



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Estudio de migración de tintas de impresión presentes en
vajilla desechable

Migration study of printing inks present in disposable
tableware

Autor/es

Ana Arechavaleta Ciordia

Director/es

Celia Domeño Recalde

Margarita Aznar Ramos

Facultad de Veterinaria
2020-2021

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN | 4 |
| 2. INTRODUCCIÓN..... | 5 |
| 2.1. Envase alimentario | 5 |
| 2.1.2. Vajilla desechable..... | 5 |
| 2.2. Interacción envase-alimento. Migración | 6 |
| 2.2.1. Tintas de impresión | 8 |
| 2.3. Técnicas de análisis | 10 |
| 2. 4. Legislación | 13 |
| 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS | 15 |
| 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL | 15 |
| 4.1. Instrumentación..... | 15 |
| 4.2. Reactivos | 16 |
| 4.3. Muestras..... | 16 |
| 4.4. Simulantes..... | 17 |
| 4.4.1. Preparación simulantes..... | 17 |
| 4.5. Análisis..... | 18 |
| 4.5.1. “Screening” | 18 |
| 4.5.2. Ensayos de migración..... | 18 |
| 4.6. Método de análisis | 21 |
| 4.6.1. Condiciones de análisis | 21 |
| 4.6.2. Método de inyección..... | 21 |
| 4.6.3. Identificación..... | 21 |
| 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 22 |
| 5.1. “Screening” | 22 |
| 5.2. Ensayos de migración..... | 29 |
| 5.2.1 Comparación entre la muestra y los extractos de los ensayos de migración inyectados por inyección líquida..... | 29 |

| | |
|--|----|
| 5.2.2 Compuestos identificados en inyección líquida | 30 |
| 5.2.3. Comparación entre los resultados obtenidos por inyección líquida y SPME..... | 31 |
| 5.2.4 Comparación entre la muestra y los extractos de los ensayos de migración inyectados por SPME..... | 34 |
| 5.3 Toxicidad | 35 |
| 6. CONCLUSIONES | 37 |
| 7. VALORACIÓN PERSONAL | 39 |
| BIBLIOGRAFÍA:..... | 39 |

1. RESUMEN

En la sociedad actual, bien por comodidad o por lo atractivo del producto, cada vez se utilizan más platos desechables en los eventos y en las fiestas infantiles. La característica de estos platos es que toda la superficie que va a estar en contacto con el alimento está recubierta por imágenes impresas con diferentes motivos y multitud de colores.

Se debe tener en cuenta que, dentro de la seguridad alimentaria, cada vez hay más interés por el riesgo de que compuestos no deseados puedan migrar del envase al alimento. Las tintas suponen un riesgo grande, en este sentido, por su composición así que en primer lugar se van a identificar los compuestos presentes en seis muestras diferentes de vajilla desechable. Posteriormente de las tres muestras más representativas, es decir las que más compuestos presentaban y se consideraron las de mayor riesgo potencial, se estudia la posible migración de los compuestos que aparecen en las tintas al alimento mediante la aplicación de los ensayos de migración que están regidos por la legislación.

Para la identificación se emplean técnicas analíticas de cromatografía (SPME-GC-MS y GC-MS en los dos casos en modo SCAN) que permiten comparar los resultados obtenidos e identificar los compuestos presentes de mayor interés en la muestra y en los simulantes alimentarios utilizados para los ensayos de migración. Además, para realizar el trabajo se ha tenido en cuenta la normativa vigente relacionada con los materiales en contacto con alimentos. En este trabajo se identificaron compuestos de interés característicos de las tintas que migraron al simulante empleado y por consecuencia, migrarían al alimento.

ABSTRACT

In today's society, either for convenience or for the attractiveness of the product, more and more disposable dishes are being used at events and children's parties. The characteristic of these dishes is that the entire surface that will be in contact with the food is covered by printed images with different and multitude of colors.

It should be taken into account that, in the frame of food safety, there is increasing interest in the risk of migration of unwanted compounds from the packaging to the food. In this sense, printing inks pose a great risk due to their composition. So in the first place the compounds present in six different samples of disposable tableware were identified. After that, the most representative samples were selected for migration study. Migration test were performed according to the legislation.

Analytical chromatography techniques (SPME-GC-MS and GC-MS in SCAN mode) were used. These techniques allowed us identifying the compounds of greatest interest from the sample and from the migration test carried out with food simulants. Moreover, the regulations related

to materials in contact with food were followed. In this work, different compounds of interest characteristic of the inks were identified in the food simulants, and consequently, they would migrate to food.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Envase alimentario

Los envases de alimentos se definen, como aquellos elementos destinados a contener productos que servirán de comida o alimento al ser humano. Las principales características son la de ofrecer protección, resistencia a su manipulación y dar respuesta a necesidades de protección físicas, químicas o biológicas. Asimismo, cumplen una segunda función, la cual es mostrar al consumidor el producto, junto con indicar la información nutricional en el alimento a ser consumido. (AESAN, 2021).

Los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos, estarán fabricados conforme a buenas prácticas de fabricación para que, en las condiciones previsibles de empleo, no transfieran sus componentes a los alimentos en cantidades que puedan:

- representar un peligro para la salud humana, o
- provocar modificaciones inaceptables de la composición de los alimentos, o
- provocar alteraciones de las características organolépticas de éstos.

Este tipo de materiales se encuentran ampliamente distribuidos en el mercado, y dentro del grupo se incluyen papel, cartón, plásticos, tintas de imprenta, siliconas... entre otros. Concretamente, en este proyecto se va a evaluar vajilla desechable, de cartón y plástico, impresa con tintas para ver si estas suponen un riesgo potencial al usarlos como envase alimentario.

2.1.2. Vajilla desechable

La vajilla desechable, entra dentro del concepto de materiales que están en contacto con alimentos. Actualmente, existe un incremento del uso de envases y vajilla desechable por parte del consumidor que busca la comodidad (AECOC, 2021). Este tipo de vajilla suele ser muy empleada especialmente en reuniones con un gran número de personas ya que en primer lugar ofrecen comodidad al no requerir ninguna limpieza adicional y también porque sirven como decoración en las mesas.

Si nos ponemos en el contexto de una fiesta de cumpleaños o de una celebración navideña, es común la presencia de platos desechables. La característica de estos platos es que toda la superficie que va a estar en contacto con el alimento está recubierta por imágenes impresas con diferentes motivos y multitud de colores para hacerlos más atractivos. Además, cabe destacar

la variedad de materiales con los que se pueden elaborar encontrando así una diversidad en el mercado.

Por otro lado, dentro de la seguridad alimentaria, cada vez hay más interés en las posibles interacciones entre el envase y el alimento con respecto al riesgo de que compuestos no deseados puedan migrar del envase al alimento (Nerín et al., 2016). En este caso, se va a evaluar los compuestos encontrados en la vajilla desechable y que en su mayor parte puede proceder de las imágenes impresas, es decir, las tintas, aunque también pueden proceder de otro tipo de aditivos o contaminación cruzada.

Además, es importante tener en cuenta que se desean materiales en contacto que impongan un menor impacto en la salud de los consumidores y en el medio ambiente (Ncube et al., 2020). El uso de esta vajilla desechable puede suponer un gran impacto medioambiental, tema complejo que se podría evaluar en otro proyecto.

2.2. Interacción envase-alimento. Migración

En la actualidad, las industrias alimentarias ofrecen al consumidor productos de calidad nutritiva y sensorial en los cuales, el envase juega un papel fundamental para el logro de este objetivo. Pero también, puede convertirse en un serio problema si no se controlan algunos aspectos del envase, como, por ejemplo, la transferencia de materia a través de este, conocida como la migración (Vera, 2013). De tal forma que las posibles interacciones entre el envase y el producto alimenticio, como la migración, son consideradas desde el punto de vista de la seguridad alimentaria como objeto de gran preocupación (Navia, Ayala y Villada, 2014).

El envase alimentario puede contener sustancias añadidas intencionadamente (IAS) y no añadidas intencionadamente (NIAS). Los NIAS pueden aparecer como resultado de procesos de reacción y degradación o la presencia de impurezas en las materias primas utilizadas para la producción de envases. La mayoría de los NIAS y compuestos desconocidos deben considerarse un riesgo para la salud, porque no hay información toxicológica, y por lo tanto no se conocen los daños adversos que pueden producir en el ser humano (Nerín et al., 2013).

La migración es un fenómeno de gran importancia, ya que da lugar a la incorporación de sustancias no deseadas al alimento. Estas sustancias pueden alterar las características iniciales sensoriales (aparición de un olor o sabor extraño) y nutritivas de los alimentos, o bien ser tóxicas y hacer que los alimentos sean rechazables para el consumo (Muncke, 2016). Otro problema es

que se daña la imagen del producto o las marcas comerciales cuando surge algún problema de este tipo como ocurrió con leches infantiles de la empresa Nestlé (RASFF, citado en ELIKA, 2017).

Las sustancias del material de envase que pueden migrar son los compuestos de bajo peso molecular componentes del polímero y otras sustancias añadidas como aditivos al material: adhesivos, barnices y tintas de impresión (Canellas et al., 2012). Se ha demostrado que todos los compuestos de tamaño inferior a 1000 Da tienen mayor probabilidad de migrar (Catalá y Gavara, 2002).

Además, hay que tener en cuenta que la migración no se produce por igual en todos los envases en contacto con alimentos. De hecho, la migración de las tintas de impresión depende de las propiedades del material, en cartón y papel cartón tienen una elevada permeabilidad, mientras que el vidrio no tiene permeabilidad (Wagner, 2012).

La migración depende de cuatro factores principales: alimentos, polímero, migrante y condiciones físicas. Para estudiarla es necesario tener en cuenta los factores que influyen en el proceso de la migración como son el tiempo y la temperatura (Lago et al., 2019).

El proceso de migración se rige por dos coeficientes que son (Vera et al., 2011):

- Coeficiente de partición: expresa la relación entre las concentraciones en el equilibrio de los migrantes en el alimento y en el envase.
- Coeficiente de difusión: determina la transferencia de masa, debida a movimientos aleatorios de las moléculas, desde las regiones con alta concentración hacia las regiones con baja concentración hasta la obtención de un equilibrio.

Hay que contemplar que la migración puede tener lugar no solo desde el lado interno del envase (superficie de contacto con el alimento) sino también desde las capas internas debido a los procesos de difusión y partición (Aznar et al., 2015).

Además, el equilibrio y la cinética son los mecanismos que influyen directamente en la migración (Catalá y Gavara, 2002), y, por tanto, estarán relacionados con las características del sustrato, migrante y alimento, como:

- La composición química de la matriz polimérica del envase que afecta a la disolución inicial del migrante en el sustrato y posteriormente en el alimento (un polímero polar, absorberá preferiblemente las sustancias polares).

- La estructura del polímero afectará a la densidad del polímero ya que los constituyentes voluminosos y la irregularidad de las cadenas limitará la cristalinidad del material, reduciendo la densidad e incrementando el volumen libre y por tanto incrementando la difusión.
- El proceso de fabricación de los adhesivos y los envases lleva consigo diferencias tanto morfológicas como estructurales de la matriz polimérica.
- La superficie de contacto y el espesor del componente y del sustrato.
- La estructura química de las sustancias migrantes relacionada con la compatibilidad del polímero y por lo tanto con la difusión o la concentración, el tamaño, polaridad y la forma de la molécula relacionada con la transferencia de masa.
- Condiciones del medio, factores como la temperatura, presión, tiempo, agitación, etc.

En la práctica se distingue entre migración global y específica. La primera se refiere a la cantidad total de masa que es transferida del envase al alimento y la migración específica representa la cantidad de una sustancia concreta que se transfiere al alimento. (Vera,2013)

El análisis de la migración, tanto global como específica, directamente en el alimento es una tarea muy compleja. Por ello se recurre a los llamados simulantes alimentarios, es decir, sustancias que se caracterizan por poseer un poder extractivo similar a los alimentos a los que está destinado el envase lo que les hace idóneos para llevar a cabo los ensayos de migración los cuales están regidos por la legislación (Catalá y Gavara, 2002).

En este trabajo se va a llevar a cabo la identificación y posible migración al alimento de algunos de los compuestos que pueden aparecer en los envases coloreados con tintas impresas por toda la superficie mediante técnicas analíticas y el seguimiento de la legislación vigente.

2.2.1. Tintas de impresión

Las tintas se utilizan comúnmente en materiales de envasado de alimentos y, por lo tanto, se debe estudiar la migración de los componentes de la tinta a los alimentos (Aznar et al., 2015) (Domeño et al., 2017). Además, en trabajos anteriores se ha demostrado que las tintas suponen un riesgo grande, en este sentido, por su composición.

Una tinta consiste en una mezcla polimérica en disolución que lleva incorporados pigmentos y colorantes solubles para impartir color (ELIKA, 2017). Cabe destacar la presencia de los aceites minerales en las tintas de impresión que pueden proceder además de contaminación cruzada en las distintas etapas de procesado de estos envases (EFSA, 2012).

