR B2	FR B3	Media	Desv. Est.	FR C1	FR C2	FR C3	Media	Desv. Est.
2-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
1-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
BP	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
2,6-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
ACE	0,518	0,543	0,535	0,532	0,0127	0,385	0,384	0,436	0,402	0,0300	0,383	0,383	0,383	0,383	0,0002
9,9-DMF	0,110	0,110	0,110	0,110	0,0002	0,114	0,113	0,107	0,111	0,0038	0,116	0,115	0,114	0,115	0,0010
2,6-DIPN	0,061	0,062	0,062	0,062	0,0002	0,068	0,068	0,071	0,069	0,0018	0,060	0,059	0,059	0,059	0,0005
3,3,5,5-TMB	0,217	0,219	0,217	0,218	0,0011	0,217	0,219	0,217	0,218	0,0008	0,217	0,217	0,217	0,217	0,0001
4-MBT	0,064	0,057	0,054	0,058	0,0050	0,061	0,061	0,049	0,057	0,0066	0,049	0,049	0,049	0,049	0,0001
4,6-DMBT	0,097	0,097	0,096	0,097	0,0003	0,096	0,096	0,096	0,096	0,0002	0,096	0,096	0,096	0,096	0,0002
3,6-DMP	0,108	0,115	0,120	0,115	0,0057	0,078	0,078	0,078	0,078	0,0002	0,079	0,079	0,078	0,079	0,0005
1-MPYR	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
BZNT	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
CHRY	<LD	<LD	<LD			<LD	<LD	<LD			<LD	<LD	<LD		

Tabla 10: Concentración (ppm), media y desviación estándar de los distintos marcadores en las muestras FA (set 2).

Compuestos	FA A1	FA A2	FA A3	Media	Desv. Est.	FA B1	FA B2	FA B3	Media	Desv. Est.
2-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
1-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
BP	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
2,6-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
ACE	0,435	0,437	0,441	0,438	0,0028	0,384	0,383	0,404	0,390	0,0115
9,9-DMF	0,109	0,110	0,107	0,109	0,0016	0,118	0,119	0,123	0,120	0,0025
2,6-DIPN	0,065	0,062	0,063	0,063	0,0013	0,066	0,070	0,070	0,069	0,0022
3,3,5,5-TMB	0,217	0,217	0,217	0,217	0,0001	0,217	0,218	0,218	0,218	0,0005
4-MBT	0,049	0,049	0,050	0,049	0,0005	0,049	0,051	0,050	0,050	0,0011
4,6-DMBT	0,096	0,096	0,096	0,096	0,0001	0,095	0,096	0,095	0,096	0,0004
3,6-DMP	0,078	0,078	0,078	0,078	0,0001	0,078	0,080	0,078	0,079	0,0010
1-MPYR	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
BZNT	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
CHRY	<LD	<LD	<LD			<LD	<LD	<LD		

Tabla 11: Concentración (ppm), media y desviación estándar de los distintos marcadores en las muestras HR (set 3).

Compuestos	HR A1	HR A2	HR A3	Media	Desv. Est.	HR B1	HR B2	HR B3	Media	Desv. Est.	HR C1	HR C2	HR C3	Media	Desv. Est.
2-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
1-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
BP	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
2,6-MN	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
ACE	0,383	0,502	0,506	0,463	0,0700	0,428	0,429	0,428	0,428	0,0009	0,427	0,384	0,427	0,413	0,0251
9,9-DMF	0,107	0,107	0,111	0,108	0,0022	0,114	0,115	0,115	0,115	0,0007	0,115	0,113	0,117	0,115	0,0019
2,6-DIPN	0,063	0,064	0,064	0,064	0,0004	0,073	0,072	0,069	0,071	0,0017	0,072	0,069	0,073	0,071	0,0019
3,3,5,5-TMB	0,217	0,217	0,217	0,217	0,0000	0,218	0,218	0,217	0,218	0,0003	0,218	0,217	0,218	0,218	0,0003
4-MBT	0,058	0,049	0,050	0,052	0,0051	0,049	0,051	0,062	0,054	0,0068	0,070	0,050	0,050	0,057	0,0115
4,6-DMBT	0,097	0,097	0,098	0,097	0,0003	0,097	0,097	0,097	0,097	0,0002	0,097	0,097	0,097	0,097	0,0000
3,6-DMP	0,083	0,103	0,103	0,096	0,0116	0,078	0,078	0,078	0,078	0,0001	0,079	0,078	0,078	0,079	0,0005
1-MPYR	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
BZNT	LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC			LD-LC	LD-LC	LD-LC		
CHRY	<LD	<LD	<LD			<LD	<LD	<LD			<LD	<LD	<LD		

A continuación, se procedió a calcular la media y la desviación estándar de los compuestos cuantificables de los distintos tipos de muestras de polímeros (A, B y C) que componen cada set (FR, FA y HR).

Para el set 1 (Tabla 9), realizando una comparación entre las medias de las muestras de polímero base (FR A), polímero con tinta (FR B) y polímero con tinta más adhesivo (FR C) puede observarse una disminución progresiva del valor de la media en los compuestos: ACE; 4-MBT y 3,6-DMP. Esto indica que dichos compuestos no provienen ni de la tinta ni de los adhesivos, si no del polímero únicamente. Lo mismo ocurre con los compuestos 3,3,5,5-TMB y 4,6-DMBT, cuyos valores de la media se mantienen iguales en los tres tipos de envases. Dentro de estos, el compuesto acenafteno (ACE) destaca en todas las muestras por una mayor concentración con respecto a los otros, ya que es un hidrocarburo aromático policíclico (HAP) muy comúnmente empleado en envases, siendo dañino con efectos nocivos relacionados con el cáncer y enfermedades cardiovasculares, con una mayor probabilidad de exposición que otros (INSST, 2018) (INSST, 2018).

Sin embargo, se puede observar como un compuesto, el 9,9-DMF, experimentaba un LIGERO aumento frente a los valores encontrados en el polímero. Como el valor es superior en el polímero de tinta más adhesivo, puede concluirse que está presente en mayor grado en el adhesivo que en la tinta. La 9,9-dimetilformamida (DMF) es un disolvente orgánico que presenta un uso industrial muy extendido a escala mundial debido, en gran medida, a su excelente miscibilidad con agua. Se emplea para la elaboración de adhesivos y materiales sintéticos como plásticos (Tomás y Obiols, 2001).

Por otro lado el compuesto 2,6-DIPN experimenta una subida de la media en el polímero con tinta y una posterior bajada del valor en el polímero con tinta más adhesivo. Esto quiere decir que el compuesto está presente en la tinta utilizada. Según un estudio realizado por Zhang, K. et al el 2,6-diisopropilnaftaleno se encuentra en la mayoría de los paquetes de alimentos analizados, ya que los naftalenos suelen encontrarse en las tintas (Zhang y Noonan, 2008).

Para el set 2 (Tabla 10), se realizó el mismo procedimiento que el anterior. Se pudo observar una disminución progresiva del valor de la media en el compuesto ACE y una similitud entre los valores de los compuestos: 3,3,5,5-TMB; 4-MBT; 4,6-DMBT y 3,6-DMP. Así pues, estos cinco compuestos provienen del polímero base.

Únicamente los compuestos 9,9-DMF y 2,6-DIPN aumentaban progresivamente su media, concluyendo que estos están presentes en la tinta de este tipo de envase.

Finalmente, observando los valores del set 3 (Tabla 11), se puede observar una disminución progresiva de la media en los compuestos ACE y 3,6-DMP, debido a que estos provienen del polímero base, al igual que los compuestos 3,3,5,5-TMB y 4,6-DMBT que contaban con valores de la media constantes.

Se produjo un aumento de la media en los compuestos 9,9-DMF y 2,6-DIPN, provenientes de la tinta ya que el valor no se veía incrementado en las muestras de tinta más adhesivo.

El compuesto 4-MBT aumenta en las muestras de polímero con tinta más adhesivo, pudiendo concluir que dicho compuesto está presente en el adhesivo.

### **5.3. RESULTADOS SCAN.**

Con este método el objetivo es identificar todos los compuestos de tintas y adhesivos diferentes de los MOAHs presentes en las muestras. Para la identificación de los mismos se utilizó la librería NIST (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología).

Se comenzó comparando el primer set de los envases flexo-reversos (Tabla 12), mediante la superposición de los cromatogramas de los polímeros base (A) con los polímeros más tinta (B) para poder observar todos los compuestos provenientes únicamente de la tinta. Así pues, pudo observarse una gran cantidad de compuestos provenientes de esta.

Posteriormente se superpusieron los cromatogramas de los polímeros más tinta (B) con los de tinta y adhesivo (C) para poder observar los compuestos provenientes del adhesivo, observándose una menor cantidad de compuestos con respecto a los de la tinta.

Cabe destacar que, entre la comparación de ambos, tienen en común 3 compuestos: el palmitato de isopropilo, el ciclopentasiloxano; y la caprolactama. El palmitato actúa como agente aglutinante y la caprolactama como diluyente reactivo empleado para adhesivos y tintas, especialmente para tintas de estampado con plantilla y tintas de impresión digitales (UL, 2021).

