



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Desarrollo de metodología analítica para
estudios de seguridad alimentaria en envases
de alimentos

Development of analytical methodology for
food safety studies in food packaging

Autor

Daniel Luna Soriano

Directores

Celia Domeño Recalde

Carlos Jiménez Estremera

Facultad de Veterinaria

2024-2025

Índice

1.	Resumen (en castellano y en inglés)	3
2.	Introducción	4
2.1.	Envases alimentarios.....	4
2.1.1.	Poliolefinas	5
2.1.2.	Polietileno de tereftalato	5
2.2.	Migración de componentes de los envases a los alimentos	6
2.3.	Técnicas de análisis	7
2.4.	Legislación envases alimentarios	9
3.	Justificación y objetivos.....	12
4.	Metodología	12
4.1.	Muestras.....	12
4.2.	Reactivos	13
4.3.	Instrumentación y softwares	13
4.4.	Fibras	14
4.5.	Parámetros de optimización	14
5.	Desarrollo experimental.....	15
5.1.	Estado de la muestra.....	16
5.2.	Parámetros para optimización	16
5.4.	Selección de la fibra	18
5.5.	Simulantes alimentarios.....	18
5.5.1.	Head Space (HS)	19
5.5.2.	Direct Immersion (DI)	20
5.6.	Optimización de condiciones aplicándolo a un mix de compuestos	21
6.	Resultados y Discusión	22
6.1.	Estado de la muestra.....	22
6.2.	Parámetros de optimización	22

6.4. Selección de la fibra	28
6.5. Simulantes alimentarios.....	28
6.6. Optimización de condiciones aplicándolo a un mix de compuestos	30
7. Conclusiones (en castellano e inglés).....	32
8. Valoración personal.....	34
9. Bibliografía	35

1. Resumen (en castellano y en inglés)

En la industria alimentaria lo más común es que el envase de alimentos y bebidas esté formado por distintos tipos de polímeros. Para garantizar la seguridad alimentaria es necesario que ninguno de los compuestos presentes en el envase pueda migrar al alimento. Para ello la legislación define una serie de simulantes y condiciones para simular diferentes alimentos y usos. Desde el punto de vista de la Química analítica es necesario desarrollar métodos cada vez más precisos y sensibles para poder detectar estos compuestos potencialmente migrantes.

En el trabajo vamos a estudiar las nuevas fibras SPME Arrow para microextracción en fase sólida con cromatografía de gases acoplada. Observaremos el perfil analítico obtenido con cada fibra en distintas muestras para poder establecer un método analítico en materia de seguridad alimentaria con estas novedosas fibras. Las fibras SPME Arrow presentan una mejor capacidad de extracción y mayor reproducibilidad que las fibras SPME convencionales. De las 5 fibras seleccionaremos la que más compuestos extraiga y más reproducibilidad tenga. Esa será la fibra que usaremos para realizar el análisis de migración en simulantes alimentarios.

Las muestras para analizar y que vamos a estudiar para seleccionar la mejor fibra son poliolefinas (PO) y tereftalato de polietileno (PET). Realizaremos medidas con la muestra sólida para el screening de volátiles en diferentes simulantes alimentarios (preparados según la legislación vigente) mediante inmersión y espacio de cabeza para poder tener así una valoración global de que fibra es mejor y que compuestos podemos encontrarnos.

ABSTRACT

In the food industry, food and beverage packaging most commonly consists of different types of polymers. To ensure food safety, it is necessary that none of the compounds present in the packaging can migrate into the food. To this end, legislation defines a number of simulants and conditions to simulate different foods and uses. From the point of view of analytical chemistry, it is necessary to develop increasingly accurate and sensitive methods to detect these potentially migrating compounds.

In this work we will study the new SPME Arrow fibres for solid-phase microextraction with coupled gas chromatography. We will observe the analytical profile obtained with each fibre in different samples in order to establish an analytical method for food safety with these novel fibres. SPME Arrow fibres show better extraction capacity and higher reproducibility than conventional SPME fibres. From the 5 fibres, we will select the one that extracts the most

compounds and has the highest reproducibility. This will be the fibre we will use to perform the migration analysis in food simulants.

The samples to be analysed and that we will study to select the best fibre are polyolefins (PO) and polyethylene terephthalate (PET). We will carry out measurements with the solid sample for the screening of volatiles in different food simulants (prepared according to current legislation) by means of immersion and headspace in order to have an overall assessment of which fibre is better and which compounds we can find.

2. Introducción

2.1. Envases alimentarios

El envasado de productos alimentarios tiene la función de contener el alimento, conservar sus propiedades y además de protegerlo de múltiples peligros. También es el encargado de mostrar toda la información comercial y nutricional del producto. Mediante el envasado de los productos alimentarios podemos lograr conservar sus **propiedades organolépticas**, así como aumentar su **vida útil** protegiéndolo de peligros externos como microorganismos o factores ambientales (CTNC,2023). A partir de la tendencia de envasar todos los alimentos y bebidas, se creó diferente normativa sobre sustancias permitidas o autorizadas en la composición de estos envases.

Tal como se dice en el artículo publicado por Arcos y Marín (2021), los envases alimentarios están formados en la mayoría de los casos por plásticos. Los plásticos están formados por derivados de petróleo, gas natural y carbón, entre otras materias primas. Se aplican técnicas de polimerización, policondensación u otros procesos similares para generar compuestos macromoleculares orgánicos, ligeros y económicos. Los plásticos no dejan de ser cadenas de carbonos, también llamadas **polímeros**, a las que se adicionan otras sustancias para obtener el plástico deseado. Existen preocupaciones que han ido surgiendo en los últimos tiempos, respecto a si verdaderamente los envases que supuestamente son seguros lo son.