Las tintas presentan alta compatibilidad con la mayoría de matrices poliméricas, se funden fácilmente y no afectan la transparencia del material (Rhim, Park y Ha, 2013). Estas pueden estar en contacto directo o indirecto con el alimento. Si el contacto es indirecto, el recubrimiento está aplicado en la superficie del material sin contacto físico con el producto que podría ingerirse o con la boca. En este caso, aunque las tintas de impresión se aplican en la capa externa, pueden migrar debido a fenómenos de *set-off* (Clemente et al., 2016). Esto tiene lugar durante la producción de materiales y el almacenamiento en rollos ya que se aumenta la posibilidad de migración de los compuestos de la tinta de la superficie impresa del envasado de alimentos a la superficie de contacto con los alimentos.

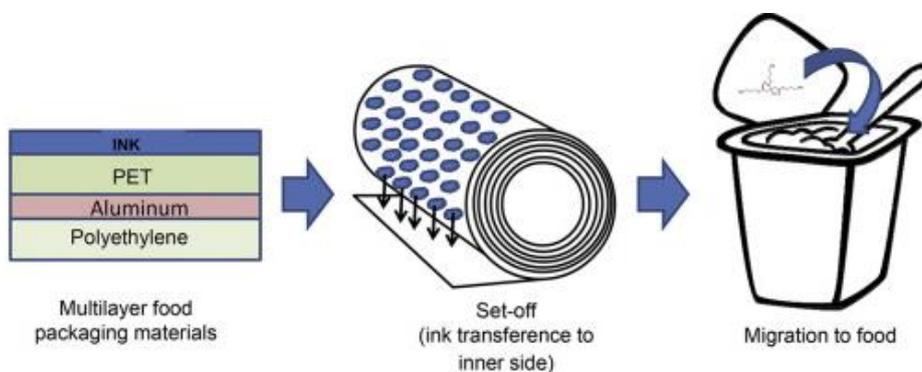


Figura 1. Mecanismo de migración de tintas por fenómenos de *set-off* (Aznar et al; 2015).

En cambio, si el contacto es directo, el recubrimiento está aplicado en la superficie del material en contacto con algún producto que podría ser ingerido o bien se trata de una superficie que podría entrar en contacto con la boca. Con respecto a los platos desechables, las tintas se encuentran en la superficie de la base donde se suele colocar el alimento por lo que se establece un contacto directo.

La presencia de componentes de tinta de impresión provenientes de envases de alimentos en los alimentos por la migración es un tema de preocupación, que causó un Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos (RASFF) en septiembre de 2005, cuando 2-isopropiltioxantona (ITX), un fotoiniciador presente en curado UV tintas, se detectó en la leche para bebés. (RASFF, citado en Elika, 2017). Además de un incidente en Alemania en el que la EFSA emitió una declaración sobre la presencia de 4-metilbenzofenona en algunos cereales de desayuno. (ELIKA, 2017).

Como se va a comentar posteriormente, en ausencia de una regulación europea específica para tintas de impresión en Food Contact Materials (FCM), las evaluaciones de las autoridades

nacionales y las legislaciones nacionales se utilizan para demostrar la seguridad de las tintas de acuerdo con la Reglamento (CE) nº 1935/2004. Por lo tanto, se siguen las Directrices de European Printing Ink Association (EuPIA) sobre tintas, para envases que se formulan y fabrican de acuerdo con las Buenas Prácticas de Fabricación de EuPIA. Estas directrices tienen 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).

La legislación nacional más completa de Europa es la Ordenanza sobre tintas de impresión suiza. Específicamente, el Anexo 10 de la Ordenanza suiza se ocupa de las tintas de impresión incluidas en una lista positiva que se divide a su vez en la Lista A (sustancias evaluadas para las que se da un límite de migración específico) y la Lista B (sustancias no evaluadas) (Beneventi, Tietz y Merkel, 2020).

2.3. Técnicas de análisis

Los estudios de migración y la determinación de la compensación de las tintas de impresión requieren procedimientos analíticos sensibles para identificar cada compuesto que proviene del material (Asensio, Peiro y Nerín, 2019).

La Cromatografía es un proceso de separación en el que se distribuyen los analitos entre dos fases con una amplia superficie de contacto, una de las cuales es móvil y la otra permanece estacionaria (Ferreira, 2007). Hay diferentes tipos de cromatografía según la fase móvil: la cromatografía de gases cuya fase móvil es un gas o cromatografía de líquidos cuya fase móvil es un líquido.

La cromatografía no solo permite separar, sino que también detectar y cuantificar los compuestos separados si se emplea el uso de un detector. En este proyecto, se plantea la identificación de los compuestos volátiles y semivolátiles procedentes de diferentes muestras de vajilla desechable por lo que la técnica seleccionada es la Cromatografía de gases.

Esta técnica consiste en introducir la muestra en forma de gas en la cabeza de una columna cromatográfica, la cual puede ser polar o no polar, que separa los compuestos según la interacción de estos con la fase estacionaria de dicha columna y la temperatura.

Para introducir la muestra, en la cromatografía de gases existen diferentes métodos de inyección, los que se emplean en este trabajo son:

- Inyección líquida: se introduce una pequeña cantidad de la muestra líquida mediante una jeringa. Se puede trabajar de dos formas (Cromlab S.L, 2015):
 - Split: un inyector de división (split) divide la muestra vaporizada en dos partes: una minoritaria que se transfiere a la columna y otra mayoritaria que se expulsa del inyector por la válvula de split. La inyección en split evita sobrecargar la columna con interferencias que puedan afectar a la columna.
 - Splitless: la muestra se inyecta con la válvula de split cerrada. La totalidad de la muestra inyectada es dirigida hacia la columna, que se mantiene durante la inyección a una temperatura inferior al punto de ebullición del componente más volátil de la muestra. Este método requiere inyectar la muestra más lentamente y tiene mayor sensibilidad que los métodos split.
- Solid Phase Micro Extraction- "SPME": se utiliza una fibra de microextracción en fase sólida (SPME) capaz de absorber o adsorber compuestos en su matriz para posteriormente desorberlos en la columna. La 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).

Con la fibra se puede trabajar de 2 maneras, la extracción se puede llevar a cabo tanto en espacio de cabeza o headspace (HS) que sirve para analitos volátiles en muestras líquidas y sólidas o por inmersión directa, también llamada por inmersión de la fibra en la muestra, para muestras líquidas. (Lord y Pawliszyn, 2000). En la Figura 1 se muestran ambos procesos.

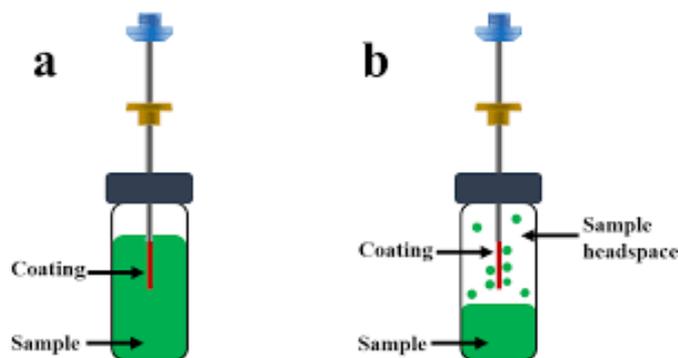


Figura 2. Extracción con fibra por SPME: a (inmersión total) y b (HS-espacio de cabeza).

En este trabajo, se selecciona HS porque se va a trabajar con compuestos volátiles. Las variables más importantes que influyen en el proceso de microextracción en fase sólida por espacio de cabeza para muestras sólidas son las siguientes (Vera, 2013):

- Tipo de fibra: la naturaleza del analito determina la fibra a utilizar en cada caso, existen en el mercado varios tipos de fibras que se diferencian en el grosor y la polaridad de sus fases estacionarias.

En cuanto al grosor de la fase estacionaria, se ha comprobado que los recubrimientos más gruesos favorecen la extracción de los compuestos más volátiles y las fases más finas a los compuestos semivolátiles. Además, las más gruesas presentan mayor sensibilidad al poder extraer más cantidad de compuesto. Sin embargo, necesitan tiempos de extracción más largos para alcanzar el equilibrio (Pawliszyn, 1997).

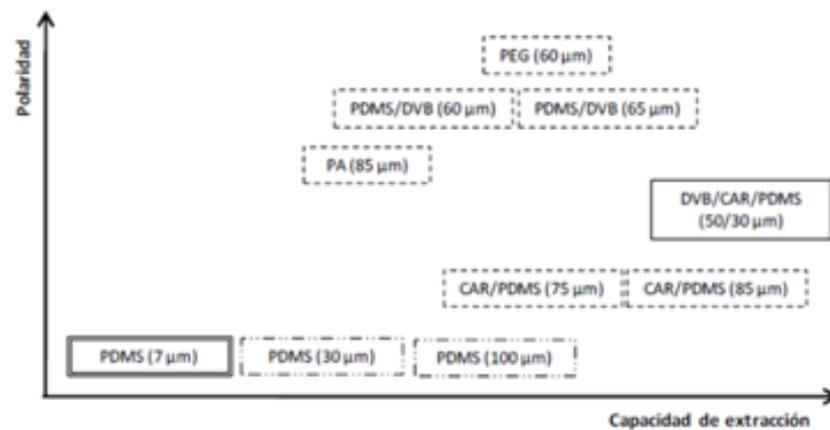


Figura 3. Diferentes tipos de fibra en función de la polaridad y capacidad de extracción.

- Temperatura de extracción: es la temperatura a la cual tiene lugar la extracción de los compuestos volátiles y afecta a la sensibilidad y selectividad del proceso.
- Tiempo de extracción: es el tiempo que la fibra está extrayendo los compuestos evaporados en el espacio de cabeza.
- Tiempo de desorción: es el tiempo necesario para desorber en el inyector los compuestos retenidos por la fibra
- Temperatura de desorción: es la temperatura a la cual se desorben en el inyector los compuestos.

En otros diseños experimentales se tiene como objetivo la optimización de estos parámetros, en este estudio se han seleccionado unas condiciones estándar que resultan favorables.

En la columna, la muestra es arrastrada por la fase móvil la cual es un gas inerte, normalmente Helio (He). De esta manera, los compuestos de las muestras interaccionan con la fase estacionaria de la columna produciéndose la retención de los analitos.

La muestra separada por la columna sale hacia un detector. En nuestro caso el detector acoplado al equipo es un espectrómetro de masas. El detector es el encargado de generar la señal correspondiente y es un instrumento que ioniza especies químicas y las separa basándose en su relación m/z (masa/carga). Esta técnica proporciona tanto información de la masa molecular de un compuesto como información de su estructura (Wrona y Nerín, 2019).

El detector de iones puede trabajar en modo SCAN o SIM, en este estudio al no conocer los componentes de las muestras primero se va a trabajar en SCAN.

Se emplea SCAN con la finalidad de seleccionar todos los iones monitoreados y confirmar los tiempos de retención con los estándares. Así pues, se identifican todos los compuestos de cada una de las muestras, el rango de masas que se emplea para este método es 50 a 400 m/z . Posteriormente, se usa SIM con el objetivo de registrar sólo las masas de los marcadores para identificar y cuantificar los compuestos que interesan, pero en este estudio no se dispuso del tiempo suficiente para llevarse a cabo.

2. 4. Legislación

A nivel general, existen dos reglamentos con los que, independientemente del material del que se trate, aquellos han de cumplir:

- Reglamento (CE) nº1935/2004, de 27 de octubre de 2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos y por el que se derogan las Directivas nº80/590/CEE y 89/109/CEE, de manera que se garantiza que todos los materiales que se ponen en el territorio comunitario cumplen los mismos requisitos de calidad.
- Reglamento (CE) nº2023/2006, de 22 de diciembre de 2006, de la Comisión, sobre buenas prácticas de fabricación de materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos. (AESAN, 2021).

Reglamento (CE) nº1935/2004 contiene una lista de materiales para los que se haya adoptado una legislación específica, pero no existe una legislación específica europea para tintas. Y en su defecto se aplica la legislación europea o la nacional de plásticos:

- Reglamento Europeo de materiales plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos → Reglamento (UE) nº 10/2011.

- Real Decreto Español sobre lista positiva de sustancias permitidas para la fabricación de materiales poliméricos destinados a entrar en contacto con los alimentos, en la que incluyen los adhesivos, siliconas y tintas de impresión → Real Decreto nº 847/2011.

También, se pueden utilizar sustancias que no aparezcan en las listas positivas de sustancias autorizadas de las anteriores legislaciones siempre que haya una barrera funcional (capa de materiales barrera entre el alimento y la capa de estudio, que impide o reduce la migración) y que se cumplan los siguientes requisitos:

- Migración específica de cada compuesto inferior 10 µg/Kg de alimento en las condiciones de contacto previstas.
- El compuesto no haya sido clasificado como mutagénico, carcinogénico o tóxico para la reproducción en la Directiva 67/548/EEC.