**Tabla 12: Resultados de la superposición de los distintos polímeros del set 1.**

<b>Set 1 (FR A1, A2, B1, B2)</b>				
<b>Compuestos</b>	<b>Tr</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Nº CAS</b>	<b>R. Match</b>
Caprolactam	0,35	C6H11NO	105-60-2	836
Cyclopentasiloxane, decamethyl-	7,53	C10H30O5Si5	541-02-6	776
Silane, dimethyl(dimethyl(dimethyl(2-isopropylphenoxy)silyloxy)silyloxy)(2-isopropylphenoxy)-	9,93	C24H40O4Si3	-	717
Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	12,13	C14H42O7Si7	107-50-6	644
Diethyl Phthalate	13,64	C12H14O4	84-66-2	828
1,1,3,3,5,5,7,7,9,9-Decamethyl-9-(2-methylpropoxy)pentasiloxan-1-ol	14,09	C14H40O6Si5	-	604
Erythro-9,10-dihydroxyoctadecanoic acid	14,25	C18H36O4	3639-32-5	543
Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester	14,36	C13H22O3	24851-98-7	704
4-(3,3-Dimethyl-but-1-ynyl)-4-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-2-enone	14,6	C15H22O2	930090-10-1	550
Cyclopropanecarboxylic acid, 2,6-di-t-butyl-4-methoxy-phenyl ester	14,73	C19H28O3	104755-89-7	454
Fumaric acid, cis-hex-3-enyl hexadecyl ester	14,85	C26H46O4	-	640
6-Amino-2-(fluoromethylidene)-3-(2-methylphenyl)-2,3-dihydroquinazolin-4(1H)-one, mono(trimethylsilyl) derivative	15,79	C19H22FN3OSi	-	456
2-Ethylhexyl salicylate	16,12	C15H22O3	118-60-5	931
Heptasiloxane, hexadecamethyl-	16,48	C16H48O6Si7	541-01-5	694
7-Acetyl-6-ethyl-1,1,4,4-tetramethyltetralin	16,57	C18H26O	88-29-9	794
Dibutyl phthalate	16,653	C16H22O4	84-74-2	853
Heptadecane, 9-hexyl-	16,78	C23H48	55124-79-3	449
Ethanone, 2,2-dimethoxy-1,2-diphenyl-	16,88	C16H16O3	24650-42-8	895
4-Isoquinolinecarboxylic acid, 2,3,5,6,7,8-hexahydro-3-oxo-	17,03	C10H11NO3	-	623
Isopropyl palmitate	18,256	C19H38O2	142-91-6	840
Tributyl acetylcitrate	20,305	C20H34O8	77-90-7	941
<b>Set 1 (FR B1, B2, C1, C2)</b>				
<b>Caprolactam</b>	9,31	C6H11NO	105-60-2	828
Phosphonoacetic Acid, 3TMS derivative	9,93	C11H29O5PSi3	53044-27-2	637
<b>Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-</b>	12,13	C14H42O7Si7	107-50-6	660
2-Heptenoic acid, butyl ester	13,18	C11H20O2	-	759
1,3,5,7,9-Pentaethylbicyclo[5.3.1]pentasiloxane	14,09	C10H28O6Si5	73420-26-5	805
Butanamide, N-methyl-4-(methylthio)-2-(2,2-dimethylpropylidene)amino-	14,25	C11H22N2OS	97443-86-2	635
3,4-Dihydroxyphenylglycol, 4TMS derivative	15,79	C20H42O4Si4	56114-62-6	602
17-Pentatriacontene	16,85	C35H70	6971-40-0	672
Isopropyl palmitate	18,26	C19H38O2	142-91-6	872

En cuanto al estudio del set 2 formado por envases flexo-anversos (ver Tabla 13), se realizó el mismo proceso que el anterior, pero esta vez superponiendo únicamente los cromatogramas de los polímeros base (A) con los del polímero más tinta (B), para obtener todos los compuestos provenientes de la tinta en este tipo de envases. Solamente se identificaron dos compuestos distintos de MOAHs: el acetiltributilcitrato y el sebacato de dibutilo. Cabe destacar que el primer compuesto se observaba también dentro de los compuestos provenientes de la tinta del envase flexo-reverso; siendo empleado como plastificante biodegradable para PVC y derivados de celulosa, aprobado para estar presente en los materiales que entran en contacto con los alimentos e incluso puede usarse como aditivo en estos (UL, 2021).

**Tabla 13: Resultados de la superposición de los distintos polímeros del set 2.**

Set 2 (FA A1, A2, B1, B2)				
Compuestos	Tr	Fórmula	Nº CAS	R. Match
Decanedioic acid, dibutyl ester	19,61	C18H34O4	109-43-3	876
Tributyl acetyl citrate	20,28	C20H34O8	77-90-7	915

Por último, se identificaron los compuestos provenientes de las tintas y de los adhesivos del set 3 (Tabla 14), formado por envases plásticos hueco-reversos. Se puede observar la aparición de un mayor número de compuestos provenientes de las tintas que de los adhesivos, teniendo 3 en común: el 7,9-Di-tert-butil-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-diona; el 3,4-dihidroxifeniletilenglicol y el dietil ftalato. Cabe destacar que el dietil ftalato se usa comúnmente para darle mayor flexibilidad a los plásticos, pudiendo ser liberado con relativa facilidad de los plásticos en los que se usa ya que no forma parte de la cadena molecular (o polímero) que constituye el plástico (ATSDR, 2026).

**Tabla 14: Resultados de la superposición de los distintos polímeros del set 3**

Set 3 (HR A1, A2, B1, B2)				
Compuestos	Tr	Fórmula	Nº CAS	R. Match
Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-	12,12	C14H42O7Si7	107-50-6	659
Diethyl Phthalate	13,64	C12H14O4	84-66-2	847
3,4-Dihydroxyphenylglycol, 4TMS derivative	14,06	C20H42O4Si4	56114-62-6	826
2,6-Difluoro-3-methylbenzoic acid, hexadecyl ester	14,26	C24H38F2O2	-	719
Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethyl-	15,61	C16H26O	4130-42-1	724
(4aS,4bR,10aS)-7-Isopropyl-1,1,4a-trimethyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,10,10a-decahydrophenanthrene	16,47	C20H32	35241-40-8	700
Androstan-17-ol, 2,3-epoxy-, (2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,17 $\beta$ )-	16,78	C19H30O2	965-66-2	615
Kaur-16-ene, (8 $\beta$ ,13 $\beta$ )-	17,06	C20H32	20070-61-5	771
7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	17,18	C17H24O3	82304-66-3	883
1,3,6,10-Cyclotetradecatetraene, 3,7,11-trimethyl-14-(1-methylethyl)-, [S-(E,Z,E,E)]-	17,32	C20H32	1898-13-1	734
Octadecane, 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-	17,6	C26H54	55282-12-7	665
Heptadecane, 9-hexyl-	19,59	C23H48	55124-79-3	607
Tributyl acetylcitrate	20,28	C20H34O8	77-90-7	861
Set 3 (HR B1, B2, C1, C2)				
Cyclopentasiloxane, decamethyl-	7,52	C10H30O5Si5	541-02-6	749
Silane, dimethyl(dimethyl(dimethyl(2-isopropylphenoxy)silyloxy)silyloxy)(2-isopropylphenoxy)-	9,93	C24H40O4Si3	-	701
Acetic acid, cesium salt	12,75	C2H3CsO2	3396-11-0	972
Diethyl Phthalate	13,64	C12H14O4	84-66-2	857
3,4-Dihydroxyphenylglycol, 4TMS derivative	14,09	C20H42O4Si4	56114-62-6	706
Adipic acid, cis-hex-3-enyl dodecyl ester	14,85	C24H44O4	-	640
7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	17,16	C17H24O3	82304-66-3	864

Para conocer que compuestos procedentes de las tintas y/o adhesivos eran los más intensos en cada uno de los sets estudiados, se superpusieron cromatogramas representativos de cada uno de los tipos de muestra. En la figura 25 (ver anexo IV) se muestra la superposición de los tres tipos de muestras del set 1: FR A, FR B y FR C. En la figura puede observarse la presencia de 3 picos con una señal más alta que las del resto: el más intenso es el ácido 4-isoquinolincarboxílico (trazo negro) que proviene de la muestra formada por el polímero base (A); el segundo más intenso es el acetiltributilcitrato (trazo azul) que corresponde a la muestra del polímero más

tinta; y el tercero es el palmitato de isopropilo (trazo rojo), proveniente del envase con tinta más adhesivo.

Posteriormente, se superpusieron las muestras más representativas del set 2, FA A y FA B (ver figura 26 del anexo IV). Así pues, de los dos compuestos identificados (trazo azul) provenientes de la tinta de esos envases, el más intenso es el sebacato de dibutilo. Se puede observar también una señal muy intensa (trazo negro) de un compuesto únicamente presente en el material sin tinta.

Finalmente, se superpusieron las muestras más representativas del set 3, HR A, HR B y HR C (ver figura 27 del anexo IV). Se observa claramente un pico con una intensidad destacable, que se identifica con el compuesto 7,9-Di-tert-butil-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-diona. Este proviene principalmente del polímero base (trazo negro). Este compuesto posee unas excelentes propiedades para ser empleado en materiales de envasado plástico de alimentos (Chemical Book, 2020).

## **6. CONCLUSIONES.**

Debido a la dificultad de análisis de los aceites minerales provenientes de tintas de envases plásticos alimentarios y para evitar una incorrecta interpretación de los resultados de estos (por ejemplo, sobreestimación por poca definición cromatográfica), se seleccionaron 16 marcadores de dichos aceites minerales, para los cuales se optimizó un método de análisis por HS SMPE-GC-MS capaz de detectar estos compuestos con una gran sensibilidad. El método no permitió detectar los dos últimos marcadores seleccionados: el benzo(d)fluoranteno y perileno.