Según se describe en la guía de usuario de envases plásticos redactada por la Sociedad de Envases Alimentarios (SENA) en el 2012 los plásticos más utilizados en la industria alimentaria con fines de almacenamiento y conservación son, **poliestireno (PS)**, **policloruro de Vinilo (PVC)**, **y los que vamos a estudiar dentro del trabajo a redactar: polietileno tereftalato (PET) y las Poliolefinas (PO); las cuales incluyen dentro de estas tanto al polipropileno (PP) como al polietileno (PE).**

2.1.1. Poliolefinas

Las poliolefinas son polímeros derivados de la polimerización de olefinas o alquenos, que fueron descubiertas en 1933. Tenemos dos tipos de poliolefinas principalmente, las derivadas del etileno que nos darán **polietileno** y las derivadas de propileno, de las cuales obtendremos **polipropileno** (Olagoke Olabisi, 2015). El uso de estas en la industria alimentaria está ampliamente extendido, tanto en films como en envases rígidos, ya sea de bebidas o alimentos sólidos y envases reutilizables o de un solo uso.

Uno de los problemas que presentan las **poliolefinas** es la posible migración de compuestos no deseados generados tanto en su creación como en su reciclado. Estas sustancias potencialmente migrantes se clasifican en sustancias añadidas intencionadamente (IAS, por sus siglas en inglés) y sustancias añadidas no intencionadamente (NIAS, por sus siglas en inglés). Uno de los problemas es que la legislación permite un límite de migración de determinadas sustancias y otro que los NIAS son desconocidos que se pueden generar en la fabricación o con el uso. Además, otro problema es que cada día se intenta más realizar un reciclaje de los envases alimentarios, pero esto también exige un estudio de la presencia de estos compuestos para garantizar la seguridad del reciclado (Cecon et al., 2021).

Las poliolefinas son plásticos con baja polaridad y una estructura química simple e inerte, formada por enlaces C-C y C-H. Estas características provocan que sea tan difícil su reciclado, ya que es muy complicado modificar su estructura y al hacerlo, podemos generar sustancias secundarias no deseadas (Mike Chung, 2013).

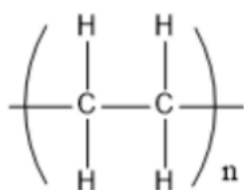


Figura 1: Estructura química de polietileno de baja densidad (Velandia Cabra, 2018).

2.1.2. Polietileno de tereftalato

El **polietileno de tereftalato** o **PET** es un poliéster lineal termoplástico, perteneciente a la familia de los poliésteres aromáticos sintetizado a partir de dos monómeros. El PET puede ser semi-cristalino o amorfo, el cual es usado en botellas de plástico transparentes. El PET tiene como propiedades una alta rigidez junto a una buena estabilidad térmica.

El uso más común es como envase de líquidos, como agua, zumos o refrescos carbonatados. Además, también puede ser usado como films o como bandejas termoformables.

Por otro lado, es importante la buena interacción que en teoría tiene este material con los alimentos en términos de migración alimentaria de compuestos no deseados. También hay que resaltar el gran uso que en la industria alimentaria se le da al PET reciclado, siempre que sea bien tratado para su nuevo uso (Nisticò, 2020). El PET permite un reciclaje más eficiente y sencillo en comparación a las poliolefinas debido a que posee grupos ésteres, los cuales son susceptibles a procesos como la hidrólisis. (Mike Chung, 2013).

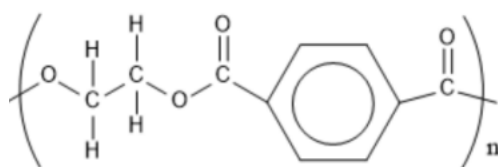


Figura 2: Estructura química del polietileno de tereftalato (Velandia Cabra, 2018).

2.2. Migración de componentes de los envases a los alimentos

La **migración** es entendida como el traspaso de sustancias desde el material de envasado o contacto hasta el alimento en cuestión (o simulante en caso de ensayo). Además de las propiedades fisicoquímicas del material de envasado hay que tener en cuenta las propiedades intrínsecas del alimento y las condiciones de manejo y conservación (Reglamento (UE) n°10/2011). Según el reglamento la migración podemos medirla como global o específica. La **migración global** es el total de las sustancias que migran desde el material hasta el alimento, mientras que la **específica** se refiere a una sola sustancia.

Especialmente, cuando hablamos de migración de sustancias químicas preocupan aquellas con un bajo peso molecular, ya que son las que pueden moverse más fácilmente desde el material hasta el alimento. Las consecuencias que puede traer consigo la migración de sustancias son: efectos tóxicos para la salud, alteración de las propiedades organolépticas del alimento, además de un posible incumplimiento de la legislación vigente (sustancias prohibidas o sustancias que superan el límite permitido) (Helmroth et al., 2002).

Por otro lado, tenemos que las sustancias que migran de los materiales de envasado pueden ser de dos tipos, **añadidas intencionalmente (IAS)** como son monómeros o algunos aditivos, o pueden ser **no añadidas intencionalmente (NIAS)**, las cuales son más preocupantes y pueden

ser impurezas o surgir como subproductos en la fabricación de estos, con el uso o en el proceso de reciclado. Actualmente se ve una tendencia positiva hacia los plásticos biodegradables debido a la preocupación por el medio ambiente, pero la migración sigue siendo un problema igualmente (Muzeza, Ngole-Jeme and Msagati, 2023).

Preocupan en especial algún aditivo usado en la fabricación de envases como son el **bisfenol A** y **los ftalatos**, ambos dos considerados como sustancias añadidas intencionadamente.

- **Bisfenol A (BPA):** Es un compuesto organico que se usa en diversas fabricaciones como el policarbonato o en resinas para el recubrimiento interno de latas. Antiguamente usado frecuentemente en la fabricación de biberones para bebés. Es un disruptor endocrino que puede migrar a los alimentos (favorecido por calor o ácido). Tienen un límite de migración específica de 0,05 mg/kg, además de estar prohibido su uso en muchos países para fabricar productos infantiles (Lambré et al., 2023).
- **Ftalatos:** Usados habitualmente como plastificantes. A distintos tipos (DBP, DEHP...) y pueden encontrarse en plásticos como los films para uso alimentario, tapones de botellas o en algunas bolsas de plásticos. Al igual que el BPA, migran con facilidad y son disruptores endocrinos también. Muchos ftalatos están prohibidos para materiales en contacto con alimentos, mientras que otros de ellos tienen límites de migración específica entre 0,3–1,5 mg/kg, dependiendo del ftalato (Silano et al., 2019).