Con respecto a los ensayos de migración, se aplicaron las condiciones de ensayo, según la normativa vigente para la determinación de la migración para papel y cartón UNE-EN 14338 y los simulantes alimentarios y las condiciones recogidas en el Reglamento (UE) nº 10/2011 de la Comisión.

En este Reglamento se define qué es un «simulante alimentario» como medio de ensayo que imita un alimento; en su comportamiento, el simulante alimentario imita la migración a partir de materiales en contacto con los alimentos. En el Anexo III titulado “Simulantes alimentarios” de este mismo Reglamento hay una lista con los diferentes simulantes alimentarios y su asignación a los alimentos que en este trabajo se va a emplear el marcado en la Figura 1.

Tabla 1. Anexo III: Simulantes alimentarios del Reglamento (UE) nº 10/2011 con el simulante seleccionado para los ensayos de migración de este trabajo marcado.

Cuadro 1
Lista de simulantes alimentarios

| Simulante alimentario | Abreviatura | | | | | | |
|---|--------------------------|-----|--------|------|-------|------|-------|
| Etanol 10 % (v/v) | Simulante alimentario A | | | | | | |
| Ácido acético 3 % (w/v) | Simulante alimentario B | | | | | | |
| Etanol 20 % (v/v) | Simulante alimentario C | | | | | | |
| Etanol 50 % (v/v) | Simulante alimentario D1 | | | | | | |
| Aceite vegetal (*) | Simulante alimentario D2 | | | | | | |
| poli(óxido de 2,6-difenil-p-fenileno), tamaño de partícula 60-80 malla, tamaño de poro 200 nm | Simulante alimentario E | | | | | | |
| (*) Puede tratarse de cualquier aceite vegetal con esta distribución de ácidos grasos: | | | | | | | |
| Nº de átomos de carbono en la cadena de ácidos grasos: nº de insaturación | 6-12 | 14 | 16 | 18:0 | 18:1 | 18:2 | 18:3 |
| Gama de composición de los ácidos grasos expresada en % (w/w) de ésteres metílicos por cromatografía de gases | < 1 | < 1 | 1,5-20 | < 7 | 15-85 | 5-70 | < 1,5 |

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es determinar la migración de los componentes de las tintas identificados en seis muestras diferentes de vajilla desechable que se encuentran en el mercado.

Para conseguir el objetivo general se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Hacer un análisis cualitativo de los compuestos presentes en diferentes tipos de vajilla desechable mediante un método SPME-GC-MS ("Screening").
- Seleccionar las muestras de vajilla más desfavorables en caso de migración, es decir las que contengan un mayor número de compuestos potencialmente migrantes al alimento.
- Realizar ensayos de migración con simulante E (ya que este tipo de vajilla está destinada a entrar en contacto con alimentos sólidos la mayor parte de las veces) en dos condiciones diferentes según la legislación.
- Identificar los compuestos que han migrado al simulante en las condiciones estudiadas.
- Evaluar la procedencia de esos compuestos y el posible riesgo para la seguridad alimentaria.

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

El trabajo experimental se desarrolló, en el Departamento de Química Analítica de la Escuela de Ingeniería y Arquitectura (EINA) de la Universidad de Zaragoza.

4.1. Instrumentación

El equipo GC-MS utilizado para el análisis de las muestras se compone de:

- Un cromatógrafo de gases Agilent 7890A Columna estándar DB-5 con polaridad intermedia y un tamaño de 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm de Agilent Technologies (Madrid, España)
- Un automuestreador Combi PAL de la marca comercial CTC Analytics que tiene acoplado un Software de análisis de datos MSD ChemStation.
- Un espectrómetro de masas como detector, HP 5973 series mass selective.



Figura 4. Equipo GC-MS

-Fibra de microextracción en fase sólida (SPME). Se eligió la fibra DVB/CAR/PMDS (Divinilbenceno/Carboxen/ polydimethylsiloxano) de 50/30µm de espesor. Suministrada por Supelco (Bellefonte, PA, EE. UU.). Esta fibra es la fibra más polar y con alta capacidad de extracción.

-Centrifuga P selecta Centromix modelo S-549.

-Mini-Centrifuga Beckman Coulter, modelo microfuge 18 centrifuge

-Balanza analítica de precisión Mettler Toledo XS205 Dual Range

-Ultrasonidos Branson 3510

-Evaporador Sample Concentrator Techne

-Soxhlet P Selecta

-Horno para los ensayos de migración.

4.2. Reactivos

Se utiliza etanol 100% (PanReac Applichem ITW Reagens) para realizar la extracción del Tenax[®], simulante utilizado en los ensayos de migración.

4.3. Muestras

Se parte de 6 muestras de vajilla desechable diferentes y de procedencia diversa:

Tres muestras de cartón (M1, M2 y M4) y una muestra de plástico (M3), todas ellas con la superficie de contacto con el alimento completamente cubierta por dibujos impresos (como se puede comprobar en las figuras 5-8); una muestra de cartón blanco (M5) y una muestra de cartón biodegradable (M6). El objetivo era comparar los resultados obtenidos en los platos impresos y los platos sin color.



Figura 5. Muestra 1 (M1).



Figura 6. Muestra 2 (M2).



Figura 7. Muestra 3 (M3).



Figura 8. Muestra 4 (M4).



Figura 9. Muestra 5 (M5).



Figura 10. Muestra 6 (M6).

4.4. Simulantes

Como se ha comentado anteriormente, se utiliza como simulante el poli (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno), tamaño de partícula 60-80 malla, tamaño de poro 200 nm conocido como MPPO o Tenax[®] (Simulante E).

Este simulante se destina a ensayar la migración específica en alimentos secos como es el caso del estudio y, además, es el indicado para materiales de cartón ya que dichos materiales son incompatibles con simulantes líquidos.

4.4.1. Preparación simulantes.

Tal como se establece en la norma UNE-EN 14338, antes de utilizar por primera vez el Tenax[®] en un ensayo, es obligatorio realizar una limpieza con acetona para su total purificación.

El proceso de la limpieza se realizó de la siguiente manera: se coloca el Tenax[®] en un cartucho Soxhlet y se realiza una extracción con acetona durante seis horas. Se extiende el simulante sobre una placa Petri de tamaño adecuado, y se coloca la placa Petri en una campana de extracción. Se deja evaporar el disolvente, mientras se mezcla con frecuencia el producto con

una varilla de vidrio. Seguidamente se coloca la placa Petri durante seis horas en un horno a 160°C. Al ser el Tenax[®] un polvo ligero, es fácil que sea arrastrado por las corrientes del aire, cuando se seque en un horno de aire forzado, las placas deberán cubrirse para evitar que sea arrastrado. Después del calentamiento, si no se necesita inmediatamente, se guarda el Tenax[®] en un recipiente cerrado.

El Tenax[®] puede utilizarse repetidamente si, tras su uso, se limpia utilizando el método anterior,

4.5. Análisis

El primer paso del análisis fue la caracterización o análisis cualitativo de las muestras para así poder identificar los compuestos presentes (“Screening”). De esta manera se pueden identificar los migrantes potenciales, evaluar el riesgo de migración de la muestra y así facilitar el proceso de identificación de los compuestos que hayan migrado al simulante.

4.5.1. “Screening”

Para el análisis cualitativo de las seis muestras de vajilla desechable, las muestras se trocearon previamente en pequeñas porciones de aproximadamente 0,5 cm² para posteriormente analizarlas en el cromatógrafo mediante SPME-GC-MS.

4.5.2. Ensayos de migración

Los ensayos de migración se realizaron de acuerdo con El Reglamento (UE) nº 10/2011, como se ha comentado anteriormente, en el que se establecen las condiciones de contacto (tiempo y temperatura) al usar simulantes alimentarios.

La muestra se pondrá en contacto con el simulante alimentario de un modo que represente las condiciones más desfavorables. Dentro de las condiciones normalizadas de ensayo se seleccionaron:

- Ensayo 1, que se corresponde con ensayo OM2 en el Reglamento: 10 días / 40°C para simular el almacenamiento prolongado a temperatura ambiente o inferior.
- Ensayo 2, que se corresponde con ensayo OM7 en el Reglamento: 2 horas / 175°C que simula el cocinado ya que es para aplicaciones en caliente con alimentos grasos.

Se ha considerado que los dos ensayos cubrían las condiciones más desfavorables, teniendo en cuenta el tiempo de contacto, los alimentos grasos, los alimentos calientes...En el estudio, se va a contrastar la información obtenida en las condiciones de cada uno de los ensayos.

4.5.2.1. Preparación de los ensayos de migración

Las muestras se cortan en trozos de $4 \times 2 \text{ cm}^2$ y se preparan en ellos como una especie de cuna con papel de aluminio (Figura 11) para que el Tenax[®] no se desperdicie ni se desprenda.

La legislación, de acuerdo con la norma UNE-EN 14338, estipula que la proporción debe ser $4 \text{ g Tenax}^{\circledR} / \text{dm}^2$ de material. Se prepararon muestras de los tres platos por triplicado y un blanco. Puesto que la superficie de las muestras era de 0.08 dm^2 ($4 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$), la cantidad de Tenax que se utilizó fue de 0.32 g ($4 \text{ g/dm}^2 \times 0.08 \text{ dm}^2$). El Tenax se repartió por la superficie formando una capa uniforme (Figura 12) sobre la parte destinada a estar en contacto con los alimentos, es decir la parte de la vajilla desechable en la que se encuentran los dibujos.



Figura 11. Muestras preparadas para Tenax[®]

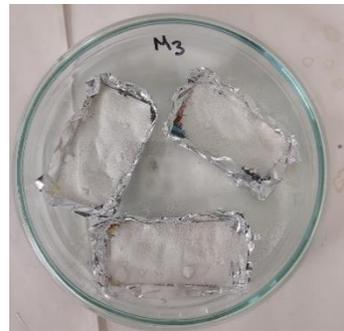


Figura 12. Muestras con Tenax[®]

Este proceso de tratamiento de muestras se realiza seis veces para cada muestra para tener tres réplicas para cada ensayo y 3 blancos. Una vez se cumple el tiempo de ensayo, se realiza una extracción del Tenax[®].

Las muestras seleccionadas para llevar a cabo ensayos de migración fueron M1, M2 y M3 (dos cartones y un plástico).

- **Extracción Tenax[®]**

En primer lugar, se sacan las muestras de la estufa, se recoge cuidadosamente el Tenax[®] de los trozos de vajilla desechable que se separan con una pinza y se pasa a viales. La extracción se realiza con etanol al 100%, su contenido tiene que ser 10 veces el peso del simulante, por lo que se añaden 3.2 ml de etanol a cada tubo que contiene el Tenax[®] recogido del ensayo.

Se preparan unos viales definitivos con el líquido extraído y se sigue todo el proceso mediante análisis gravimétrico, pesando antes y después.

Al añadir 3.2 ml de etanol, se somete a ultrasonidos 30 minutos y tras este tiempo, se pasa con pipeta Pasteur el extracto líquido a un vial definitivo. Este proceso de extracción con ultrasonidos se repite 3 veces, y el líquido extraído en cada proceso se recoge junto con los anteriores en el vial definitivo de cada muestra correspondiente.

Tras las tres extracciones consecutivas, los extractos se centrifugan en una centrífuga a 3000 rpm durante 20 minutos.

Después, se pre-concentra en un evaporador con corriente de nitrógeno y temperatura. Este contiene una placa calefactora que se pone a 40°C para favorecer la evaporación del disolvente.



Figura 13. Concentración de extractos por arrastre con Nitrógeno.

Se concentra hasta tener aproximadamente 3 ml en el vial y se pesan los viales definitivos. Después, se traspasan a unos viales Eppendorf y se centrifugan en una mini-centrífuga 10 minutos a 10.000 rpm (Figura 14). Finalmente se pasa a unos viales más pequeños para inyectarlos en cromatografía de gases (Figura 15). El contenido final de cada muestra es de aproximadamente 1,5 ml.



Figura 14. Mini-centrifuga.



Figura 15. Viales para cromatografía.

4.6. Método de análisis

4.6.1. Condiciones de análisis

Las condiciones utilizadas en el cromatógrafo para conseguir la mejor separación e identificación de los analitos son las siguientes:

Tabla 2. *Condiciones de análisis en Cromatografía*

| | |
|-------------------------------------|---------------------------|
| Flujo de gas | 1.5 ml/min |
| Inyector | 250°C , splitless, 1 μ |
| Rampa de temperatura columna | 50-300°C, ↑10°C/min |
| Detector | SCAN, 50-400mz |

4.6.2. Método de inyección

Por un lado, el análisis de la muestra para el “Screening” se realiza mediante SPME (al ser muestras sólidas) y, por otro lado, el Tenax extraído se introduce en el cromatógrafo mediante inyección líquida. Además, se llevó a cabo una dilución al 10% con agua ultrapura (agua Milli-Q®) de los extractos de Tenax obtenidos para analizarlos también mediante SPME y mejorar la sensibilidad.