Pudo comprobarse que, para las distintas muestras de polímeros analizados, 7 de los 14 compuestos estaban por encima del límite de cuantificación y por tanto pudieron cuantificarse y emplearse como marcadores de los MOAHs. Estos fueron: ACE; 9,9-DMF; 2,6-DIPN; 3,3,5,5-TMB; 4-MBT; 4,6-DMBT y 3,6-DMP. Tras realizar para cada set una comparación de los distintos materiales (polímero, polímero con tinta y polímero con tinta más adhesivo), se pudo observar que en los envases donde la tecnología flexo-reverso (FR) había sido utilizada, se detectaban los compuestos 2,6-diisopropilnaftaleno, proveniente de la tinta, y la 9,9-dimetilformamida, proveniente del adhesivo. Para los envases donde se había utilizado la tecnología flexo-anverso (FA), se observaron esos 2 mismos compuestos procedentes ambos de la tinta. Finalmente, para los envases con tecnología hueco-reverso (HR), además de esos 2 compuestos que provenían de la tinta, se detectó el 4-MBT proveniente del adhesivo.

Por otro lado, al analizar las muestras con el método SCAN se pudo observar la presencia de una gran cantidad de compuestos diferentes a los MOAHs procedentes de las tintas y adhesivos en las muestras de los 3 tipos de sets. De las muestras del set formado por envases flexo-reversos, los compuestos más intensos fueron: el acetiltributilcitrato, proveniente de la tinta; el palmitato de isopropilo, proveniente del adhesivo; y el ácido 4-isoquinolincarboxílico proveniente del polímero base. De los envases flexo-anversos, el sebacato de dibutilo fue el compuesto más intenso proveniente de las tintas. Por último, del set formado por materiales hueco-reversos, fue el 7,9-Di-tert-butil-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-diona el compuesto más intenso proveniente del polímero base.

Es muy importante el continuo estudio de los compuestos químicos presentes en los envases alimentarios, ya que estos pueden migrar al alimento envasado y repercutir en la salud de quienes lo ingieren. No solo hay que evaluar los polímeros sino las tintas y los adhesivos utilizados, ya que como muestra el trabajo la composición del material final de envase dependerá de la combinación de los materiales utilizados y de la tecnología utilizada para su aplicación.

## **CONCLUSIONS.**

Due to the difficulty of analyzing mineral oils from food plastic packaging inks and to avoid an incorrect interpretation of their results (for example, overestimation due to poor chromatographic definition), 16 markers of these mineral oils were selected for the which was optimized an analysis method by HS SMPE-GC-MS capable of detecting these compounds with great sensitivity. The method did not allow the detection of the last two selected markers: benzo (d) fluoranthene and perylene.

It was found that, for the different samples of polymers analyzed, 7 of the 14 compounds were above the limit of quantification and therefore could be quantified and used as markers of MOAHs. These were: ACE; 9,9-DMF; 2,6-DIPN; 3,3,5,5-TMB; 4-MBT; 4,6-DMBT and 3,6-DMP. After making a comparison of the different materials for each set (polymer, polymer with ink and polymer with ink plus adhesive), it was observed that in the containers where flexo-reverse (FR) technology had been used, the compounds 2 were detected, 6-diisopropylnaphthalene, from the ink, and 9,9-dimethylformamide, from the adhesive. For the containers where the flexo-obverse (FA) technology had been used, the same 2 compounds were observed from both the ink. Finally, for packages with hollow-reverse (HR) technology, in addition to those 2 compounds that came from the ink, 4-MBT from the adhesive was detected.

On the other hand, when analyzing the samples with the SCAN method, it was possible to observe the presence of a large amount of compounds other than MOAHs from the inks and adhesives in the samples of the 3 types of sets. Of the samples from the set consisting of flexo-reverse containers, the most intense compounds were: acetyltributylcitrate, from the ink; isopropyl palmitate, from the adhesive; and the 4-isoquinolinecarboxylic acid from the base polymer. Of the flexo-obverse containers, dibutyl sebacate was the most intense compound from the inks. Finally, from the set formed by hollow-reverse materials, 7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5) deca-6,9-diene-2,8-dione was the most intense compound from of the base polymer.

The continuous study of the chemical compounds present in food packaging is very important, since these can migrate to the packaged food and affect the health of those who eat it. It is not only necessary to evaluate the polymers but also the inks and adhesives used, since as the work shows, the composition of the final packaging material will depend on the combination of the materials used and the technology used for its application.

## **7. VALORACIÓN PERSONAL.**

La realización de este trabajo de manera experimental me ha ayudado a ampliar conocimientos teóricos y prácticos del ámbito de la química analítica, como también de las técnicas instrumentales del análisis químico (asignaturas cursadas en el primer curso del grado Ciencia y Tecnología de los Alimentos). He podido relacionar contenidos del grado, como son las posibles intoxicaciones por ingesta de compuestos, con la química, con la optimización de todo un método, el uso de un cromatógrafo de gases y el uso de un programa mediante el cual he aprendido a leer cromatogramas.

También he aprendido la importancia del análisis de los envases empleados para alimentos, en concreto los plásticos, ya que en una simple bolsa de snacks infantiles se pueden identificar una gran cantidad de compuestos, en su mayoría tóxicos a grandes cantidades de ingesta, que poseen propiedades plastificantes.

Por último, quiero agradecer la ayuda y orientación de mis directoras Celia Domeño y Margarita Aznar, sin la cual este trabajo no hubiese podido llevarse a cabo.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (2017). Aceites minerales. Disponible en: [https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad\\_alimentaria/gestion\\_riesgos/Aceites\\_minerales.pdf](https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/Aceites_minerales.pdf) [Consultado 13-07-2020]
2. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2020). *Hidrocarburos de aceites minerales*. Disponible en: [https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad\\_alimentaria/ampliacion/aceites\\_minerales.htm](https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/aceites_minerales.htm) [Consultado: 14-07-2020].
3. Recomendación (UE) 2017/84 de la Comisión, de 16 de enero de 2017, sobre la vigilancia de hidrocarburos de aceites minerales en alimentos y en materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos. *Boletín Oficial del Estado*, núm. 12, de 17 de enero de 2017, páginas 95 a 96.
4. Muncke, J. (2013). *Migración*. Disponible en: <https://www.foodpackagingforum.org/es/ensado-de-alimentos-y-salud/migracion> [Consultado: 24-08-2020].
5. German Federation of Food Law and Food Science (BLL) (2019). Caja de herramientas para prevenir la transferencia de hidrocarburos de aceites minerales no deseados en los alimentos. Disponible en: [https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/Guia\\_MOSH\\_MOAH.pdf](https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/Guia_MOSH_MOAH.pdf) [Consultado 12-08-2020].
6. Portal Graf (2011). *Problemas y soluciones en impresión offset*. Disponible en: <https://www.portalgraf.com/impresion/problemas-y-soluciones-en-impresion-offset> [Consultado: 04-11-2020].
7. La imprenta (2019). “¿Qué es la impresión offset?”. *Diferencias entre impresión offset y digital*. [Blog]. 20 de junio. Disponible en: <https://www.laimprentacg.com/diferencias-entre-impresion-offset-y-digital/#%C2%BFQu%C3%A9 es la impresi%C3%B3n offset?> [Consultado: 04-11-2020].

8. Maes, C., Mitsuyoshi, G., Teniers, C., Luyten, W., Herremans, G., Peeters, R., Samyn, P., Carleer, R., Buntinx, M. (2019) "Ethylene Vinyl Alcohol Copolymer (EVOH) as a Functional Barrier against Surrogate Components Migrating from Paperboard". *Journal of Chemistry*, vol. 2019, 7 pp. DOI: 10.1155/2019/4180708.
9. Spack, LW., Leszczyk, G., Varela, J., Simian, H., Gude, T., Stadler, RH. (2017) "Understanding the contamination of food with mineral oil: the need for a confirmatory analytical and procedural approach". *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 34(6), pp. 1052-1071. DOI: 10.1080/19440049.2017.1306655.
10. EuPIA (2019). European Printing Ink Association. Disponible en: <http://www.eupia.org> [Consultado 29-08-2020].
11. Domeño, C.; Aznar, M.; Nerín, C.; Isella, F.; Fedeli, M.; Bosetti, O. (2017). "Safety by design of printed multilayer materials intended for food packaging". *Food Additives and Contaminants*, 34(7), pp. 1239-1250. DOI: 10.1080/19440049.2017.1322221.
12. Food Packaging Forum (2017). Dossier - *Mineral oil hydrocarbons*. Disponible en: [https://www.foodpackagingforum.org/fpf-2016/wp-content/uploads/2017/06/FPF\\_Dossier12\\_mineral-oil-hydrocarbons.pdf](https://www.foodpackagingforum.org/fpf-2016/wp-content/uploads/2017/06/FPF_Dossier12_mineral-oil-hydrocarbons.pdf) [Consultado: 09-07-2020].
13. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). *Cromatografía de gases*. Disponible en: [https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia\\_de\\_gases.pdf](https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/cromatografia_de_gases.pdf) [Consultado 12-10-2020]
14. Cromlab S.L (2015). "Muestreo por Espacio de Cabeza (Headspace Sampling, HS)". *Blog de Cromatografía*. [Blog]. 7 de abril. Disponible en: <http://blog.cromlab.es/muestreo-por-espacio-de-cabeza-headspace-sampling-hs/> [Consultado 10-09-2020].
15. Ríos Acevedo, J.J. (2017). *Nuevos desarrollos metodológicos en SPME*. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.