2.3. Técnicas de análisis

La **cromatografía de gases** es una técnica instrumental utilizada para separar, identificar y cuantificar compuestos químicos que son volátiles o semivolátiles. La inyección de la muestra en el cromatógrafo es la primera etapa. Esta muestra puede ser líquida, sólida o gaseosa, pero debe convertirse en fase vapor para poder ser arrastrada por un gas portador. Esta muestra, una vez volatilizada, fluye por la columna capilar, la cual está recubierta internamente por la fase estacionaria. Dependiendo de factores intrínsecos de la muestra como la volatilidad, la polaridad o la estructura química, el compuesto va a interactuar de distinta manera con la fase estacionaria. Las muestras se desplazan a distintas velocidades, lo que permite su separación. Este fenómeno se traduce en un parámetro clave: el tiempo de retención (tiempo que un compuesto tarda en llegar al detector después de ser inyectada la muestra). Cuando estos llegan al detector se genera una señal y se representa cada compuesto en un cromatograma, donde cada pico es una sustancia. La posición (**tiempo de retención**) y la

intensidad (**área del pico**) permiten identificar y cuantificar los compuestos(Gutiérrez et al., 2002).

La **espectrometría de masas** es una técnica analítica que se utiliza para identificar moléculas según **su masa molecular y su estructura química**. Cuando los compuestos separados por la cromatografía de gases entran en el espectrómetro de masas, son ionizados mediante diferentes métodos, siendo el más común el impacto electrónico. Este proceso genera iones moleculares y fragmentos característicos. Los iones generados se separan según su relación masa/carga. El resultado es un espectro de masas, que representa la cantidad de iones necesarios para ionizar la muestra en función de su masa. Este espectro actúa como una "huella digital" de cada sustancia, ya que los patrones de fragmentación son únicos. Con ello, se puede identificar cada compuesto comparando con bases de datos estandarizadas. El espectro de masas puede ser un detector cuantitativo o como un detector selectivo(Gutiérrez et al., 2002). Además del detector de espectrometría de masas (MS) tenemos otros tipos de detectores. Algunos de estos son: el detector de ionización de llama (FID), el detector de captura de electrones (ECD) o el detector de conductividad térmica (TCD). Cada uno de ellos presenta unas ventajas o desventajas sobre los otros, sin embargo, el que más destaca es el espectro de masas ya que permite no solo la detección sino también la identificación estructural precisa de los analitos (Lord and Pawliszyn, 2000).

Las **fibras SPME** (Solid Phase Microextraction) son usadas para la extracción y absorción de compuestos volátiles o semivolátiles de muestras sólidas o líquidas. Suelen ser utilizadas en la cromatografía de gases con espectro de masas acoplado (GC-MS).

La fibra podríamos dividirla en tres partes: El núcleo de sílice, un recubrimiento, que es de un material sorbente selectivo y una protección metálica aguja, que sirve para facilitar la inyección. La fibra se expone al espacio de cabeza de la muestra (introducida en un vial) o directamente en contacto con el líquido (inmersión) para captar los compuestos volátiles. Los distintos tipos de recubrimientos que pueden tener la fibra varían en el tamaño de poro y en la selectividad hacia un tipo de compuestos u otros (Song et al., 2019).

Con las fibras mencionadas en el GC realizaremos una microextracción en fase sólida (SPME), la cual se puede llevar a cabo de dos formas. Una es mediante extracción con espacio de cabeza o **Head Space (HS)** o puede ser mediante inmersión directa o **Direct Immersion (DI)**, en la cual la fibra entra en contacto directamente con la muestra (compuestos menos volátiles)

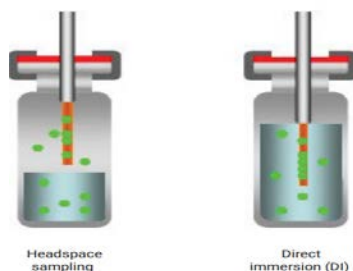


Figura 3: Comparación visual entre extracción mediante Head Space y Direct Immersion (Westland and Technologies, 2023)

Las ventajas que las nuevas **fibras SPME Arrow** presentan frente a las fibras Arrow convencionales es que las fibras SMPE Arrow:

- Son más gruesas y tiene un mayor volumen de sorción.
- Su diseño, cilíndrico y hueco, hace que haya una mayor superficie de contacto y que puedan retenerse más compuestos volátiles.
- Mayor estabilidad térmica, por lo que soportan temperaturas más elevadas.
- Presentan mayor reproducibilidad y una mejor precisión.

2.4. Legislación envases alimentarios

En términos europeos, hay varios reglamentos que hablan sobre los materiales en contacto con alimentos y concretamente sobre los plásticos. Estos están diseñados para aportar regulaciones sobre su uso y utilización para proteger a los consumidores. Algunos de estos reglamentos son:

- El **Reglamento (CE) nº 1935/2004** nos habla sobre materiales y objetos destinado a entrar en contacto con alimentos. El objetivo que presenta el reglamento es el de asegurar que estos materiales son seguros para el consumidor y que no alteran la composición del alimento.
- El **Reglamento (CE) nº 2023/2006** habla sobre las buenas prácticas de fabricación de los materiales destinados a entrar en contacto con alimentos. Trata de garantizar la seguridad y la inocuidad de todos los materiales que se fabriquen, se realice un control de la calidad. También se debe tener un sistema de documentación completo garantizar la trazabilidad.
- **Reglamento (UE) nº 10/2011.** Este reglamento es el que más importancia cobra en este trabajo, ya que este habla en concreto sobre materiales y objetos plásticos en

contacto con alimentos. En el presente reglamento se estable los límites de migración global y límites de migración específico para distintas sumancias. Además, se establece un anexo de sustancias autorizadas en el anexo 1, con todas sus restricciones y especificaciones.