Tabla 3. *Condiciones utilizadas para la SPME*

| Incubación | | Extracción | | Desorción | |
|-------------------|-------------|-------------------|-------------|------------------|-------------|
| Tiempo | Temperatura | Tiempo | Temperatura | Tiempo | Temperatura |
| 2 min | 80°C | 30 min | 80°C | 2 min | 250°C |

4.6.3. Identificación

El cromatógrafo de gases permite la identificación de los compuestos mediante los datos obtenidos por el Software y con la ayuda de una librería de espectros de masas comercial NIST (Instituto Nacional de Estándares y Tecnología).

Mediante los cromatogramas obtenidos se puede hacer la identificación del compuesto que se corresponde con el pico que aparece en un determinado tiempo de retención. Para la identificación exacta sería necesario inyectar patrones, pero es prácticamente imposible disponer de todos los patrones e inasumible comprar todos los patrones de los posibles compuestos. En ausencia de patrones y para un análisis previo se recurre al uso de librerías oficiales de espectros donde se encuentran recogidos los espectros de miles de compuestos.

En nuestro caso se emplea la librería, por lo que cuando se consigue aislar con claridad una masa, se abre la librería la cual ofrece diferentes opciones de compuestos que pueden ser según la similitud entre el espectro obtenido y el que tiene registrado para ese compuesto. Para su elección, se compara el “Match” obtenido y se elige el más alto que como valor mínimo tiene sea de 800.

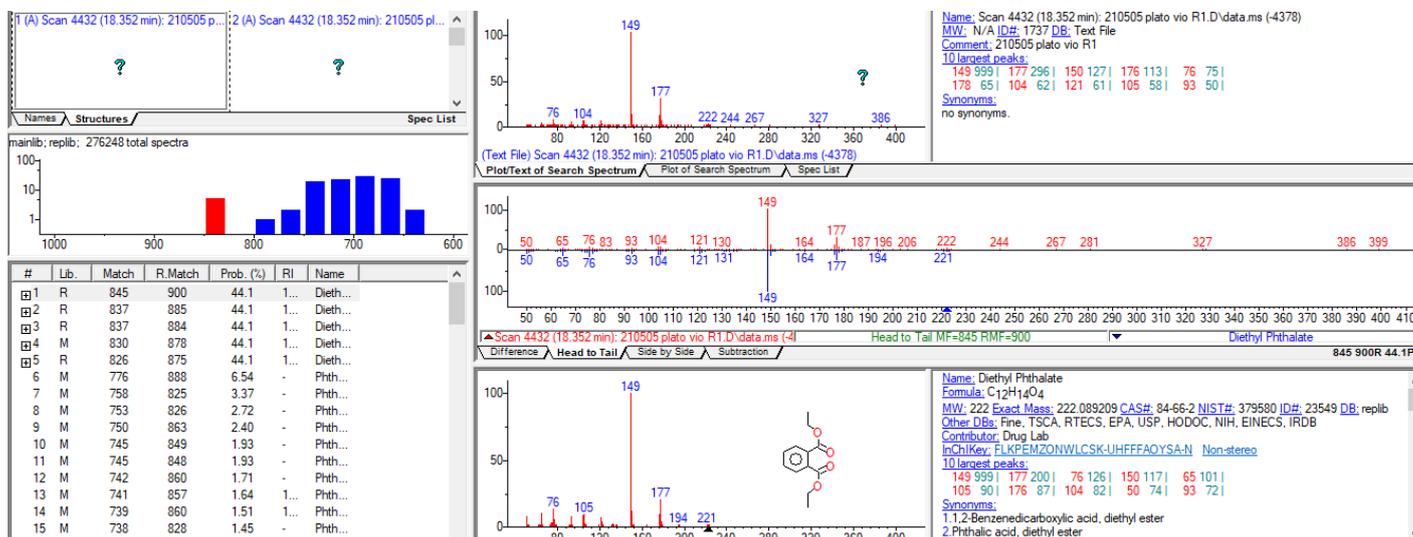


Figura 16. Ejemplo de librería NIST para Diethyl phthalate de masa característica 149.

En la Figura 16, aparecen las diferentes opciones de compuesto a la izquierda junto a su “Match”, las masas aisladas en la gráfica de arriba (149, 177), su estructura y a la derecha abajo los datos del compuesto con el que más se corresponde (Fórmula, molécula, CAS...)

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. “Screening”

En primer lugar, se analizan los resultados obtenidos mediante el análisis por SPME-GC-MS de las 6 muestras, análisis correspondiente al “Screening”. La figura 17 muestra la superposición de los cromatogramas de las distintas muestras.

Se inyectó, a la vez que las muestras, un blanco, en el cual se detectaron compuestos procedentes de la columna del equipo, principalmente siloxanos. Estos compuestos tienen masas características, como 73 o 355, y aparecen en tiempos de retención más largos, a partir de los 26 minutos. Algunos compuestos referentes fueron: cyclopentasiloxane decamethyl, heptasiloxane hexadecamethyl, octasiloxane 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15 hexadeca methyl ...Estos compuestos no se tuvieron en cuenta en el análisis de las muestras, ya que no proceden de la muestra sino de la columna.

En la siguiente figura se puede ver los cromatogramas superpuestos de todas las muestras.

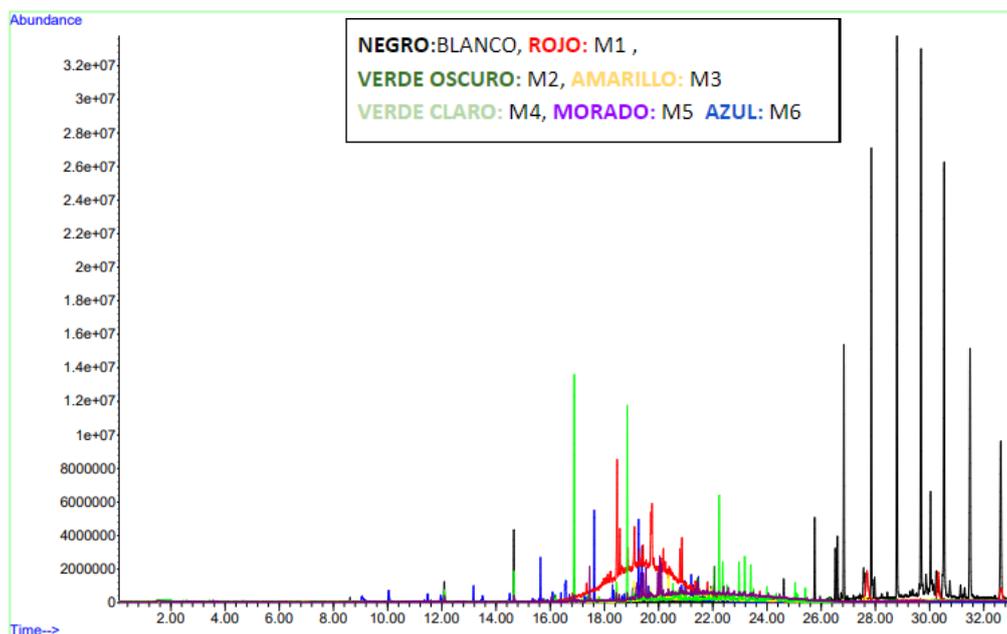


Figura 17: Cromatograma del "Screening" de todas las muestras superpuestas.

Como se puede comprobar, cada muestra presenta un perfil cromatográfico diferente.

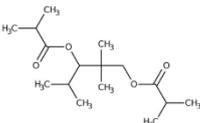
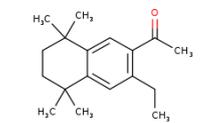
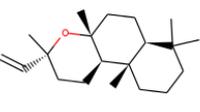
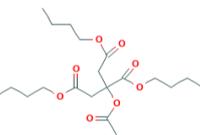
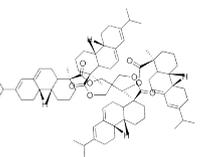
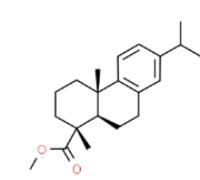
También se observó en algunas de las muestras (muestras con tintas) que según el trozo de cartón/plástico analizado, podían observarse diferencias entre las diferentes réplicas (Anexo I). Esta falta de homogeneidad puede deberse a los diferentes dibujos y a las diferentes tintas empleadas en la impresión. Se pudo observar en general que:

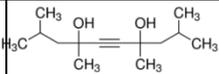
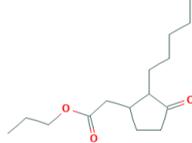
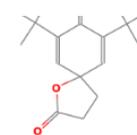
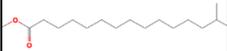
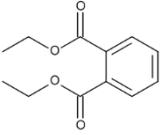
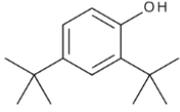
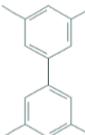
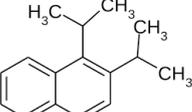
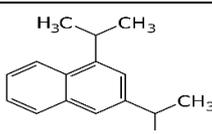
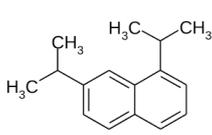
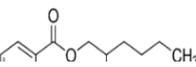
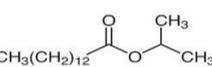
- Muestra 1 (M1): Contiene muchos picos y muy próximos, el patrón que se observa coincide con un perfil característico de contaminación por aceites minerales en el que es imposible identificar los compuestos presentes ya que el cromatograma aparece como una montaña sin picos definido. Esto se puede comprobar viendo el perfil cromatografico característico de aceites minerales (Anexo II).
- Muestra 2 (M2): en esta muestra no aparecen gran cantidad de picos, por lo que se identifican menos compuestos en comparación con otras. Además, los picos que se obtuvieron no son muy grandes.
- Muestra 3 (M3): esta muestra se corresponde con el material plástico y es la que mayor número de compuestos de interés contiene. Además, hay diferencias de compuestos entre las réplicas.

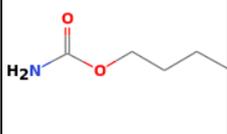
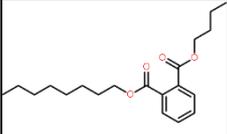
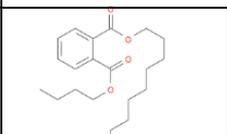
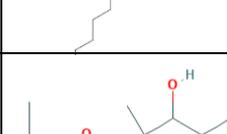
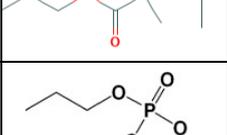
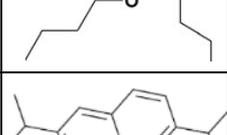
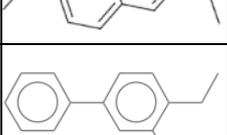
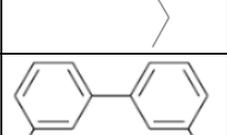
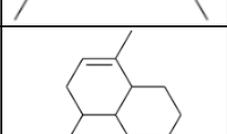
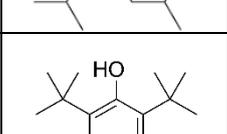
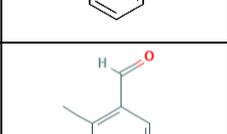
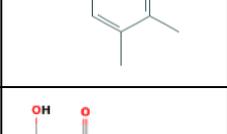
- Muestra 4 (M4): no es muy elevado el número de compuestos de interés que aparecen, pero los picos obtenidos en los cromatogramas son muy marcados.
- Muestra 5 (M5): en esta muestra el tamaño de los picos en el cromatograma no es muy elevado, aunque sí que aparecen bastante próximos entre sí.
- Muestra 6 (M6): los picos referentes a esta muestra son muy marcados y con una distancia equilibrada entre ellos, obteniéndose los compuestos en tiempo de retención más bien tempranos.

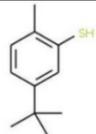
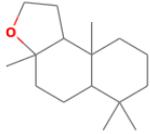
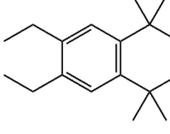
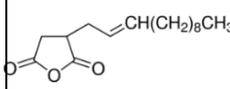
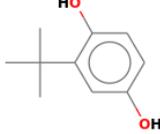
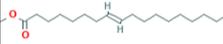
Se estableció una comparación entre los compuestos que contienen las diferentes muestras y esta información se recoge en la Tabla 4. El “Match” te marca la semejanza entre el espectro encontrado y el del compuesto, y va de 1 a 1000. En todos los casos solo se ha considerado los compuestos identificados con un match superior a 800.