16. Jaén, J., Domeño, C., Gajotti, C., y Nerín, C. (2018) “*Selección de posibles marcadores para detectar la presencia de aceites minerales en materiales en contacto con 33 alimentos por GC-MS y APGC-MS-Q-TOF*” *Jornada de Jóvenes Investigadores del I3A*, 6. DOI:10.26754/jji-i3a.201802832.
17. Gerstel. *Microextracción en fase sólida SPME. Disponible en:* <http://www.gerstel.es/es/SPME-es.htm> [Consultado: 02-09-2020].
18. Vera Estacho, P. (2013). *Estudio de adhesivos en el envase alimentario. Desarrollo de métodos de análisis, difusión y migración de sus componentes a los alimentos envasados*. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.
19. Shimadzu (2021). *Scan mode and SIM mode. Disponible en:* [https://www.shimadzu.com/an/scanmode\\_simmode.html](https://www.shimadzu.com/an/scanmode_simmode.html) [Consultado 08-11-2020].
20. Cuadros Rodríguez, L., Gámiz Gracia, L., Carraco Pancorbo, A., Ruiz Samblás, C. (2013). *Glosario de términos analíticos (1ª edición)*. Córdoba: Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica (GRASEQA).
21. INSST (2018). *INSST. Disponible en:* [https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p\\_lang=es&p\\_card\\_id=1674&p\\_version=2](https://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=es&p_card_id=1674&p_version=2) [Consultado 11-01-2021].
22. Tomás García, P.; Obiols Quinto, J. (2001). *Evaluación de la exposición a N,N-dimetilformamida: control ambiental y biológico*. [Consultado 15-01-2021].
23. Zhang, K.; Noonan, G. (2008). “Determination of 2,6-diisopropylnaphthalene (DIPN) and n-dibutylphthalate (DBP) in food and paper packaging materials from US marketplaces”. *Food additives & contaminants*, 25(11), 23. DOI: 10.1080/02652030802163380.
24. UL (2021). *N-Vinyl-Caprolactam, NVC. Disponible en:* <https://www.ulprospector.com/es/eu/Adhesives/Detail/3812/108975/N-Vinyl-Caprolactam--NVC>. [Consultado 10-01-2021].

25. UL (2021). Acetyl Tributyl Citrate (ATBC). Disponible en: <https://www.ulprospector.com/es/eu/Inks/Detail/19944/542359/Acetyl-Tributyl-Citrate-ATBC> [Consultado 11-01-2021].
26. ATSDR (2016). *Dietil ftalato*. Disponible en: [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs73.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs73.html) [Consultado 11-01-2021].
27. Chemical Book (2020). *What is 7,9-ditert-butyl-1-oxaspiro[4.5]deca-6,9-diene-2,8-dione?*. Disponible en: <https://www.chemicalbook.com/Article/What-is-7-9-ditert-butyl-1-oxaspiro-4-5-deca-6-9-diene-2-8-dione-.htm> [Consultado 12-01-2021].

**9. ANEXOS.**

**ANEXO I.**

**Tabla 2: Tabla de los patrones con sus respectivos pesos.**

	<b>A partir de 100ppm</b>	
<b>Objetivo</b>	<b>Peso dis. Madre (g)</b>	<b>Peso disoluci. Final (g)</b>
10ppm	0,3054	3,0107
7,5ppm	0,1921	2,5803
5ppm	0,137	2,778
2,5ppm	0,069	2,769
	<b>A partir de 10ppm</b>	
<b>Objetivo</b>	<b>Peso dis. Madre (g)</b>	<b>Peso disoluci. Final (g)</b>
0,05ppm	0,133	2,6704
0,01ppm	0,0308	3,1012
0,005ppm	0,027	5,7464
	<b>A partir de 1ppm</b>	
<b>Objetivo</b>	<b>Peso dis. Madre (g)</b>	<b>Peso disoluci. Final (g)</b>
0,05ppm	0,133	2,6704
0,01ppm	0,0308	3,1012
0,005ppm	0,027	5,7464
	<b>A partir de 100ppb</b>	
<b>Objetivo</b>	<b>Peso dis. Madre (g)</b>	<b>Peso disoluci. Final (g)</b>
1ppb	0,0289	2,9029

**Tabla 3: Concentraciones por compuesto en patrones 10ppm; 7,5ppm; 5ppm y 2,5ppm.**

<b>Concentración por compuesto a partir de la 100ppm</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>100ppm</b>	<b>10ppm</b>	<b>7,5ppm</b>	<b>5ppm</b>	<b>2,5ppm</b>
<b>2-MN</b>	99,062	10,049	7,375	4,885	2,469
<b>1-MN</b>	108,079	10,963	8,046	5,330	2,693
<b>BP</b>	104,142	10,564	7,753	5,136	2,595
<b>2,6-MN</b>	99,433	10,086	7,403	4,904	2,478
<b>ACE</b>	100,851	10,230	7,508	4,974	2,513
<b>9,9-DMF</b>	103,834	10,533	7,730	5,121	2,587
<b>2,6-DIPN</b>	102,485	10,396	7,630	5,054	2,554
<b>3,3,5,5-TMB</b>	102,124	10,359	7,603	5,036	2,545
<b>4-MBT</b>	101,012	10,246	7,520	4,982	2,517
<b>4,6-DMBT</b>	100,516	10,196	7,483	4,957	2,505
<b>3,6-DMP</b>	99,428	10,086	7,402	4,903	2,478
<b>1-MPYR</b>	100,839	10,229	7,507	4,973	2,513
<b>BZNT</b>	102,953	10,443	7,665	5,077	2,565
<b>CHRY</b>	106,741	10,828	7,947	5,264	2,660

**Tabla 4: Concentraciones por compuesto en patrones 1ppm; 0,5ppm; 0,1ppm y 0,75ppm.**

<b>Concentración por compuesto a partir de la 10ppm</b>					
<b>Compuestos</b>	<b>10ppm</b>	<b>1ppm</b>	<b>0,5ppm</b>	<b>0,1ppm</b>	<b>0,75ppm</b>
2-MN	10,049	1,004	0,499	0,100	0,753
1-MN	10,963	1,095	0,544	0,109	0,821
BP	10,564	1,055	0,524	0,105	0,791
2,6-MN	10,086	1,008	0,500	0,100	0,756
ACE	10,230	1,022	0,508	0,102	0,766
9,9-DMF	10,533	1,052	0,523	0,105	0,789
2,6-DIPN	10,396	1,039	0,516	0,104	0,779
3,3,5,5-TMB	10,359	1,035	0,514	0,103	0,776
4-MBT	10,246	1,024	0,508	0,102	0,768
4,6-DMBT	10,196	1,019	0,506	0,102	0,764
3,6-DMP	10,086	1,008	0,500	0,100	0,756
1-MPYR	10,229	1,022	0,508	0,102	0,766
BZNT	10,443	1,043	0,518	0,104	0,782
CHRY	10,828	1,082	0,537	0,108	0,811

**Tabla 5: Concentraciones por compuesto en patrones 0,05ppm; 0,01ppm y 0,005ppm.**

<b>Concentración por compuesto a partir de la 1ppm</b>				
<b>Compuestos</b>	<b>1ppm</b>	<b>0,05ppm</b>	<b>0,01ppm</b>	<b>0,005ppm</b>
2-MN	1,004	0,050	0,010	0,005
1-MN	1,095	0,055	0,011	0,005
BP	1,055	0,053	0,010	0,005
2,6-MN	1,008	0,050	0,010	0,005
ACE	1,022	0,051	0,010	0,005
9,9-DMF	1,052	0,052	0,010	0,005
2,6-DIPN	1,039	0,052	0,010	0,005
3,3,5,5-TMB	1,035	0,052	0,010	0,005
4-MBT	1,024	0,051	0,010	0,005
4,6-DMBT	1,019	0,051	0,010	0,005
3,6-DMP	1,008	0,050	0,010	0,005
1-MPYR	1,022	0,051	0,010	0,005
BZNT	1,043	0,052	0,010	0,005
CHRY	1,082	0,054	0,011	0,005

**Tabla 6: Concentraciones por compuesto en patrón 0,001ppm.**

<b>Concentración por compuesto a partir de la 0,1ppm</b>		
<b>Compuestos</b>	<b>0,1ppm</b>	<b>0,001ppm</b>
2-MN	0,100	0,001
1-MN	0,109	0,001
BP	0,105	0,001
2,6-MN	0,100	0,001
ACE	0,102	0,001
9,9-DMF	0,105	0,001
2,6-DIPN	0,104	0,001
3,3,5,5-TMB	0,103	0,001
4-MBT	0,102	0,001
4,6-DMBT	0,102	0,001
3,6-DMP	0,100	0,001
1-MPYR	0,102	0,001
BZNT	0,104	0,001
CHRY	0,108	0,001

ANEXO II.

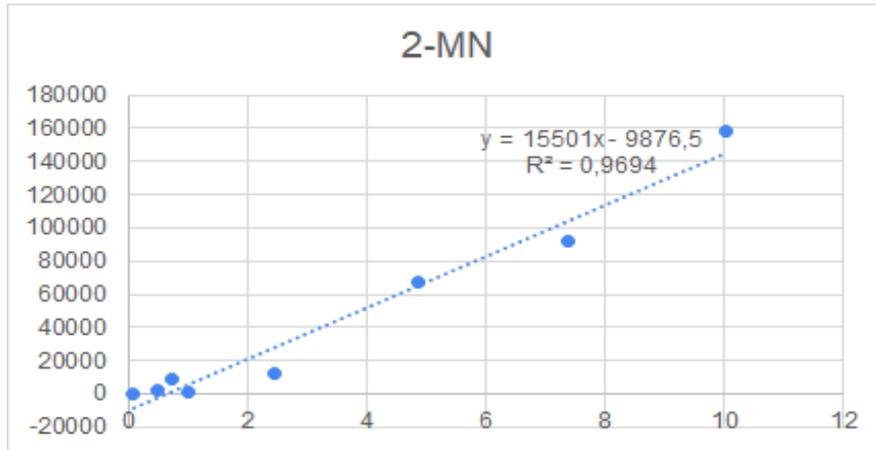


Figura 5: Recta de calibrado del compuesto 2-metilnaftaleno.