En este reglamento encontramos definido el término de simulante alimentario, como medio de experimento para estudiar la migración de compuestos plásticos a los alimentos. En el anexo III encontramos un cuadro que nos indica los tipos de simulantes que podemos encontrar.

Tabla 1. Anexo III: Simulantes alimentarios del Reglamento (UE) nº 10/2011

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- <i>p</i> -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

En el anexo III del mismo reglamento un poco más adelante nos muestra el simulante que deberemos usar para cada tipo de alimento y las condiciones especiales si las hay. Por último, en el anexo V, capítulo 2 se nos dan las condiciones específicas de contacto a utilizar de tiempo y temperatura, teniendo en cuenta las peores condiciones posibles para los ensayos a realizar.

Tabla 2. Anexo V, Cuadro 1, Capítulo 2. Tiempos de contacto en ensayos de migración del Reglamento (CE) nº10/2011.

Cuadro 1:

Tiempo de contacto

Tiempo de contacto en las peores condiciones previsibles de uso	Duración del ensayo
$t \leq 5 \text{ min}$	5 min
$5 \text{ min} < t \leq 0,5 \text{ h}$	0,5 hora
$0,5 \text{ h} < t \leq 1 \text{ h}$	1 hora
$1 \text{ h} < t \leq 2 \text{ h}$	2 horas
$2 \text{ h} < t \leq 6 \text{ h}$	6 horas
$6 \text{ h} < t \leq 24 \text{ h}$	24 horas
$1 \text{ día} < t \leq 3 \text{ días}$	3 días
$3 \text{ días} < t \leq 30 \text{ días}$	10 días
Más de 30 días	Véanse las condiciones específicas

Tabla 3. Anexo V, Cuadro 2, Capítulo 2. Tiempos de contacto y temperaturas para ensayos de migración del Reglamento (CE) nº10/2011

Cuadro 2:

Temperatura de contacto

Contacto en las peores condiciones previsibles de uso	Condiciones de ensayo
Temperatura de contacto	Temperatura de ensayo
$T \leq 5 \text{ °C}$	5 °C
$5 \text{ °C} < T \leq 20 \text{ °C}$	20 °C
$20 \text{ °C} < T \leq 40 \text{ °C}$	40 °C
$40 \text{ °C} < T \leq 70 \text{ °C}$	70 °C
$70 \text{ °C} < T \leq 100 \text{ °C}$	100 °C o temperatura de reflujo
$100 \text{ °C} < T \leq 121 \text{ °C}$	121 °C (*)
$121 \text{ °C} < T \leq 130 \text{ °C}$	130 °C (*)
$130 \text{ °C} < T \leq 150 \text{ °C}$	150 °C (*)
$150 \text{ °C} < T < 175 \text{ °C}$	175 °C (*)
$T > 175 \text{ °C}$	Ajustar la temperatura a la temperatura real en el punto de contacto con el alimento (*)

(*) Esta temperatura se usará solo para los simulantes alimentarios D2 y E. Para las aplicaciones calentadas bajo presión, el ensayo de migración podrá efectuarse bajo presión a la temperatura pertinente. Para los simulantes alimentarios A, B, C o D1, el ensayo puede sustituirse por un ensayo a 100 °C o a temperatura de reflujo con una duración cuatro veces superior a la seleccionada conforme a las condiciones del cuadro 1.

Por último, en el capítulo III, Anexo V del Reglamento (CE) nº10/2011, tenemos el cuadro 3 en el que se nos muestran las condiciones de ensayos para migraciones globales. Nosotros realizaremos un ensayo OM3 en condiciones aceleradas para todas las muestras.

3. Justificación y objetivos

El objetivo general del trabajo es desarrollar un método analítico mediante SPME-GC-MS con Fibras Arrow que permita extraer e identificar un mayor número de compuestos en envase alimentario mejorando los límites de detección y utilizando menor cantidad de muestra. La justificación del trabajo es mejorar los estudios para evaluar la seguridad alimentaria de los envases alimentarios.

Para conseguir ese objetivo principal se han planteado una serie de **objetivos específicos**:

1. Estudiar cinco fibras SPME con distintos recubrimientos químicos para seleccionar la que dé mejores resultados.
2. Aplicación de un diseño de experimentos (DoE) con las variables más influyente en la extracción para afinar la selección.
3. Optimizar variables clave como la cantidad y estado de la muestra, y la temperatura y tiempo de extracción.
4. Seleccionar la fibra de mejor rendimiento en función de su sensibilidad y reproducibilidad para completar la información obtenida con estudios posteriores.
5. Screening de los compuestos presentes en PET y POs para identificar los posibles migrantes del envase al alimento con los cinco tipos de fibras.
6. Optimizar las condiciones de extracción de la fibra seleccionada en varios simulantes alimentarios (etanol 10%, etanol 95% y ácido acético 3%) utilizando tanto el modo de espacio de cabeza como el de inmersión directa.
7. Evaluar el rendimiento analítico del método Arrow SPME optimizado en términos de linealidad, sensibilidad y rango de calibración utilizando una mezcla de 15 compuestos relacionados con la FCM.

4. Metodología

4.1. Muestras

Las muestras que vamos a utilizar para el estudio son muestras tanto de **poliolefinas** como de **polietileno de tereftalato**. Hemos elegido estos dos tipos o familias de plásticos ya que son una buena representación de los plásticos que habitualmente se usan en la industria alimentaria tanto en envases de comidas como de bebidas. Las dos muestras provienen de **plásticos reciclados**.



Figura 4: Muestras de Polilefinas en formato “pellet” a la izquierda y molido a la derecha

4.2. Reactivos

Los reactivos necesarios para las diluciones y simulantes son el **etanol** (ITW Reagents) y el **ácido acético** (ITW Reagents). Ambos dos los diluiremos en agua purificada usando el sistema Milli-Q Ultramatic Wasserlab GR 216071.