Tabla 4. *Compuestos presentes en las diferentes muestras de “Screening”.*

| COMPUESTO | MOLÉCULA | FÓRMULA | MASA | CAS | M 1 | M 2 | M 3 | M 4 | M 5 | M 6 |
|--|---|--|------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol disobutyrate |  | C ₁₆ H ₃₀ O ₄ | 71 | 6846-50-0 | | | | | | |
| 7-acetyl-6ethyl-1,1,4,4-tetraethyl tetralin |  | C ₁₈ H ₂₆ O | 243 | 88-29-9 | | | | | | |
| 1-H naphthol(2,1b)pyran, 3-ethenyl-dodecahydro-3,4a,7,7,10-pentamethyl |  | C ₂₀ H ₃₄ O | 275 | 1227-93-6 | | | | | | |
| Tributyl acetyl citrate |  | C ₂₀ H ₃₄ O ₈ | 185 | 77-90-7 | | | | | | |
| 1-Phenanthrene Carboxaldehyde-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl) |  | C ₂₀ H ₂₈ O | 269 | 13601-88-2 | | | | | | |
| Methyl dehydroabietate |  | C ₂₁ H ₃₀ O ₂ | 239 | 1235-74-1 | | | | | | |

| | | | | | | | | | | |
|--|---|-------------------|-------|--------------|--|--|--|--|--|--|
| 2,4,7,9 tetramethyl-5-decyne-4,7diol |  | $C_{14}H_{26}O_2$ | 109 | 126-86-3 | | | | | | |
| cyclopentane acetic acid, 3-oxo-2penthylmethyl ester |  | $C_{13}H_{22}O_3$ | 83 | 24851-987 | | | | | | |
| 7,9di-tert-butyl-1 oxaspiro(4,5)deca-6,9diene-2,8dione |  | $C_{17}H_{24}O_3$ | 205 | 82304-66-3 | | | | | | |
| pentadecanoicacid, 1,4methyl methyl ester |  | $C_{17}H_{34}O_8$ | 270 | 5129-60-2 | | | | | | |
| Diethyl phthalate |  | $C_{12}H_{10}O_4$ | 149 | 84-66-2 | | | | | | |
| 2,4di-tert-butylphenol |  | $C_{14}H_{22}O$ | 191 | 96-76-4 | | | | | | |
| 3'5'3'5'tetramethyl biphenyl |  | $C_{16}H_{18}$ | 195.2 | 25570-02-9 | | | | | | |
| 1,2 di-isopropyl naphthalene |  | $C_{16}H_{20}$ | 197 | NIST: 374052 | | | | | | |
| 1,3-di-isopropyl naphthalene |  | $C_{16}H_{20}$ | 197 | NIST: 374052 | | | | | | |
| 1-7 di-sopropyl naphthalene |  | $C_{16}H_{20}$ | 197.1 | NIST: 374061 | | | | | | |
| 2-ethylhexyl salicylate |  | $C_{15}H_{22}O_3$ | 120 | 118-60-5 | | | | | | |
| isopropyl myristate |  | $C_{17}H_{34}O_2$ | 228.2 | 110-27-0 | | | | | | |
| Benzen1,1'(2methyl-2 phenylbicyclo propylidene)bis trans |  | $C_{22}H_{20}S$ | 206.2 | 56728-02-0 | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|--|---|--|------------|-----------------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| Thio Carbamic acid N,N-dimethyl 5- 1,3diphenyl-2-butanol ester |  | C ₁₉ H ₂₁ NOS | 311 | NIST: 192892 | | | | | | | | |
| 1- 2benzenedicarboxylic acid butyl octyl ester |  | C ₂₀ H ₃₀ O ₄ | 334.21 | 84-78-6 | | | | | | | | |
| Phthalic acid, butyl tridecyl ester |  | C ₂₅ H ₄₀ O ₄ | 404 | NIST: 308993 | | | | | | | | |
| pentanoic acid, 2,2,4trimethyl-3- hydroxy isobutyl ester |  | C ₁₂ H ₂₄ O ₃ | 71 82.9 | 244074- 78-0 | | | | | | | | |
| tributyl phosphate |  | C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P | 99 | 126-73-8 | | | | | | | | |
| 2-6 diisopropyl naphthalene |  | C ₁₆ H ₂₀ | 197.1 | 24157-81- 1 | | | | | | | | |
| 1-1'Biphenyl,3- 4diethyl |  | C ₁₆ H ₁₈ | 195.1 | 61141-66- 0 | | | | | | | | |
| Isopropyl palmitate |  | C ₁₉ H ₃₈ O ₂ | 256.3 | 142-91-6 | | | | | | | | |
| Naphthalene,1,2,4a,5, 6,8a-hexahydro-4,7- dimethyl-1-(1 methylethyl)- |  | C ₁₅ H ₂₄ | 161 | 483-75-0 | | | | | | | | |
| Phenol, 2,5-bis(1,1- dimethylethyl)- |  | C ₁₄ H ₂₂ O | 191.2 | 5875-45-6 | | | | | | | | |
| Benzaldehyde, 2,4,5- trimethyl- |  | C ₁₀ H ₁₂ O | 147.1 | 5779-72-6 | | | | | | | | |
| Benzoic acid, 2- hydroxy-, pentyl ester |  | C ₁₂ H ₁₆ O ₃ | 120 | 2050-08-0 | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | |
|--|---|-------------------|--------------|------------|--|--|--|--|--|--|
| 5-tert-Butyl-2-methylbenzenethiol |  | $C_{11}H_{16}S$ | 165.1 180 | 7340-90-1 | | | | | | |
| Naphtho[2,1-b]furan, dodecahydro-3a,6,6,9a-tetramethyl- |  | $C_{19}H_{38}O_2$ | 221.2 | 3738-00-9 | | | | | | |
| Naphthalene, 6,7-diethyl-1,2,3,4-tetrahydro-1,1,4,4-tetramethyl- |  | $C_{18}H_{28}$ | 229.2 | 55741-10-1 | | | | | | |
| 2-dodecen-1-yl succinic anhydride |  | $C_{16}H_{26}O_3$ | 55 95 | 19780-11-1 | | | | | | |
| 2,4di-tert-butylhydroquinone |  | $C_{14}H_{22}O_2$ | 222 | 2444-28-2 | | | | | | |
| 8-octamethyl methyl ester acid |  | $C_{19}H_{36}O_2$ | 264.3 | 6528-50-7 | | | | | | |

En todas estas muestras además de los compuestos que se han comentado, aparecen alcanos, pero que no son considerados de interés en este trabajo ya que nos hemos centrado en los compuestos que pueden ser más tóxicos o estar más relacionados con la seguridad alimentaria.

Se puede observar en la Tabla 4 que en las muestras seleccionadas para la migración son aquellas con dibujos impresos en las que más compuestos se identificaron. Además, se consideró interesante comparar los resultados entre plástico y cartón.

La muestra M6 se incorporó al final al estudio después de haber hecho los ensayos de migración. Se consideró que al ser material "bio" los resultados serían insignificantes, pero se puede comprobar que es donde más compuestos se identificaron.

El compuesto 7-acetyl-6ethyl-1,1,4,4 tetramethyl tetralin es el único que aparece en todas las muestras.

Algunos de los compuestos presentes se han identificado en trabajos anteriores realizados con envases alimentarios y son conocidos o se sospecha su procedencia.

Se relacionaron algunos de los compuestos identificados con su origen. Los compuestos como benzaldehídos (Benzaldehyde, 2,4,5-trimethyl-), fenoles (Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-) y

ácido benzoico (Benzoic acid, 2-hydroxy-, pentyl ester) son empleados habitualmente en tintas de impresión (Asensio, Peiro y Nerín, 2019).

En la lista de inventario de la Asociación Europea de Tinta de Impresión (EuPIA), aparecen diferentes categorías, diethyl phthalate, 2,4-di-tert-butylphenol, isopropyl myristate están incluidos en sustancias utilizadas como aditivos o ingredientes de preparaciones de aditivos. (García et al., 2019).

Los ftalatos son uno de los grupos de compuestos más comunes presentes en los materiales de envasado de alimentos debido a su presencia en pinturas, tintas de impresión, lacas, películas y adhesivos. Entre los aditivos plásticos de uso común se encuentra el Diethyl phthalate (Su et al., 2021) que es un disolvente para mantener el color. (García et al., 2019) En este trabajo coincide que Diethyl phthalate se identifica en la muestra de material plástico (M3).

Entre los plastificantes, el Tributyl acetylacrylate es comúnmente utilizados en tintas y recubrimientos para mejorar su flexibilidad. (Blanco-Zubiaguirre et al., 2020) y Isopropyl myristate se usa como plastificante para celulosa, así como como dispersante y aglutinante de pigmentos (García et al., 2019).

Un compuesto relevante que aparece en la mitad de las muestras es 7,9 di-tert-butyl-1-oxaspiro (4,5) deca-6-9-dieno-2,8-diona que es un producto de degradación de un antioxidante (Nerín et al., 2016 ; Su et al., 2021) y el 2,4-di-tert-butylfenol es un compuesto de degradación del antioxidante Irgafos 168 (Blanco-Zubiaguirre et al., 2020).

Los derivados de hidroquinona (2,4-di-tert-butylhydroquinone) se introducen intencionadamente en los monómeros como estabilizadores para evitar una polimerización prematura de los materiales. El Methyl dehydroabietate es un compuesto del papel que se aplica tanto en el lado impreso (parte externa de los envases) como en el lado de contacto con los alimentos (García et al., 2019).

Los picos de di-isopropil naftalenos (DIPN) son excelentes marcadores para la migración de papel y cartón reciclados (Moret et al., 2013). La presencia de 2,6-diisopropil naftaleno podría estar relacionada con el papel / cartón reciclado utilizado en la fabricación de platos de cartón. (Su et al., 2021)

5.2. Ensayos de migración

Como se ha mencionado anteriormente, solo se hicieron ensayos de migración en tres de las seis muestras. Se eligieron las tres muestras más representativas (M1, M2 y M3) por ser las que más compuestos presentaban y considerarse las de mayor riesgo potencial. Una de las muestras que más compuestos presenta, la M6, se incorporó al trabajo después de haber llevado a cabo los ensayos de migración por lo que no se tuvo en cuenta para los ensayos. A todas ellas, se les aplicó las condiciones de ensayo seleccionadas, siendo 40°C/10 días (E1) Y 175°C/2horas (E2). Posteriormente, tras la realización del ensayo, el concentrado obtenido de cada muestra correspondiente a su ensayo, se inyecta en el cromatógrafo mediante inyección directa o por SPME (previamente diluido).

5.2.1 Comparación entre la muestra y los extractos de los ensayos de migración inyectados por inyección líquida.

En primer lugar, se comparan los cromatogramas de las muestras analizadas por SPME ("Screening") con los cromatogramas de ambos ensayos de migración inyectados por inyección líquida. Concretamente, en la Figura 19 se establece la comparación de la Muestra 1 (M1) donde se superponen los cromatogramas obtenidos de los tres análisis.

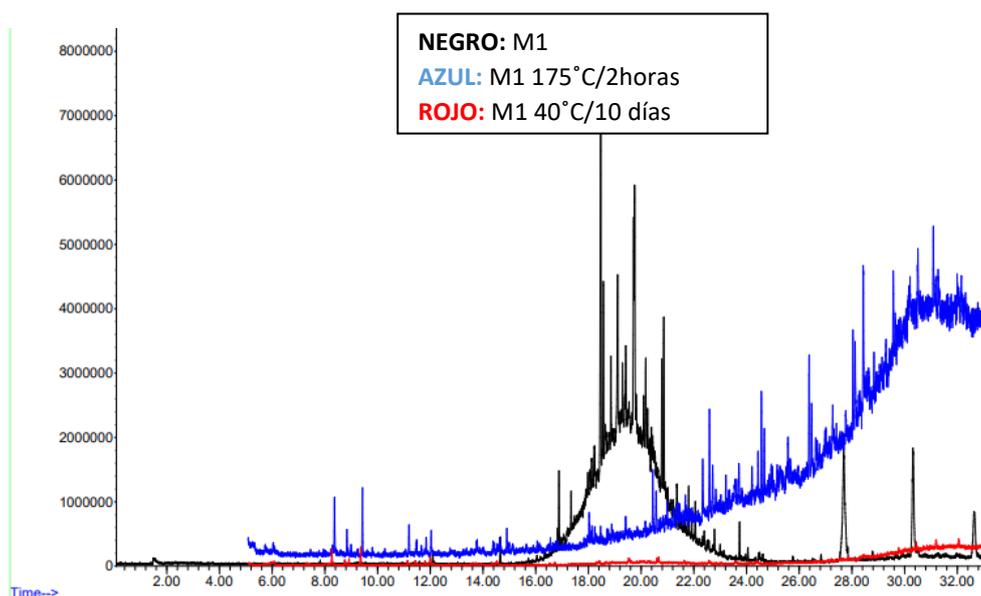


Figura 18. Cromatograma de la muestra y de los compuestos migrantes de ambos ensayos de migración de la Muestra 1 (M1).

Se puede observar en los cromatogramas que no hay ninguna semejanza entre los resultados obtenidos con cada análisis. Esto significa que inicialmente no se puede comprobar cuáles de los compuestos presentes en la muestra han migrado al simulante en esas dos condiciones de ensayo. Esto mismo se reproduce con la Muestra 2 (M2) y la Muestra 3 (M3) cuyas imágenes se pueden observar en el Anexo III.