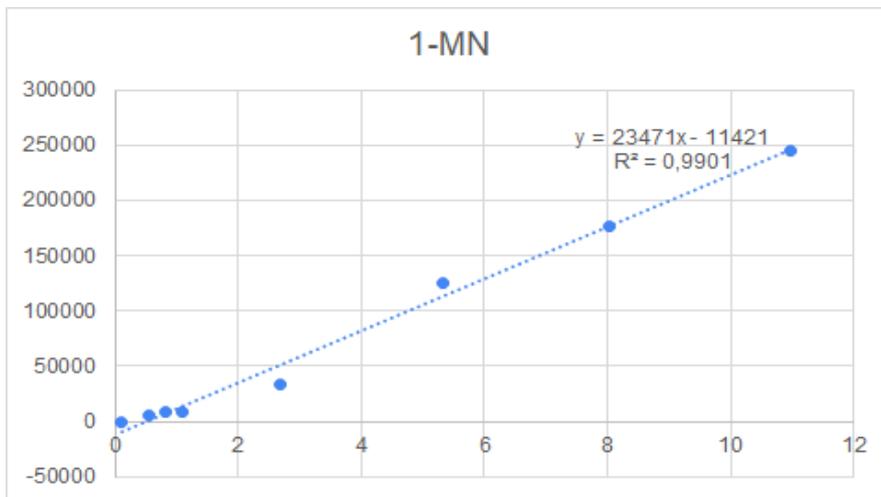


Figura 6: Recta de calibrado del compuesto 1-metilnaftaleno.

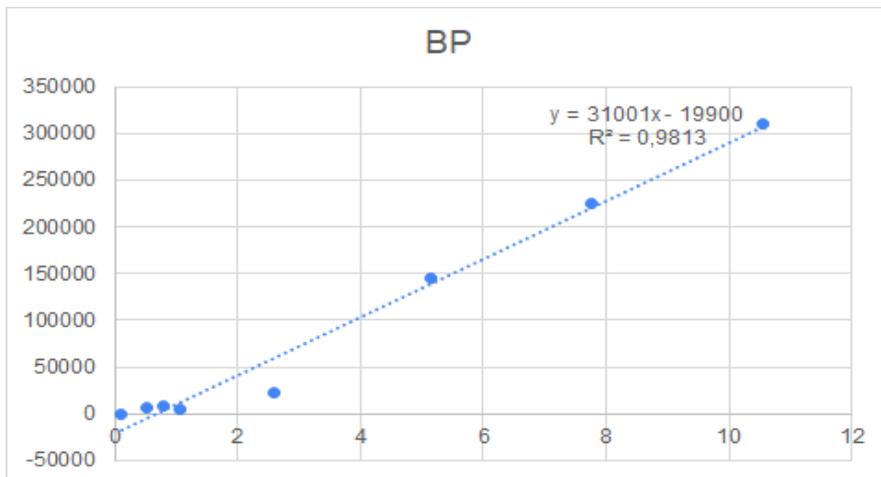
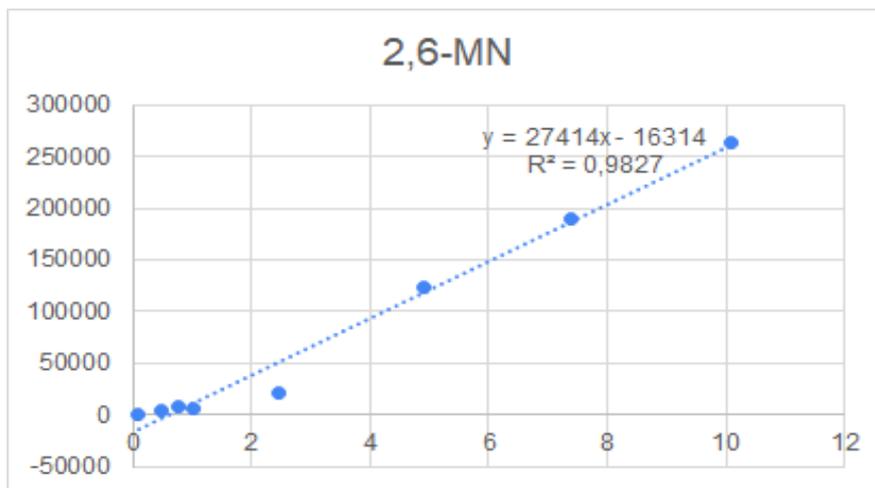
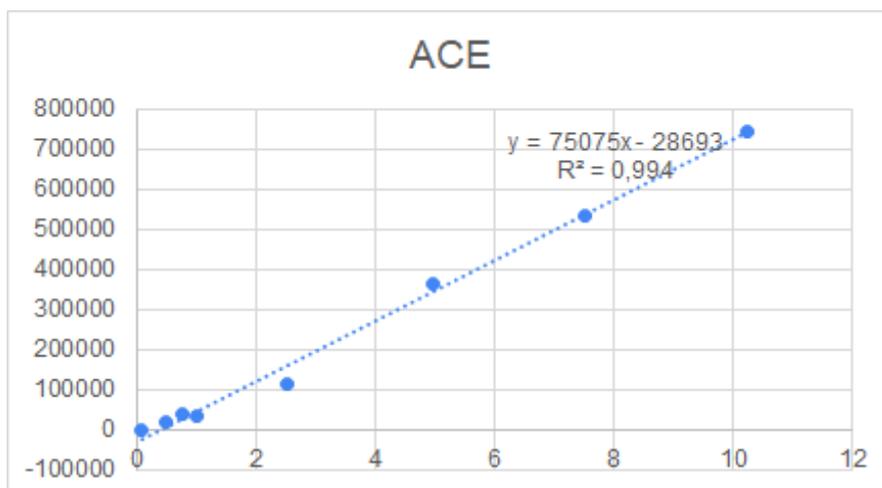


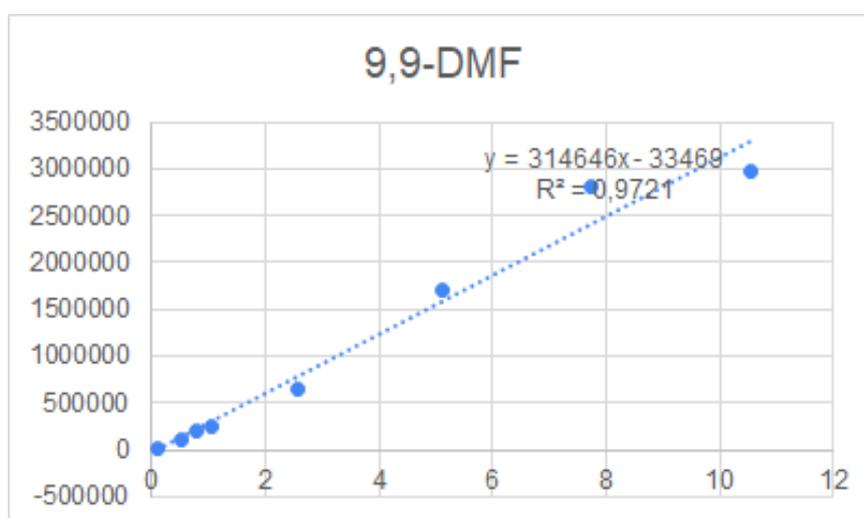
Figura 7: Recta de calibrado del compuesto bifenilo.



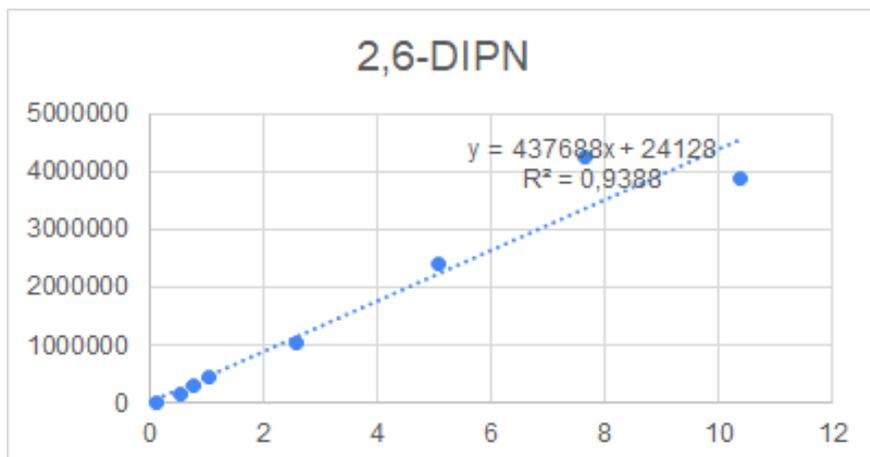
**Figura 8: Recta de calibrado del compuesto 2,6-dimetilnaftaleno.**