El mix para comprobar los parámetros analíticos está compuesto por los siguientes analitos que se adquirieron a Sigma-Aldrich: acetofenona, benzaldehído, benzofenona, solución de alcanos C7-C40, 2,4-di-terc-butilfenol, D-limoneno, isoforona, salicilato de metilo, naftaleno, nonanal, o-xileno, estireno, 2-tridecanona, hidroxitolueno butilado, hexadecano y 2,6-diisopropilnaftaleno.

4.3. Instrumentación y softwares

La separación de compuestos se realiza con **cromatógrafo de gases Agilent Agilent 8860 GC System**. Se utilizó la columna capilar HP-5MS (30 m × 250µm × 0,25 µm). La temperatura del horno se mantuvo a 50°C durante 5 minutos elevándola a 8°C por minuto hasta los 300°C, y manteniéndolo 10 minutos a esa temperatura. Como gas portador se empleó el helio, a un flujo de 1 mL/min. La detección se realizó con el **espectrómetro de masas Agilent 5977B**, en modo SCAN (40-700 m/z); la ionización se realizó por **impacto electrónico**.

Para poder analizar los compuestos que se obtendrán utilizaremos un **software llamado MS-DIAL**, con el que observar todos los compuestos obtenidos con sus índices de retención y en orden de detección (tiempos de retención). Además, se usaron otros softwares como el **Minitab para el diseño de experimentos (DOE)** y el **programa NIST MS search 2.4**, que nos

permite identificar compuestos desconocidos de nuestro espectro de masas comparando con los estándares **NIST (National Institute of Standards and Technology)**.

Para tener las muestras en forma de polvo y comprobar su efecto en el análisis se utilizó un molino RETSCH ZM200 Ultra Centrifugal para moler criogénicamente los pellets a 10.000rpm añadiendo constantemente nitrógeno y usando un tamiz de anillo de acero inoxidable con un tamaño de poro de 0,5 mm.

Para los ensayos de migración se utilizó una estufa Memmet de temperatura graduable.

4.4. Fibras

Vamos a realizar la optimización de condiciones para cinco fibras diferentes. De cada una decidiremos cuales son las condiciones de las estudiadas más adecuadas y veremos de las cinco cual nos proporciona mayor número de compuestos volátiles para su identificación y cuantificación. Las fibras son: (Anon., 2025)(DVB: Divinilbenceno//Carbon WR: Carbono de Rango Amplio (Wide Range) // PDMS: Polidimetilsiloxano)

- **Roja (PDMS – 100 µm):** Útil para la extracción de volátiles no polares.
- **Morada (DVB /PDMS -120 µm):** Útil para la extracción de semivolátiles-polares.
- **Azul (Carbon WR/PDMS - 120 µm):** Útil para la extracción de volátiles polares de pequeño tamaño.
- **Gris claro (Polyacrilate – 100 µm):** Útil para la extracción de semivolátiles-polares.
- **Gris (DVB/Carbon WR/PDMS -120 µm):** Extracción de amplio rango.

4.5. Parámetros de optimización

Los parámetros que debemos tener en cuenta para la estandarización de las condiciones ideales para cada fibra son múltiples. Hay algunos que no van a influir en la optimización y que vamos a mantenerlos constantes durante todo el experimento. Algunas de estos son el pH, que siempre vamos a usar soluciones de pH neutro, la fuerza iónica ya que no vamos a añadir sal o la agitación.

Sin embargo, hay otros parámetros que vamos a optimizar mediante una serie de análisis aleatorizados teniendo en cuenta distintos valores (Ma et al., 2013)(Llambrich et al., 2024).

- **Estado de la muestra:** Valoraremos si debemos realizar los ensayos con las muestras trituradas en polvo o en formato de “pellet”. Esto dependerá del número de compuestos que podamos identificar de cada forma.
- **Cantidad de la muestra:** Vamos a ver la evolución de análisis de compuestos cuando añadimos diferentes cantidades de muestras. Vamos a realizar ensayos con distintas cantidades en extracción sólida las cuales van a ser: 1,2 o 3 gramos. Hemos seleccionado estas cantidades ya que más de 3 gramos de muestra podría sobrepasar la capacidad del vial a introducir en el equipo y 1 gramo ya que es un mínimo de cantidad representativa.
- **Temperatura de extracción:** Estudiaremos también una variación en el gradiente de temperaturas. Por lo general, un aumento de la temperatura produce una mayor migración de compuestos además de una mayor producción de volátiles. Para la extracción sólida tomaremos temperaturas de entre 60 y 120°C. Más de 120°C podría dañar las fibras y una temperatura inferior a 60°C puede no provocar la volatilización de todos los compuestos.
- **Tiempo de extracción:** Otra variable a estudiar es el tiempo de extracción. Este debe ajustarse experimentalmente teniendo en cuenta que si es un tiempo muy bajo puede que no se extraigan bien todos los compuestos y si es muy prolongado podemos llegar a saturar las fibras. Nosotros escogemos tiempos de entre 20 y 60 minutos.

5. Desarrollo experimental

El fundamento del trabajo va a ser **desarrollar una metodología mediante la microextracción en fase sólida con cromatografía de gases y espectro de masas (SPME-GC-MS), utilizando en este caso fibras SPME Arrow en vez de fibras SPME convencionales**. Utilizaremos cinco fibras para estudiar individualmente la capacidad de análisis de compuestos volátiles cuando sometemos a cada fibra a una serie de inyecciones aleatorizadas de polietileno de tereftalato y de poliolefinas sólidas, previamente trituradas con nitrógeno, en diferentes condiciones. Tras esto y ver que fibra extrae mayor número de compuestos volátiles, comparando con el cromatograma para validar, someteremos a esa fibra a otras inyecciones con las mismas muestras, pero sumergidas en diferentes estimulantes alimentarios, tanto con espacio de cabeza como en inmersión.