Esto llevo al planteamiento de diluir el extracto obtenido en los ensayos de migración e inyectarlo mediante SPME para así poder preconcentrar y aumentar la sensibilidad.

5.2.2 Compuestos identificados en inyección líquida

Con respecto a los resultados procedentes de los ensayos, ambos inyectados por inyección líquida, se identificaron un mayor número de compuestos de migración procedentes del ensayo de 175°C/2horas (Figura 19 y 20). El aumento de temperatura puede favorecer la migración de los compuestos de tal forma que se detectan más en el ensayo de 175°C/2horas que en 40°C/10 días, aunque el tiempo sea menor.

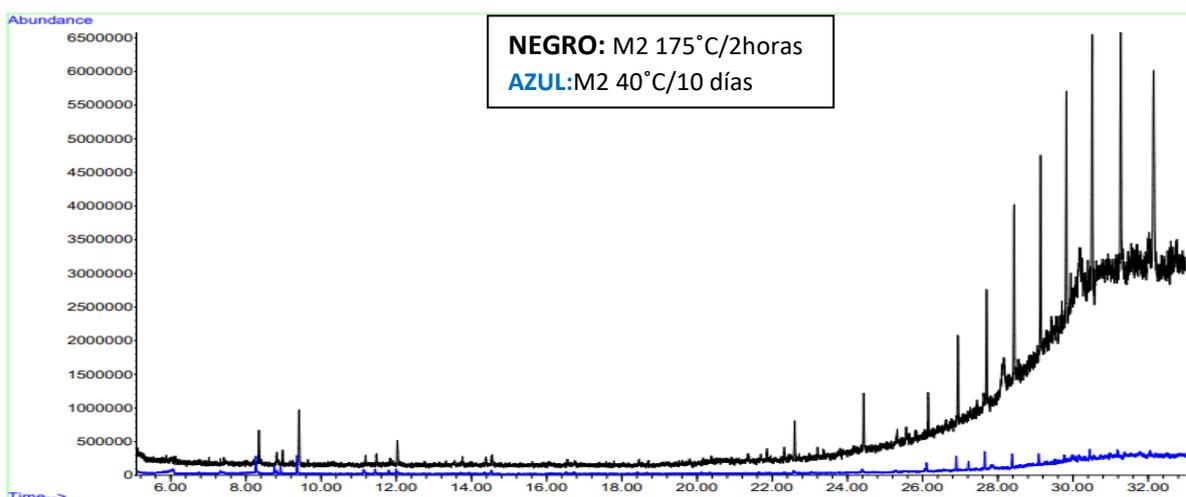


Figura 19. Cromatograma de migrantes procedentes de ensayos de migración de Muestra 2 (M2).

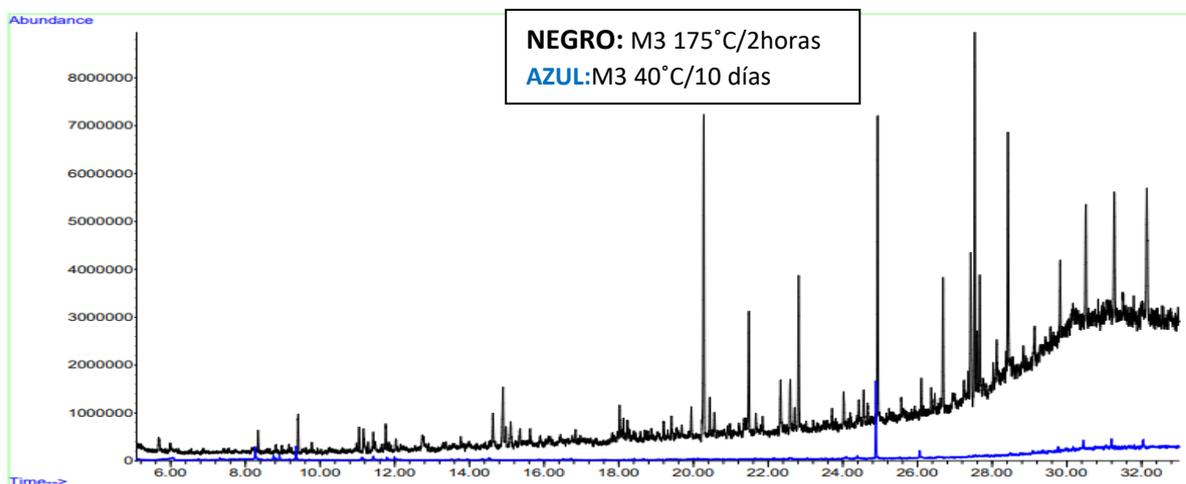


Figura 20. Cromatograma de migrantes procedentes ensayos de migración de Muestra 3 (M3).

Los compuestos migrantes de las muestras M2 Y M3 se pueden ver en las tablas del Anexo III. Mientras que los de la M1 se pueden ver en el siguiente apartado (Tablas 5 y 6).

5.2.3. Comparación entre los resultados obtenidos por inyección líquida y SPME

Se establece una comparación de cada ensayo por separado en las mismas condiciones y con diferente método de inyección. El objetivo de esta comparación es comprobar si mejoran los resultados con SPME y así se puede comprobar mejor el riesgo de migración.

Por un lado, los concentrados procedentes del ensayo de migración de 175°C/2horas (condiciones de cocinado) inyectado por SMPE y por inyección directa (Figura 21). Por otro, los concentrados procedentes del ensayo de migración de 40°C/10 días (condiciones de largo almacenamiento) inyectado por SMPE y por inyección directa (Figura 22).

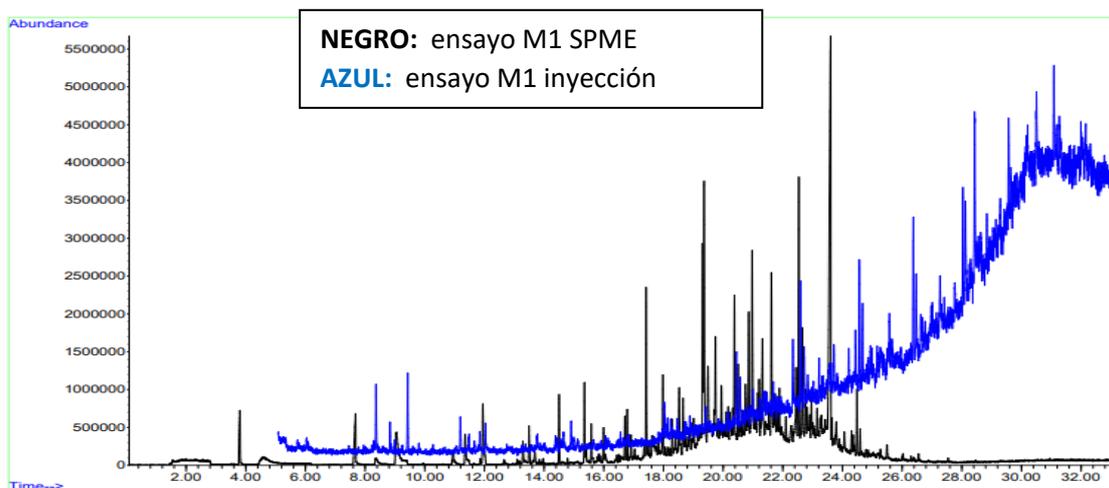


Figura 21. Cromatograma de los compuestos migrantes de los ensayos de migración en condiciones de 175°C/2horas.

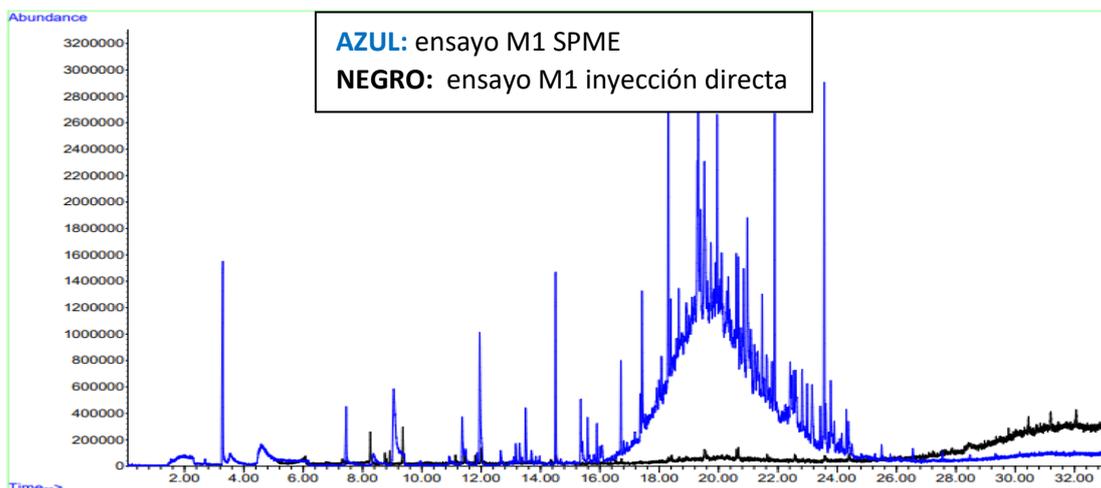


Figura 22. Cromatograma de los compuestos migrantes de los ensayos de migración en condiciones de 40°C/10 días.

En la identificación de los compuestos según el método de inyección (Tabla 5 y Tabla 6) que aparecían en cada muestra, se corrobora que la SPME ofrece mayor sensibilidad.

Tabla 5. Compuestos que han migrado de la Muestra 1 en el Ensayo 175°C/2horas.

| COMPUESTOS (SPME) | CAS | FÓRMULA | MASA | COMPUESTOS (INYECCIÓN LÍQUIDA) | CAS | FÓRMULA | MASA |
|--|--------------|--|--------------|--|--------------|--|------------|
| Oxime, methoxy-phenyl | NIST: 222866 | C ₈ H ₉ NO ₂ | 133 151 | 1-buten-3-one(1-2carboxy4.4dimethylcyclobutenyl) | NIST: 196979 | C ₁₁ H ₁₄ O ₃ | 151 133 |
| Benzoic acid, ethyl ester | 93-89-0 | C ₉ H ₁₀ O ₂ | 105 77 | 1,1'-Binaphthalene, 5,5',6,6',7,7',8,8'-octahydro- | 1154-14-9 | C ₂₀ H ₂₂ | 262 |
| Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl) | 25679-28-1 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | Erudic acid | 112-86-7 | C ₂₂ H ₄₂ O ₂ | 123 |
| Naphthalene, 1,2-dihydro-7-methoxy- | 52178-91-3 | C ₁₁ H ₁₂ O | 160 145 | p-terphenyl,4,4''diamine | 3365-85-3 | C ₁₈ H ₁₀ N ₂ | 260.1 |
| Phenanthrene, 9-dodecyltetradecahydro- | 55334-01-5 | C ₂₆ H ₄₈ | 191 | 10-hidroxy-5,7 dimethoxy-2,3dimethyl1,4anthracenedione | 84542-59-6 | C ₁₈ H ₁₀ O ₅ | 69.2 |
| 1-7 diisopropyl naphthalene | NIST: 374061 | C ₁₆ H ₂₀ | 197.1 212 | Naphthol(2,1b)thiophene-2-phenyl | 16527-38-5 | C ₁₈ H ₁₂ S | 260 281 |
| Phenol, 2,5-bis(1-methylpropyl)- | 54932-77-3 | C ₁₄ H ₂₂ O | 177 | | | | |
| 2-Ethylhexyl salicylate | 118-60-5 | C ₁₅ H ₂₂ O ₃ | 120 138 | | | | |
| 1-Pentanone, 1,3-diphenyl- | NIST:26 4907 | C ₁₇ H ₁₈ O | 209 | | | | |
| (Palmítico) Hexadecanoic acid, octadecyl ester | 2598-99-4 | C ₃₄ H ₆₈ O ₂ | 257.3 | | | | |

Tabla 6. Compuestos que han migrado de la Muestra 1 en el Ensayo 40°C/10 días.

| COMPUESTOS (SPME) | CAS | FÓRMULA | MASA | COMPUESTOS (INYECCIÓN LÍQUIDA) | CAS | FÓRMULA | MASA |
|---|----------------|--|------------|--|------------|--|---------------|
| Oxime, methoxy-phenyl | NIST: 222866 | C ₈ H ₉ NO ₂ | 133 151 | octadecane-3-ethyl-5-2(ethylbutyl) | 55282-12-7 | C ₂₆ H ₅₄ | 57 |
| Benzoic acid, ethyl ester | 93-89-0 | C ₉ H ₁₀ O ₂ | 105 77 | Hexadecanoic acid, ethyl ester (palmitate) | 628-97-7 | C ₁₈ H ₃₆ O ₂ | 88 |
| Benzene,1methoxy-4-(1-propenyl | 25679-28-1 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 2-butenedioic acid (E)-bis(2-ethylhexyl) ester | 141-02-6 | C ₂₀ H ₃₆ O ₄ | 70.1 112.2 |
| 2,6-Di-tertbutyl-1,4benzoquinone | 719-22-2 | C ₁₄ H ₂₀ O ₂ | 220 | | | | |
| 2-4 di-tert-butylphenol | 9676-4 | C ₁₄ H ₂₂ O | 191 | | | | |
| 1Phenanthrenecarboxylic acid, 7 ethyltetradecahydro-1,4a,7-trimethyl-, methyl ester,[1R-(1α,4aβ,4bα,7β,8aβ,10α)]- | 4614-69-1 | C ₂₁ H ₃₆ O | 163.1 | | | | |
| 1-3 diisopropyl naphthalene | NIST: 30074052 | C ₁₆ H ₂₀ | 197 | | | | |
| 1,4-di-isopropyl naphthalene | NIST: 374057 | C ₁₆ H ₂₀ | 197 212 | | | | |
| 2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,5-bis(1,1-dimethylpropyl)- | 4584-63-8 | C ₁₆ H ₂₄ O ₂ | 177.1 | | | | |
| 2-Ethylhexyl salicylate | 118-60-5 | C ₁₆ H ₂₄ O ₂ | 120 138 | | | | |
| Methyl abietate | 127-25-3 | C ₂₁ H ₃₂ O ₂ | 241 159 | | | | |

En las tablas 5 y 6 se comparan los compuestos identificados que pertenecen a la Muestra 1 (M1) pero también presentaba mayor sensibilidad el método SPME con respecto a la Muestra 2 (M2) y a la Muestra 3 (M3).