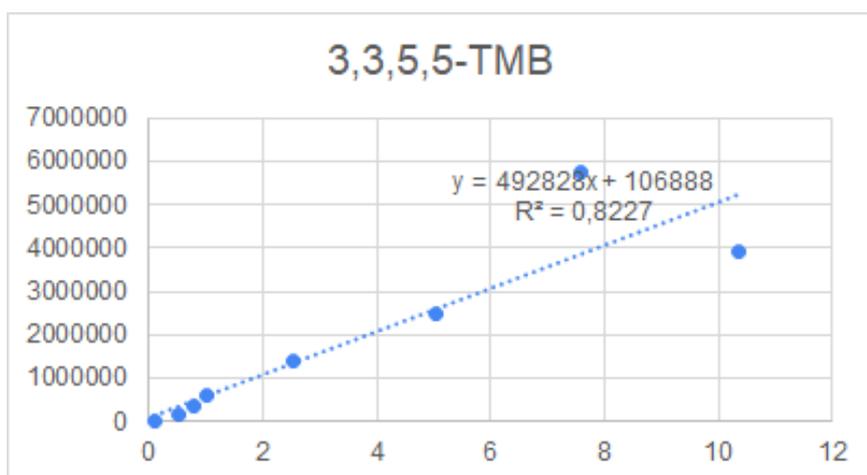
**Figura 9: Recta de calibrado del compuesto acenafteno.**



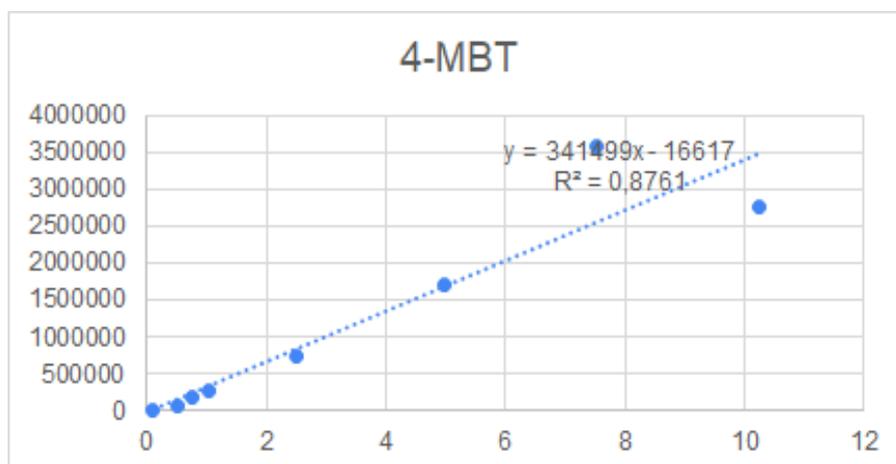
**Figura 10: Recta de calibrado del compuesto 9,9-dimetilfluoreno.**



**Figura 11: Recta de calibrado del compuesto 2,6-diisopropinaftaleno.**



**Figura 12: Recta de calibrado del compuesto 3,3',5,5'-tetrametilbifenilo.**



**Figura 13: Recta de calibrado del compuesto 4-metildibenzotiofeno.**

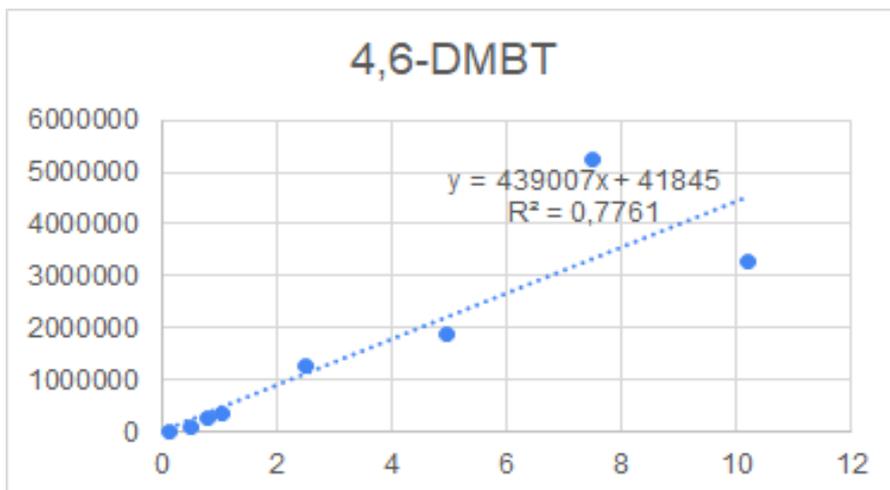


Figura 14: Recta de calibrado del compuesto 4,6-dimetildibenzotiofeno.

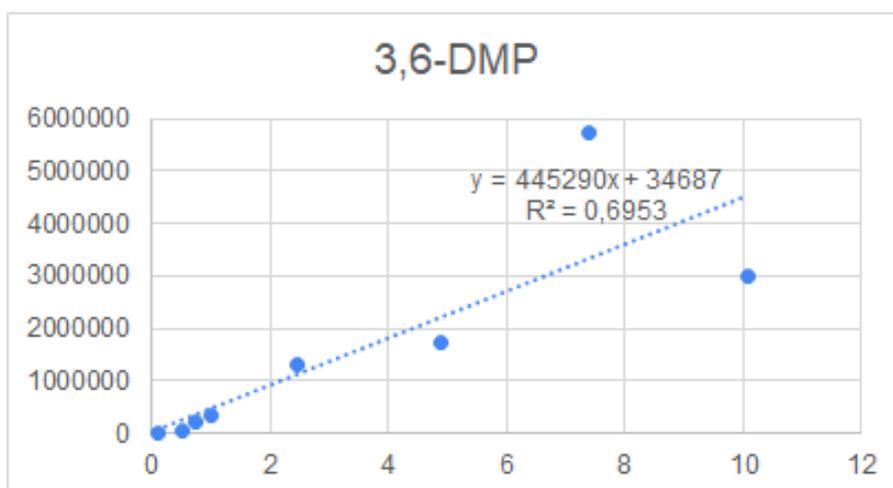


Figura 15: Recta de calibrado del compuesto 3,6.dimetilfenantreno.

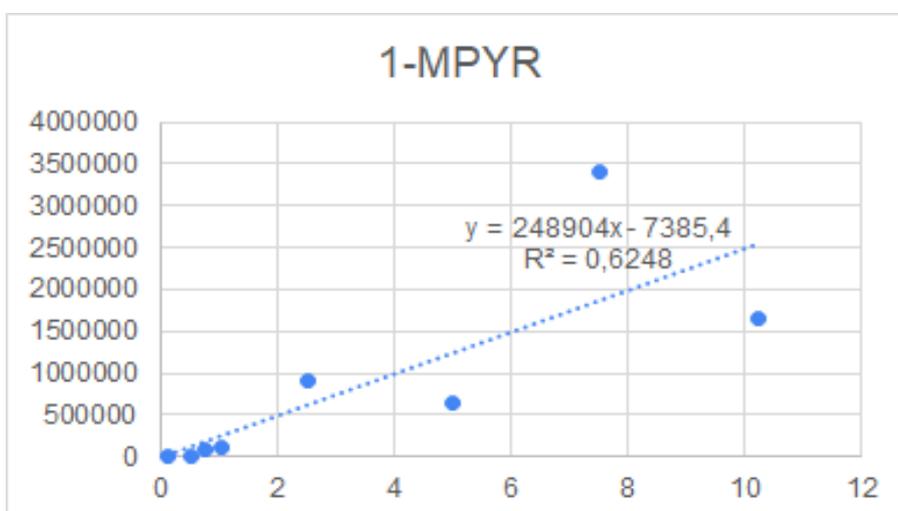


Figura 16: Recta de calibrado del compuesto 1-metilpireno.

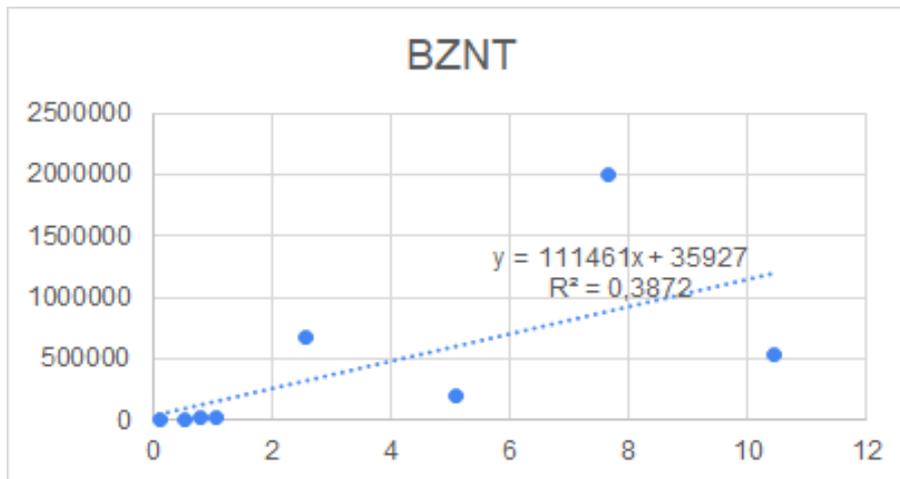


Figura 17: Recta de calibrado del compuesto Benzo(b)napto(2,1-d)tiofeno.

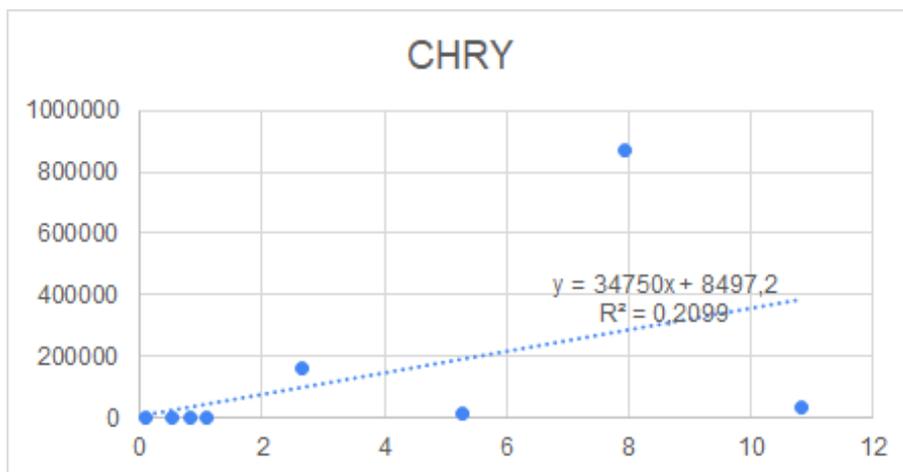


Figura 18: Recta de calibrado del compuesto criseno.