Usaremos como patrón un mix formado por una serie de compuestos de los más habituales en las migraciones de envase al alimento que permita comprobar los parámetros analíticos del método desarrollado.

5.1. Estado de la muestra

En este apartado el objetivo es comprobar si hay diferencias al realizar los análisis con las muestras de PET y de PO en forma de “pellets” o valorar si realizar todo el ensayo experimental con las muestras molidas en forma de polvo. Para ello vamos a realizar una molienda criogénica, empleando nitrógeno para evitar el aumento de temperatura durante el proceso.

Realizamos este tipo de molienda debido a que si se calientan las muestras vamos a producir y perder compuestos volátiles que nos interesa analizar posteriormente. Además, el nitrógeno evita que se puedan producir reacciones secundarias y facilita la molienda haciendo más frágil el material (Patil et al., 2020).

5.2. Parámetros para optimización

Como ya hemos comentado anteriormente, los parámetros que influyen a la capacidad de adsorción de compuestos de la fibra son: **temperatura de extracción, tiempo de extracción y cantidad de muestra añadida.**

Para conocer la influencia de estas tres variables sobre cada una de las fibras y cada una de las muestras creamos un modelo de medias aleatorizado. Para cada una de las fibras (5) y cada tipo de muestra (2) vamos a realizar una medida del GC-MS con el modelo aleatorizado de los parámetros de influencia (3). En el caso de la extracción de sólidos, para conocer las condiciones óptimas de cada fibra y poder determinar cuál es mejor en este caso, crearemos un modelo analítico.

Este modelo lo creamos con el programa “**Minitab Statistical Software**” e hicimos tablas de medida como la que se muestra a continuación, en la que por las variables incluidas se van a crear **para cada fibra 20 experimentos y un blanco.** Este programa lo que nos crea es un **diseño de experimento o DOE**, según lo establecido anteriormente (muestras, fibras y variables).

Tabla 4: *Diseño de experimento para la extracción de sólidos en muestras de PET y PO*

Orden de ejecución	Bloques	Tiempo de extracción (min)	Temperatura de extracción (°C)	Cantidad (g)
1	2	40	90	2
2	2	40	120	2
3	2	20	90	2
4	2	60	90	2
5	2	40	60	2
6	2	40	90	3
7	2	40	90	1
8	2	40	90	2
9	1	20	60	3
10	1	20	60	1
11	1	60	120	1
12	1	60	120	3
13	1	20	120	1
14	1	40	90	2
15	1	60	60	1
16	1	40	90	2
17	1	40	90	2
18	1	20	120	3
19	1	60	60	3
20	1	40	90	2

Esta tabla de 20 experimentos se repetirá para las dos muestras y cinco fibras, dando un total de **10 tablas de resultados con 20 experimentos**. Una vez realizado todo, dispondremos tanto del cromatograma como del espectro de masas de cada una de las medidas realizadas.

A continuación, vamos a emplear el programa de procesamiento de datos cromatográficos **MS-DIAL**, con los datos y parámetros establecidos en anteriores estudios (Estremera et al., 2025) en el cual vamos a poder comparar los cromatogramas con todos los compuestos que

hemos obtenido para confirmar los compuestos que hemos detectado están presentes. Miramos el compuesto candidato, su tiempo de retención, índice de retención y espectro de masas. Con este tiempo nos vamos al cromatograma y buscamos el compuesto. Una vez sepamos que en ese tiempo hay compuestos, comparamos **el índice de retención (RI)**. Si ambos coinciden en RI y espectro de masas, podemos confirmar con un aceptable nivel de confianza la presencia del compuesto. Descartaremos los compuestos con base de sílice como el siloxano ya que estos no proceden de la muestra sino de la columna del equipo.

Para la confirmación de esos compuestos lo realizamos según niveles de certeza, divididos en **cinco niveles**. Nivel 1: Confirmado por un patrón de referencia con MS, MS/MS e índice de retención coincidentes (para GC); Nivel 2: Estructura probable que se subdivide en 2A (MS y MS/MS o índice de retención) y 2B (Ninguna otra estructura se ajusta a la información experimental); Nivel 3: Candidato provisional cuando existen pruebas de una posible estructura, pero información insuficiente para una sola estructura exacta; Nivel 4: Fórmula molecular inequívoca; y Nivel 5: Masa exacta (m/z) (Schymanski et al., 2014).

5.4. Selección de la fibra

Una vez disponemos de todos los compuestos identificados para cada fibra, vamos a realizar una optimización de las fibras para conocer cuáles son las condiciones óptimas de medida para cada fibra (condiciones en la que más compuestos se detectan). Para esto usaremos nuevamente el software Minitab. Previamente a esto en una tabla Excel, realizaremos la suma de las señales obtenidas de todos los compuestos para cada experimento (Ej. Suma de señales de todos los componentes obtenidos y confirmados para la fibra BLUE, midiendo poliolefinas, experimento 6).

La suma de señales de cada experimento ha sido normalizada con los pesos exactos tomados en el laboratorio para ajustarlo al diseño de experimentos DoE propuesto.

Con las sumas echas de todos los experimentos realizados, pasamos los datos de Excel al Minitab, el cual nos calcula las condiciones óptimas de cada fibra para cada compuesto, así como graficas 2D y 3D para visualizar cómo se comportan estas condiciones.

5.5. Simulantes alimentarios

Una vez seleccionada la fibra deseada, vamos a estudiar la migración de las mismas muestras (PET y PO) hacia simulantes alimentarios. Los simulantes que vamos a seleccionar vienen

recogidos en el **Reglamento (UE) nº 10/2011**, en el anexo III, cuadro 1. Se ha tratado de seleccionar distintos tipos de simulantes para albergar un espacio de muestreo lo más amplio posible. Estos simulantes son:

- Simulante alimentario A: **Etanol 10 % (v/v)**
- Simulante alimentario B: **Ácido acético 3 % (w/v)**
- Simulante alimentario D2: Aceite vegetal, Sustitución por **etanol 95 % (v/v)**

Con estos tres simulantes vamos a realizar ensayos de migración para las mismas muestras con la fibra seleccionada. En este caso a los a realizar dos medidas diferentes a la extracción solida realizada para la selección de fibra. En este caso vamos a realizar la migración con muestras con extracción en **espacio de cabeza (HS) y extracción de inmersión directa (DI)**.