Los compuestos migrantes procedentes de M2 Y M3 en las diferentes condiciones de ensayo mediante inyección líquida se encuentran en el Anexo IV y mediante SPME se encuentran en Anexo V. Con respecto a la M3 no se obtuvieron compuestos procedentes del ensayo de migración 175°C/2horas ya que los obtenidos eran igual al blanco.

En la comparación de ambos ensayos, por SPME no se aprecia tanta diferencia en la cantidad identificada de compuestos migrantes entre los ensayos de 175°C/2horas y 40°C/10 días como ocurría en inyección líquida, que aparecían más compuestos en E2 (175°C/2horas).

Además, en la Muestra (M1) varios compuestos identificados de SPME coinciden en las diferentes condiciones de ensayo como: 2-Ethylhexyl salicylate, Benzoic acid, ethyl ester, Oxime, methoxy-phenyl, di- iso-propylnaphthalene y Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl).

5.2.4 Comparación entre la muestra y los extractos de los ensayos de migración inyectados por SPME.

Por último, se comparan las muestras con ambos ensayos de migración, todos ellos inyectados por SPME ya que los compuestos migrantes presentan mayor sensibilidad mediante este método de inyección. La finalidad de esta comparación es comprobar la coincidencia entre los compuestos identificados en la muestra y los que han migrado en cada ensayo.

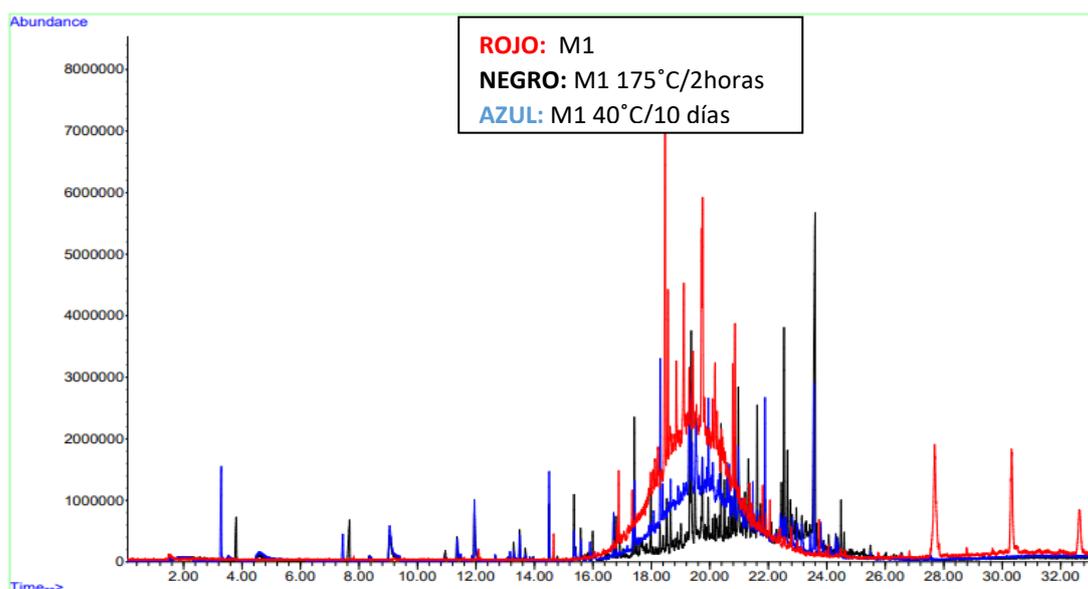


Figura 23. Cromatograma de la muestra y de los compuestos migrantes de ambos ensayos de migración de la Muestra 1 (M1)

En la Figura 23 se observa la superposición de análisis referente a las Muestra 1 (M1). Mientras que los cromatogramas de las Muestra 2 (M2) Y Muestra 3 (M3) se encuentran en el Anexo VI.

Como se puede observar en el cromatograma, es mayor la semejanza entre los resultados obtenidos en el "Screening" de la muestra con los ensayos, sobretodo el de la muestra (M1) y el que se corresponde con el ensayo de 40°C/10 días.

Con respecto a M1, los compuestos migrantes son diferentes a los de la muestra por lo que se ha podido producir algún tipo de contaminación o se han formado nuevos compuestos. Los derivados de naphthalenes que se han podido formar por reacciones o se deben a la presencia de aceites minerales (Jaén et al., 2021). El Oxime, methoxy-phenyl se ha podido formar mediante la reacción de aldehídos o cetonas con un agente reductor que contiene nitrógeno en un medio poco ácido durante el tratamiento de alta temperatura (Dursun, Güler y Emre, 2016)

En el caso de M2 los compuestos que ha migrado son 7,9di-tert-butyl-1 oxaspiro (4,5) deca-6,9diene-2,8dione, 2-ethylhexyl salicylate y también aparecen nuevos compuestos como el ácido hexadecanoico que se origina por degradación de agente deslizando (Blanco-Zubiaguirre et al., 2020)

Por último, en M3 (muestra de plástico) a pesar de que no se identificaron compuestos procedentes del ensayo de migración 175°C/2horas, se observan varios compuestos migrantes que también estaban en la muestra como: 2,4-Di-tert-butylphenol, Isopropyl myristate, 7-acetyl-6ethyl-1,1,4,4-tetramethyl tetralin, Phenol, 2,5-bis(1,1-dimethylethyl)-, Phthalic acid, butyl tridecyl ester, 2-ethylhexyl salicylate, 1,3-isopropyl naphthalene y 3'5'3'5'tetramethyl biphenyl.

5.3 Toxicidad

Se utilizaron las reglas de Cramer para estimar la toxicidad de los compuestos identificados mediante el programa Toxtree (versión 3.1.0.1851) que permite clasificar los compuestos químicos en tres clases estructurales principalmente sobre la base de la estructura química y la reactividad (García et al., 2019):

-Clase I (baja toxicidad): para sustancias con estructuras químicas simples y modos eficientes de metabolismo.

-Clase II (toxicidad intermedia) para sustancias que pueden sugerir una toxicidad significativa o que tienen grupos funcionales reactivos.

- Clase III (alta toxicidad) sustancias de una estructura química que no permiten una impresión inicial fuerte de seguridad e incluso pueden sugerir una toxicidad significativa.

Algunos de los compuestos identificados en las muestras se evaluaron en este programa.

De cada compuesto, se busca el SMILE correspondiente y en base a las características de la muestra se hace una evaluación teórica de su toxicidad. En la siguiente figura 24 se puede ver un ejemplo de cómo caracteriza a uno de los compuestos seleccionados (Benzen1,1' (2methyl-2 phenylbicyclo propylidene) bis trans) como Clase III, es decir de alta toxicidad ya que tiene anillos aromáticos en su estructura.

The screenshot shows the Toxtree v2.6.6 interface. The chemical ID is CC1(CC1(c2ccccc2)c3ccccc3)S(=O)(=O)c4ccccc4. The Cramer rules are set to High (Class III). The structure diagram shows a complex molecule with two phenyl rings and a bicyclic propylidene group. The toxic hazard is classified as High (Class III). The Cramer rules list includes Q1-Q33, with Q28 'More than one aromatic ring' being 'Yes', which is the reason for the High (Class III) classification.

Figura 24. Ejemplo programa Toxtree del compuesto Benzen1,1' (2methyl-2 phenylbicyclo propylidene) bis trans.

De los compuestos menos estudiados en cuanto a toxicidad se ha hecho el cálculo según Cramer y los resultados obtenidos son los siguientes:

- 7-acetyl-6ethyl1,1,4,4tetramethyl tetralin, 1-Phenanthrene Carboxaldehyde1,2,3,4,4a, 9,10,10a,octahydro1,4adimethyl-7- 1(methylethyl) y Methyl dehydroabietate tienen toxicidad Clase II.
- 1-H-naphthol(2,1b)pyran, 3-ethenyldodecahydro3,4a,7,7,10pentamethyl, 3'5'3'5'tetramethyl biphenyl, 1,2 di-isopropyl naphthalene, 1,3-di-isopropyl naphthalene, 1-7 di-sopropyl naphthalene, Benzen1,1'(2methyl-2 phenylbicyclo propylidene)bis trans, 2-6 diisopropyl naphthalene, 1-1'Biphenyl,3-4diethyl,

Naphtho[2,1-b]furan, dodecahydro-3a,6,6,9a-tetramethyl y Naphthalene, 6,7-diethyl-1,2,3,4-tetrahydro-1,1,4,4-tetramethyl tienen toxicidad Clase III.

6. CONCLUSIONES

-Los compuestos detectados, tanto los presentes en las muestras como los que han migrado, están relacionados con los componentes presentes en los materiales en contacto con alimentos y con las tintas de impresión.

-Se observan diferencias entre las seis muestras de vajilla desechable, destacando la aparición de numerosos compuestos en el plato biodegradable que no tiene imágenes impresas. Tanto en el análisis directo de la muestra como en el análisis de los ensayos de migración, se han identificado más compuestos en la muestra de plástico que en las muestras de cartón.

- De algunos de los compuestos identificados se ha podido deducir su procedencia gracias a la bibliografía. Otros compuestos susceptibles de migrar se caracterizan por tener anillos aromáticos, lo que habitualmente les confiere toxicidad y por eso se les ha aplicado el cálculo de Cramer. Es el caso de la presencia de varios DIPN (diisopropilnaftalenos) conocidos por ser marcadores de contaminación por aceites minerales.

- Se ha observado falta de homogeneidad en las muestras por la diferencia en cada una de las partes del plato como se puede comprobar en las imágenes mostradas de las muestras.

-Se obtuvieron mejores resultados con la técnica SPME-GC-MS que, mediante inyección líquida, puesto que los extractos procedentes de los ensayos se pre-concentran y por tanto se aumentó la sensibilidad. Esta técnica será por tanto más adecuada para la evaluación de la migración en estos materiales.

-En los ensayos inyectados por inyección líquida, aparecen mayor número de compuestos en los extractos cuyas condiciones de ensayo de migración fueron 175°C/2horas frente a 40°C/10 días., por lo que se deduce que las altas temperaturas favorecieron la transferencia de los compuestos al simulante alimentario.

-En el análisis por SPME-GC-MS, se observan varios compuestos identificados que coinciden en los dos tipos de ensayo, en 175°C/2horas y 40°C/10 días.

- En las migraciones se identifican nuevos compuestos que pueden proceder de contaminaciones, procesos de degradaciones o degradaciones de aditivos, impurezas, o neoformados ya que no estaban en las muestras.

-Algunos de los compuestos identificados tienen un grado alto de toxicidad teórica de acuerdo a Cramer, por lo que podría suponer un problema de seguridad para el consumidor y sería necesario llevar a cabo una cuantificación de los mismos para garantizar la seguridad de los materiales estudiados.

CONCLUSIONS

-The compounds detected, both those present in the samples and those that have migrated, were related to the components present in the food contact materials and printing inks.

-Differences were observed among the six disposable tableware samples, highlighting the appearance of numerous compounds in the biodegradable dish that does not have printed images. Both in the direct analysis of the sample and in the analysis of the migration assays, more compounds were identified in the plastic sample compared to the in the cardboard samples.

- For some of the compounds identified, their origin could be deduced from the literature. Other compounds susceptible to migration were characterized by having aromatic rings, which usually confer them toxicity and therefore Cramer's calculus has been applied to them. This is the case of the presence of several DIPN (diisopropylnaphthalenes) known to be markers of mineral oil contamination.

- Lack of homogeneity has been observed in the samples due to the difference in each of the parts of the plate as can be seen in the images of the samples shown.