ANEXO III.

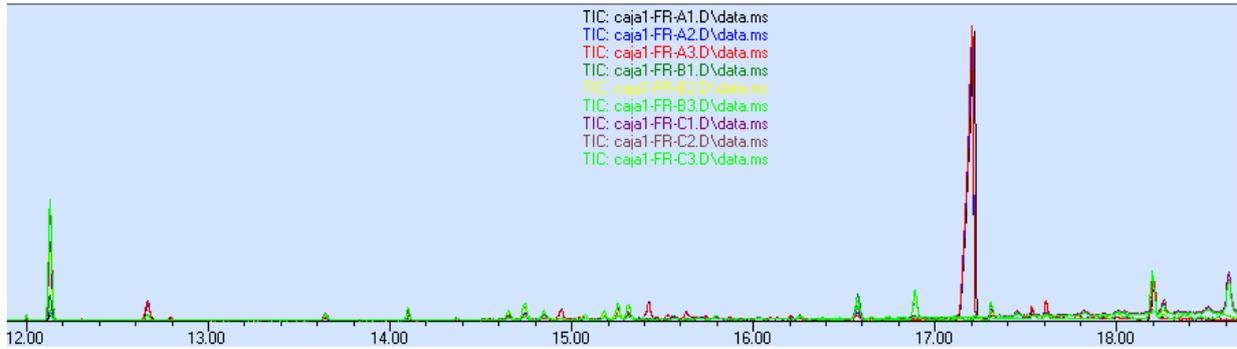


Figura 22: Cromatograma de los distintos marcadores en las muestras FR (set 1).

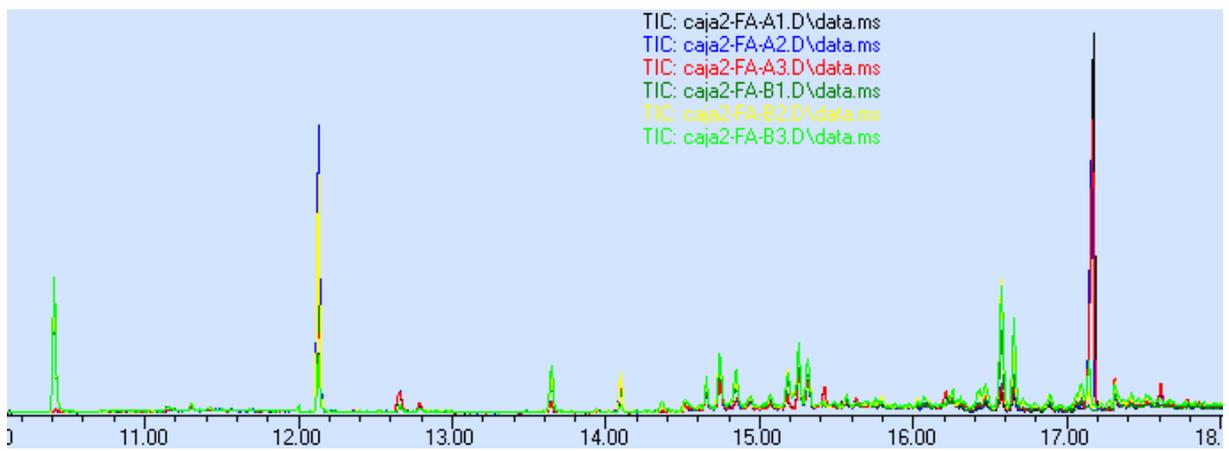


Figura 23: Cromatograma de los distintos marcadores en las muestras FA (set 2).

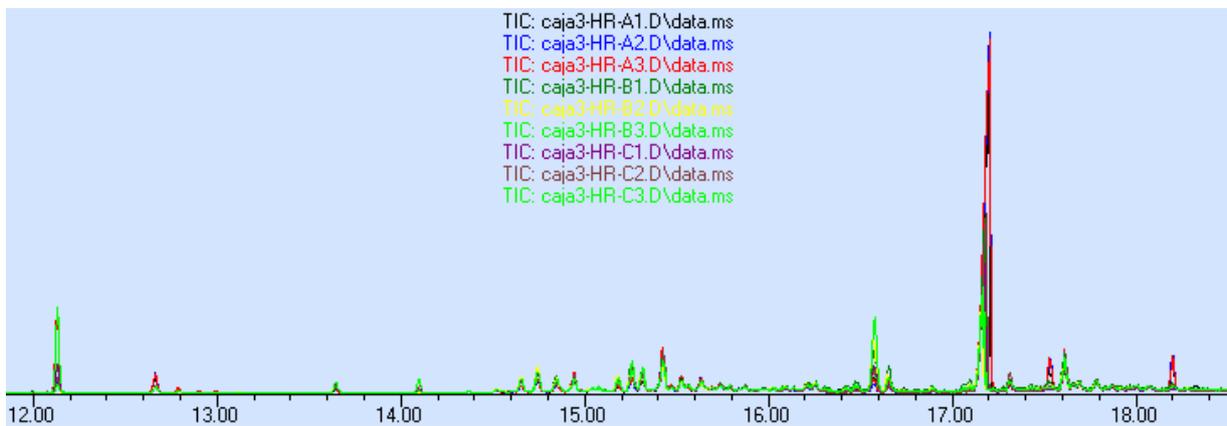


Figura 24: Cromatograma de los distintos marcadores en las muestras HR (set 3).

ANEXO IV.

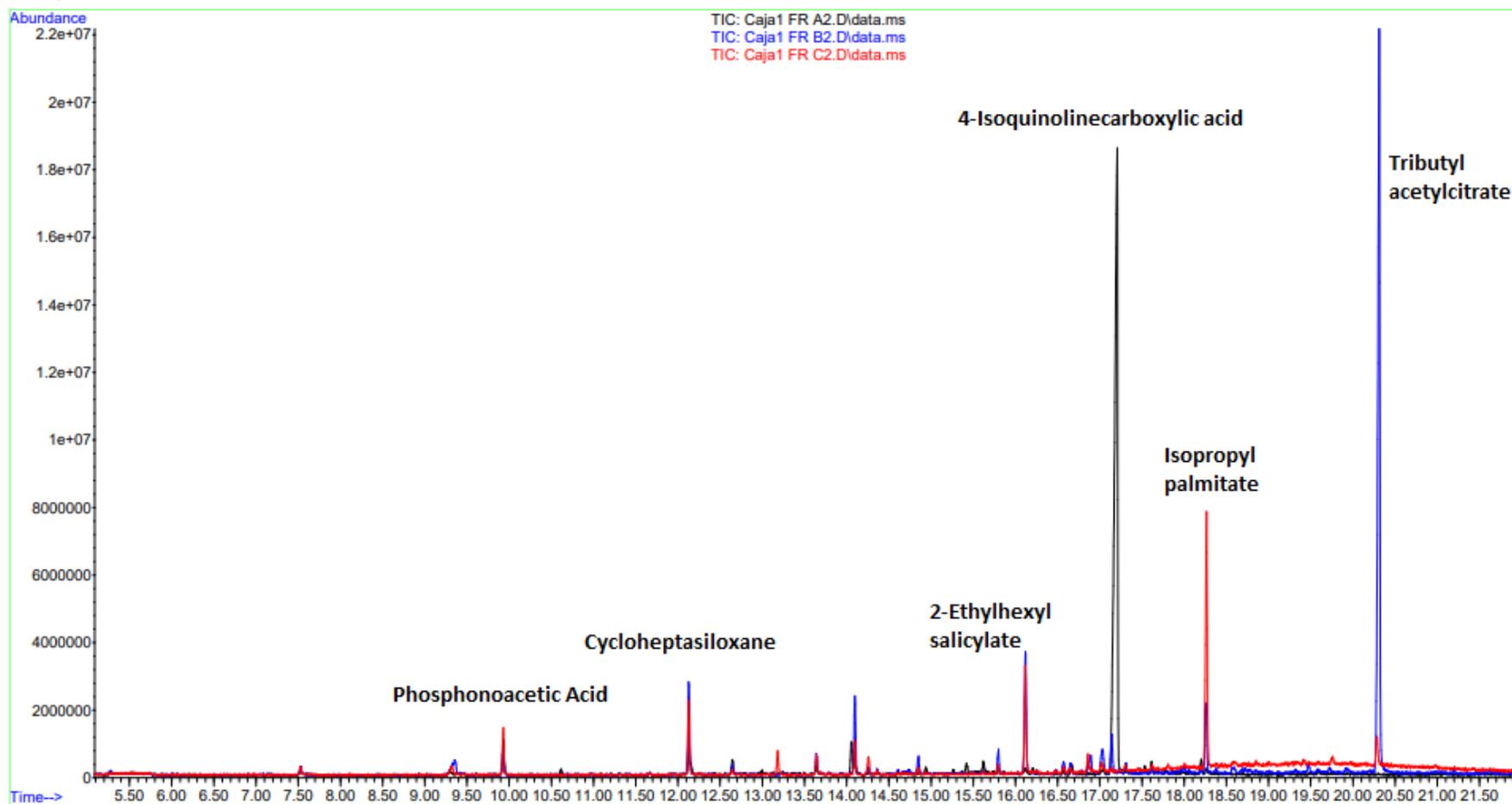


Figura 25: Cromatograma de las señales resultantes de la superposición de las muestras A, B y C del set 1 (FR).