Para realizar estas muestras vamos a realizar una migración acelerada con los simulantes nombrados y las muestras. Esta migración acelerada viene recogida en el Reglamento (UE) nº 10/2011 en el anexo V, cuadro 3. Hemos seleccionado el ensayo **OM3**, cuyas condiciones son de **2 horas a 70°C**.

5.5.1. Head Space (HS)

Para la extracción de muestras en Head Space, vamos a realizar una tabla de experimentos aleatorizada con el software Minitab similar a la extracción en solida realizada anteriormente. En este caso los viales que introduciremos en el GC-MS, llevaran el líquido procedente de la migración correspondiente con distintos volúmenes, en todos casos con espacio de cabeza, la fibra no entra en contacto con el extracto.

Tabla 5: *Diseño de experimento para extracción en HS de la fibra seleccionada con los simulantes alimentarios para PET y PO*

Orden de ejecución	Bloques	Tiempo de extracción (min)	Temperatura de extracción (°C)	Cantidad (g)
1	2	40	90	2
2	2	40	120	2
3	2	20	90	2
4	2	60	90	2
5	2	40	60	2
6	2	40	90	3

7	2	40	90	1
8	2	40	90	2
9	1	20	60	3
10	1	20	60	1
11	1	60	120	1
12	1	60	120	3
13	1	20	120	1
14	1	40	90	2
15	1	60	60	1
16	1	40	90	2
17	1	40	90	2
18	1	20	120	3
19	1	60	60	3
20	1	40	90	2

En este caso seguimos realizando 20 experimentos ya que tenemos 3 variables: **Tiempo de extracción, temperatura de extracción y volumen de simulante**. Con extracción en HS usaremos los tres simulantes para los dos tipos de muestras, es decir 6 cuadros de resultados similares al anterior. Realizaremos el mismo proceso que con la extracción sólida de analizar el cromatograma y el espectro de masas, para identificar y verificar los compuestos obtenidos en el MSDIAL y poder obtener los resultados.

5.5.2. Direct Immersion (DI)

En el caso de DI el proceso analítico es un poco diferente por dos motivos. El primero es que no usaremos el simulante alimentario D2 de 95% etanol, debido a que la fibra es sensible a más de un 20% de etanol y podríamos dañarla gravemente. La segunda diferencia es que en este caso solo tenemos dos variables que pueden variar: **tiempo de extracción y temperatura de extracción**. Todos los viales van a ser llenados con la misma cantidad de simulante (hasta el cuello del vial, 18 mL). Debido a esto el cuadro de experimentos aleatorizado se muestra de la siguiente tabla.

Tabla 6: *Diseño de experimento para extracción en DI de la fibra seleccionada con los simulantes alimentarios para PET y PO*

Orden de ejecución	Bloques	Tiempo de extracción (min)	Temperatura de extracción (°C)
1	1	60	75
2	1	60	40
3	1	40	57,5
4	1	40	57,5
5	1	20	40
6	1	40	57,5
7	1	20	75
8	2	11,7	57,5
9	2	40	57,5
10	2	40	57,5
11	2	40	57,5
12	2	68,3	57,5
13	2	40	32,8
14	2	40	82,2

Al igual que anteriormente, analizaremos para confirmar los compuestos medidos y poder así detectar las mejores condiciones con esta extracción en los simulantes propuestos y poder valorar los resultados.

5.6. Optimización de condiciones aplicándolo a un mix de compuestos

Una vez conocidas las condiciones óptimas, se ha empelado un **mix de compuestos** habitualmente encontrados en envases alimentarios para estudiar la robustez del método. Esto lo realizamos para poder encontrar una comparación significativa que nos muestre si hay una mejoría de las fibras SPME Arrow frente a las SPME convencionales.

Se elaboraron diversas rectas de calibrado multipatrón para comparar ambas fibras y ver si es beneficioso usar fibras SPME Arrow. Nuevamente se realizó un DOE para analizar esta parte

del ensayo, realizándose las muestras por duplicado para analizarlo con ambas dos fibras a comparar, con las condiciones optimizadas que obtengamos de la fibra SPME Arrow elegida.

6. Resultados y Discusión

6.1. Estado de la muestra

En primer lugar, hemos valorado si era favorable para el resto de la investigación realizar un pretratamiento de molido a las muestras. Como se observa en el grafico inferior, se comparan muestras de poliolefinas al introducirlas en el cromatógrafo, con la fibra DVB/CAR/PDMS a 80°C y 60 minutos.

Se comparan 5 gramos de muestra sin moler (Cromatograma en rojo) junto a 1 gramo molido (cromatograma negro). Se puede apreciar claramente que a pesar de que la cantidad de muestra es cinco veces menor, el molido en la muestra influye positivamente para la detección y cuantificación de sustancias.