-Better results were obtained with the SPME-GC-MS technique than by liquid injection, since the extracts from the assays were pre-concentrated and therefore the sensitivity was increased. This technique will therefore be more suitable for the evaluation of migration in these materials.

-In the assays injected by liquid injection, higher numbers of compounds appear in the extracts whose migration test conditions were 175°C/2hours vs. 40°C/10 days, so it is deduced that high temperatures favored the transfer of compounds to the food simulant.

-In SPME-GC-MS analysis, several identified compounds coincide in the two types of assay, 175°C/2hours and 40°C/10 days.

- New compounds were identified in the migrations, they may come from contaminations, degradations processes or additive degradations, impurities or neofomed since they were not identified in the samples.

-Some of the identified compounds have a high degree of theoretical toxicity according to Cramer, so they could pose a safety problem for the consumer and it would be necessary to carry out a quantification of them to ensure the safety of the materials studied.

7. VALORACIÓN PERSONAL

El desarrollo de este trabajo experimental, me ha permitido principalmente refrescar el contenido teórico de asignaturas cursadas en el primer curso de Ciencia y Tecnología de los alimentos como son Química general y Técnicas instrumentales de análisis químico.

En cuanto a la parte práctica, he podido retomar el contacto con el laboratorio que por la pandemia echaba de menos. También he aprendido y mejorado en el manejo de equipos de análisis, así como he aprendido a usar un software especializado para el análisis químico con cromatografía de gases y espectrómetro de masas. Por otro lado, he trabajado en la búsqueda, gestión e interpretación de la información recogida.

Concretamente, en este trabajo sobre las tintas en los platos desechables cabe destacar que me he dado cuenta que los envases alimentarios abarcan un gran campo en relación con la seguridad alimentaria el cual ha despertado mi interés ya que son materiales que están presentes en nuestras vidas constantemente.

En mi opinión es un tema en el que se puede seguir profundizando mediante más análisis a muestras que contengan tintas y así poder elaborar una legislación específica que las regule ya que como he comentado en este trabajo, a día de hoy no existe.

Por último, quería agradecer a la profesora Celia Domeño Recalde por su atención y todo lo que me ha enseñado durante la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA:

Agencia Española de Seguridad alimentaria y Nutrición (AESAN). (2021). *Materiales en contacto con los alimentos*. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/detalle/materiales_contacto_alimento.htm [Consultado: 1-04-2021].

Asensio, E., Peiro, T. y Nerín, C. (2019). "Determination of the set-off migration of ink in cardboard-cups used in coffee vending machines". *Food and Chemical Toxicology*, 130, pp. 61-67. DOI: 10.1016/j.fct.2019.05.022.

- Aznar, M., Domeño, C., Nerín, C. y Bosetti, O. (2015). "Set-off of non volatile compounds from printing inks in food packaging materials and the role of lacquers to avoid migration". *Dyes and Pigments*, 114, pp. 85-92. DOI: 10.1016/j.dyepig.2014.10.019.
- Beneventi, E., Tietz, T. y Merkel, S. (2020). "Risk Assessment of Food Contact Materials". *EFSA Journal*, 18(1), pp. 1-11. DOI: 10.2903/j.efsa.2020.e181109.
- Blanco-Zubiaguirre, L., Zabaleta, I., Usobiaga, A., Prieto, A., Olivares, M., Zuloaga, O. y Elizalde, M.P. (2020). "Target and suspect screening of substances liable to migrate from food contact paper and cardboard materials using liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometry". *Talanta*, 208, pp. 120394. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120394.
- Canellas, E., Vera, P., Domeño, C., Alfaro, P. & Nerín, C. (2012). Atmospheric pressure gas chromatography coupled to quadrupole-time of flight mass spectrometry as a powerful tool for identification of non intentionally added substances in acrylic adhesives used in food packaging materials. *Journal of Chromatography A*, (1235), pp. 141-148. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.02.039
- Catalá, R. y Gavara, R., (2002). "Fundamentos y Mecanismos de la migración. Migración de componentes y residuos de envases en contacto con alimentos." *Valencia, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC. (I)*. pp. 1-18
- CEN UNE-EN14338(2004). *Condiciones para la determinación de la migración desde el papel y el cartón utilizando óxido de polifenileno modificado (MPPPO) como simulante.*
- Clemente, I., Aznar, M., Nerín, C. y Bosetti, O. (2016). "Migration from printing inks in multilayer food packaging materials by GC-MS analysis and pattern recognition with chemometrics". *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 33(4), pp. 703-714. DOI: 10.1080/19440049.2016.1155757.
- 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-porespacio-de-cabeza-headspace-sampling-hs/> [Consultado 7-04-2021].
- Domeño, C., Aznar, M., Nerín, C., Isella, F., Fedelli, M. y Bosetti, O. (2017). "Safety by design of printed multilayer materials intended for food packaging". *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34, pp. 1239-1250. DOI: 10.1080/19440049.2017.1322221
- Dursun, A., Güler, Z. y Şekerli, Y. (2017). "Characterization of volatile compounds and organic acids in ultra-high-temperature milk packaged in tetra brik cartons". *International Journal of Food Properties*, 20(7), pp. 1511-1521. DOI: 10.1080/10942912.2016.1213280.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2012). "Scientific opinion on mineral oil hydrocarbons in food". *EFSA Journal*, 10(6):2704 pp.185. DOI: 10.2903/j.efsa.2012.2704.

- European Printing Ink Association. (EuPIA), (2019). European Printing Ink Association. Disponible en: <http://www.eupia.org> [Consultado 29-04-2021].
- Ferreira, V. (2007). Cromatografía: Fundamentos y práctica. (2ª ed.) Zaragoza, Universidad de Zaragoza.
- Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria (ELIKA). (2017). Materiales en contacto con alimentos. Tintas de uso alimentario. Disponible en: <https://www.elika.eus/> [Consultado: 11-04-2021].
- Gao, S., Wang, Z., Hu, C. y Wu, Y. (2014). "Investigation of Migration Model of Printing Inks on Paper Packaging". *Journal of Food Process Engineering*, 37(2), pp. 146-159. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpe.12070>.
- García Ibarra, V., Rodríguez Bernaldo de Quirós, A., Paseiro Losada, P. y Sendón, R. (2019). "Non-target analysis of intentionally and non intentionally added substances from plastic packaging materials and their migration into food simulants". *Food Packaging and Shelf Life*, 21, pp. 100325. DOI: 9443/10.1016/j.fpsl.2019.100325.
- Jaén, J., Domeño, C., Alfaro, P. y Nerín, C. (2021). "Atmospheric Solids Analysis Probe (ASAP) and Atmospheric Pressure Gas Chromatography (APGC) coupled to Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry (QTOF-MS) as alternative techniques to trace aromatic markers of mineral oils in food packaging". *Talanta*, 227. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.122079
- La asociación de fabricantes y distribuidores (AECOC). (2021). Las 3 claves que busca el consumir en los productos innovadores. Disponible en: <https://www.aecoc.es/> [Consultado: 11-04-2021].
- Lago, M. A., Sendón, R., Bustos, J., Nieto, M. T., Paseiro P. y Rodríguez-Bernaldo de Quirós, A. (2019) "Migration Studies of Two Common Components of UV-curing Inks into Food Simulants." *Molecules* 24(19) DOI: 10.3390/molecules24193607.
- Lord, H. y Pawliszyn, J. (2000). "Evolution of solid-phase microextraction technology". *Journal of Chromatography A*, 885(1), pp. 153-193. DOI: 10.1016/S0021-9673(00)00535-5.
- Mertens, B., Van Hoeck, E., Blaude, M., Simon, C., Onghena, M., Vandermarken, T., Van Langenhove, K., Demaegdt, H., Vandermeiren, K., Covaci, A., Scippo, M., Elskens, M. y Van Looc, J. (2016). "Evaluation of the potential health risks of substances migrating from polycarbonate replacement baby bottles". *Food and chemical toxicology*, 97, pp. 108-119. DOI: 10.1016/j.fct.2016.08.019.

- Moret, S., Sander, M., Purcaro, G., Scolaro, M., Barp, L. y Conte, L.S. (2013). "Optimization of pressurized liquid extraction (PLE) for rapid determination of mineral oil saturated (MOSH) and aromatic hydrocarbons (MOAH) in cardboard and paper intended for food contact". *Talanta*, 115, pp. 246-252. DOI: 9443/10.1016/j.talanta.2013.04.061.
- Muncke, J. (2016). Chemical migration from food packaging to Food. Elsevier. En: *Reference Module Food Science*. DOI: 10.1016/B978-0-08-100596-5.03311-4.
- Navia, D., Ayala, A. y Villada, H. (2014). Food packaging- interactions: migration. *Revista Ingenierías 13* (25), pp. 100-113. DOI: 10.22395/RIUM.V13N25A7.
- Ncube, L.K., Ude, A.U., Ogunmuyiwa, E.N., Zulkifli, R. y Beas, I.N. (2020). "Environmental Impact of Food Packaging Materials: A Review of Contemporary Development from Conventional Plastics to Polylactic Acid Based Materials". *Materials*, 13(21) DOI: 10.3390/ma13214994.
- Nerín, C. (2016). "Migration Analysis of Compounds in Food Packaging". En: *Montero, P. M., Gómez-Guillén, C. M., López-Caballero E., Barbosa-Cánovas V. G.* (Eds.). *Edible Films and Coatings, Fundamentals and Applications*. Boca Raton: CRC Press.
- Nerín, C., Alfaro, P., Aznar, M., & Domeño, C. (2013). "The challenge of identifying non-intentionally added substances from food packaging materials: A review." *Analytica Chimica Acta*, 775, 14-24. DOI: 10.1016/j.aca.2013.02.028.
- Nerín, C., Silva, F., Manso, S. y Becerril, R. (2016). "The Downside of Antimicrobial Packaging: Migration of Packaging Elements into Food". En Barros-Velázquez, J. (Coords.) *Antimicrobial Food Packaging*. San Diego: Academic Press. 81-93.
- Pawliszyn, J., (1997). Solid Phase Microextraction: theory and practice. Wiley-VCH.
- Reglamento (UE) nº 10/2011 DE LA COMISIÓN de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*. L 12/1, de 15 de enero de 2011.
- Real Decreto 847/2011, de 17 de junio, por el que se establece la lista positiva de sustancias permitidas para la fabricación de materiales poliméricos destinados a entrar en contacto con los alimentos. *Boletín oficial del estado*, n. 164, de 11 de julio de 2011.
- Reglamento(CE) nº 1935/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos y por el que se derogan las Directivas 80/590/CEE y 89/109/CEE. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L 338/4 de 13 de noviembre de 2004.

- Reglamento (CE) nº 2023/2006 de la Comisión de 22 de diciembre de 2006 sobre buenas prácticas de fabricación de materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, L 384/75, de 29 de diciembre de 2006.
- Rhim, J., Park, H., y Ha, C. (2013) "Bio-nanocomposites for food packaging applications", *Progress in Polymer Science*,(38),pp. 1629–1652, 2013.DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2013.05.008.
- Richter, T., Gude, T. y Simat, T. (2009). "Migration of novel offset printing inks from cardboard packaging into food". *Food additives & contaminants.Part A.* 26(12), pp. 1574-158. DOI 10.1080/19440040903241952.
- Ríos Acevedo, J.J. (2017). "Nuevos desarrollos metodológicos en SPME". Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- Su, Q., Vera, P., Nerín, C., Lin, Q. y Zhong, H. (2021). "Safety concerns of recycling postconsumer polyolefins for food contact uses: Regarding (semi-)volatile migrants untargetedly screened". *Resources, Conservation and Recycling*, 167, pp. 105365 DOI: 9443/10.1016/j.resconrec.2020.105365.
- Vera, P., Aznar, M., Mercea, P., & Nerín, C. (2011). "Study of hotmelt adhesives used in food packaging multilayer laminates. Evaluation of the main factors affecting migration to food." *Journal of Materials Chemistry*, 21(2), 420- 431. DOI: 10.1039/C0JM02183K
- Vera, P. (2013). "Estudio de adhesivos en envase alimentario: desarrollo de métodos de análisis, difusión y migración de sus componentes a los alimentos envasados." Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza.
- Wagner, C. (2012). Tintas de impresión. Food Packaging Forum. Disponible en: <https://www.foodpackagingforum.org/es/ensado-de-alimentos-y-salud/materiales-de-ensado-alimentario/printing-inks> [Consultado: 16-04-2021].
- Wrona, M., Nerín, C. (2019). "Risk Assessment of Plastic Packaging for Food Applications" En: Suman, M. (Eds.). *Food Contact Materials Analysis: Mass Spectrometry Techniques*. Royal Society of Chemistry pp. 163- 191.
- Zhang, Y., Du, Z., Xia, X., Guo, Q., Wu, H. y Yu, W. (2016). "Evaluation of the migration of UV-ink photoinitiators from polyethylene food packaging by supercritical fluid chromatography combined with photodiode array detector and tandem mass spectrometry". *Polymer Testing*, 53, pp. 276-282. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2016.06.008.