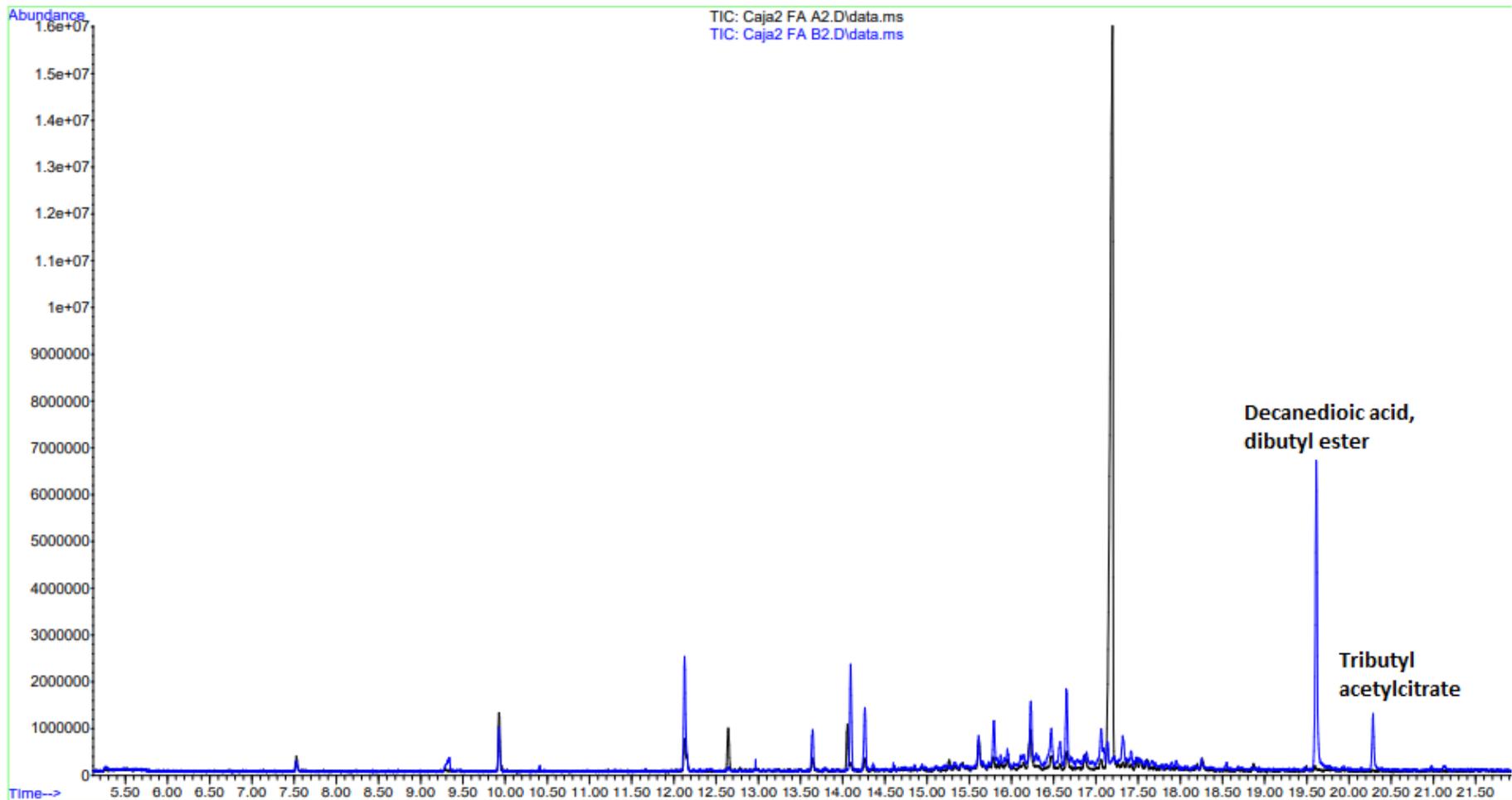


Figura 26: Cromatograma de las señales obtenidas de la superposición de las muestras A y B del set 2 (FA).

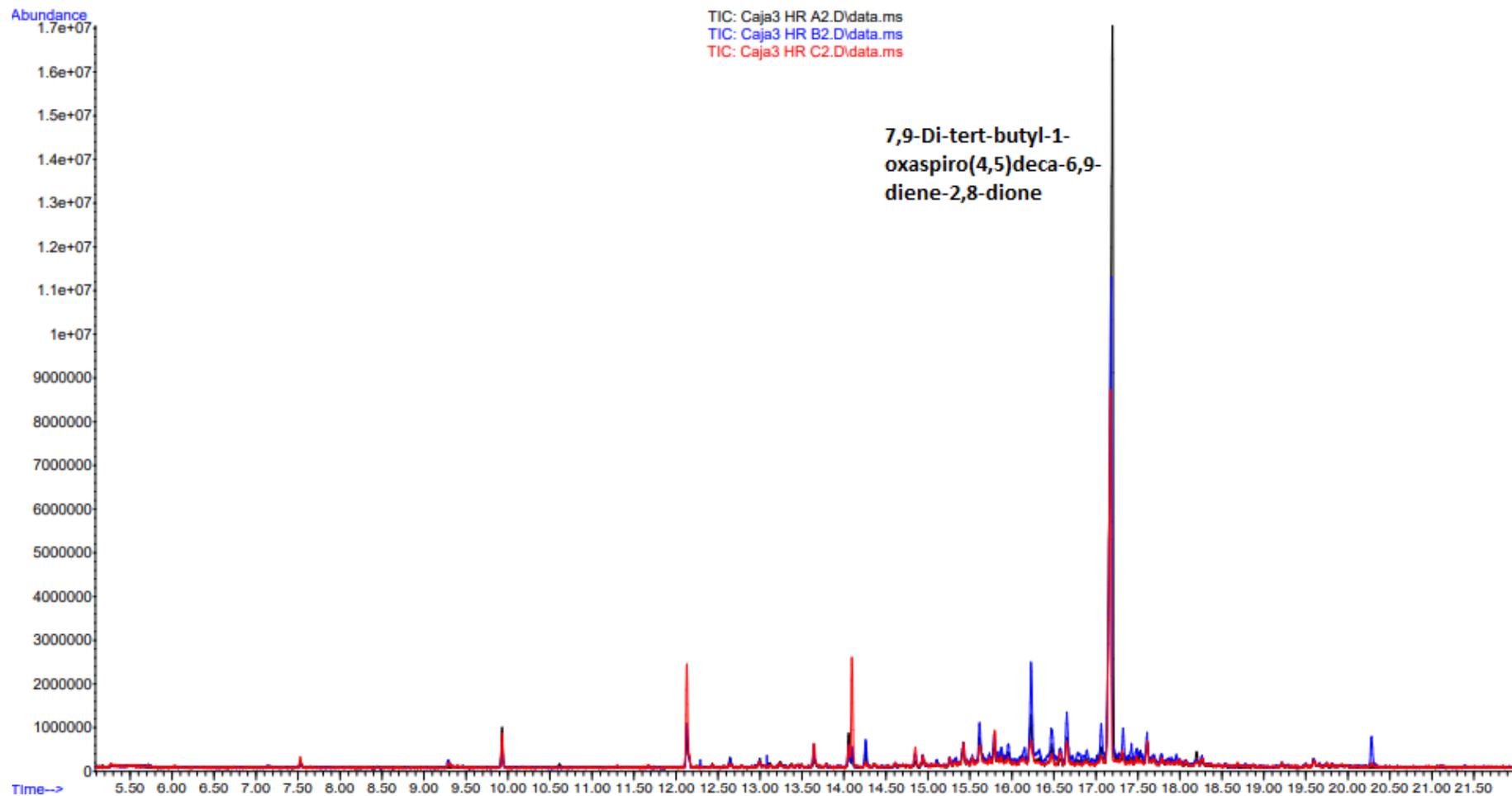


Figura 27: Cromatograma de las señales obtenidas de la superposición de las muestras A, B y C del set 3 (HR).

**ANEXO V.**  
Acrónimos

- **2-MN:** 2-metilnaftaleno
- **1-MN:** 1-metilnaftaleno
- **BP:** bifenilo
- **2,6-MN:** 2,6-dimetilnaftaleno
- **ACE:** acenafteno
- **9,9-DMF:** 9,9-dimetilfluoreno
- **2,6-DIP:** diisopropinaftaleno
- **3,3,5,5-TMB:** 3,3',5,5'-tetrametilbifenilo
- **4-MBT:** 4-metildibenzotiofeno
- **4,6-DMBT:** 4,6-dimetildibenzotiofeno
- **3,6-DMP:** 3,6-dimetilfenantreno
- **1-MPYR:** 1-metilpireno
- **BZNT:** benzo(b)napto(2,1-d)tiofeno
- **CHRY:** criseno
- **HPLC:** "High Performance Liquid Chromatography" o cromatografía líquida de alta eficacia.
- **GC:** "Gas Chromatography" o cromatografía de gases.
- **FID:** "Flame Ionization Detector" o detector de ionización de llama.
- **HS:** "Head Space" o espacio de cabeza.
- **MS:** "Mass Spectrometry" o espectrometría de masas.
- **SPME:** "Solid Phase Micro Extraction" o microextracción en fase sólida.
- **SIM:** "Selected Ion Monitoring" o monitor selectivo de iones.