Comparación Condiciones HS Solid PO Fibra Triple 60 min 80°C: 1 g molido vs 5 g sin moler

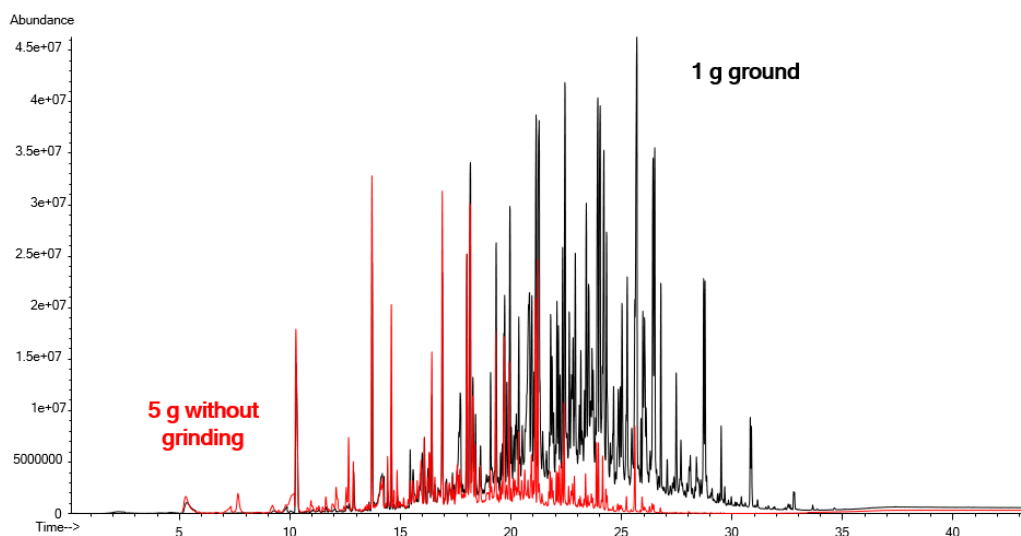
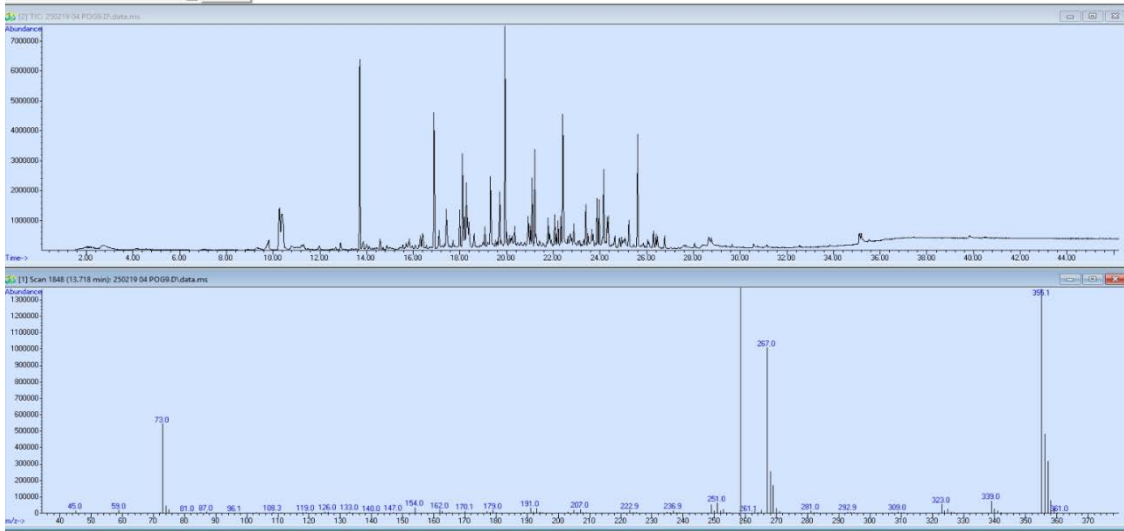


Figura 5: Cromatogramas de muestra molida vs muestra sin moler con la fibra DVB/CAR/PDMS

6.2. Parámetros de optimización

Tras realizar todos los experimentos pre- establecidos con los diferentes programas y equipos comentados con anterioridad, realizamos la optimización de cada fibra teniendo en cuenta las diferentes variables establecidas. Revisamos los cromatogramas y confirmamos con la librería



de estándares, además de establecer los diferentes niveles de certeza.

Figura6: Cromatograma de Poliolefinas, fibra gris, RunOrder: 9

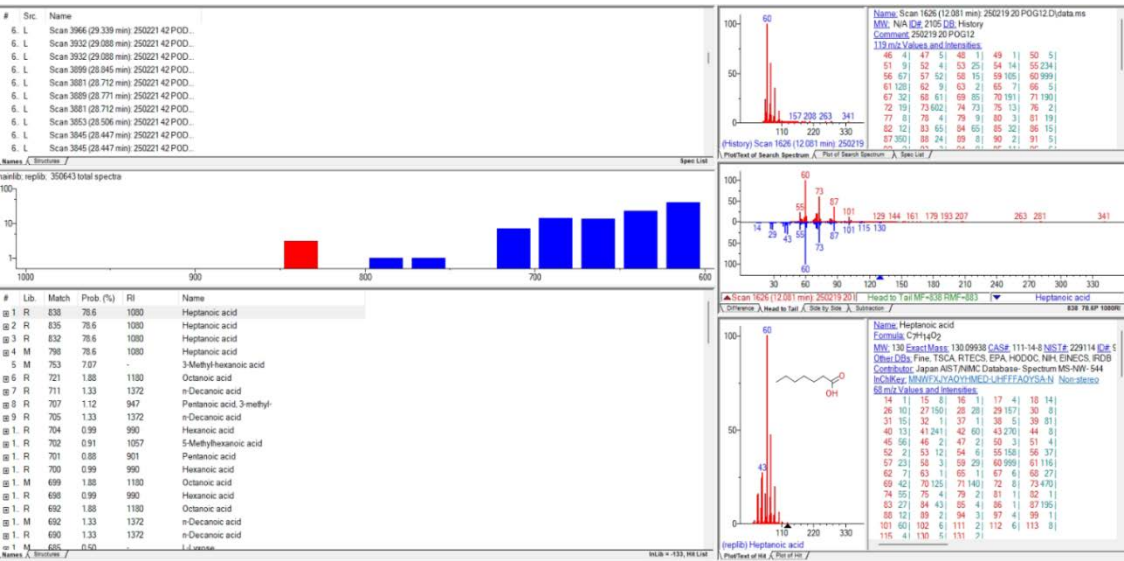


Figura 7: Librería NIST de compuestos detectados de poliolefinas, fibra gris (RunOrder:12)

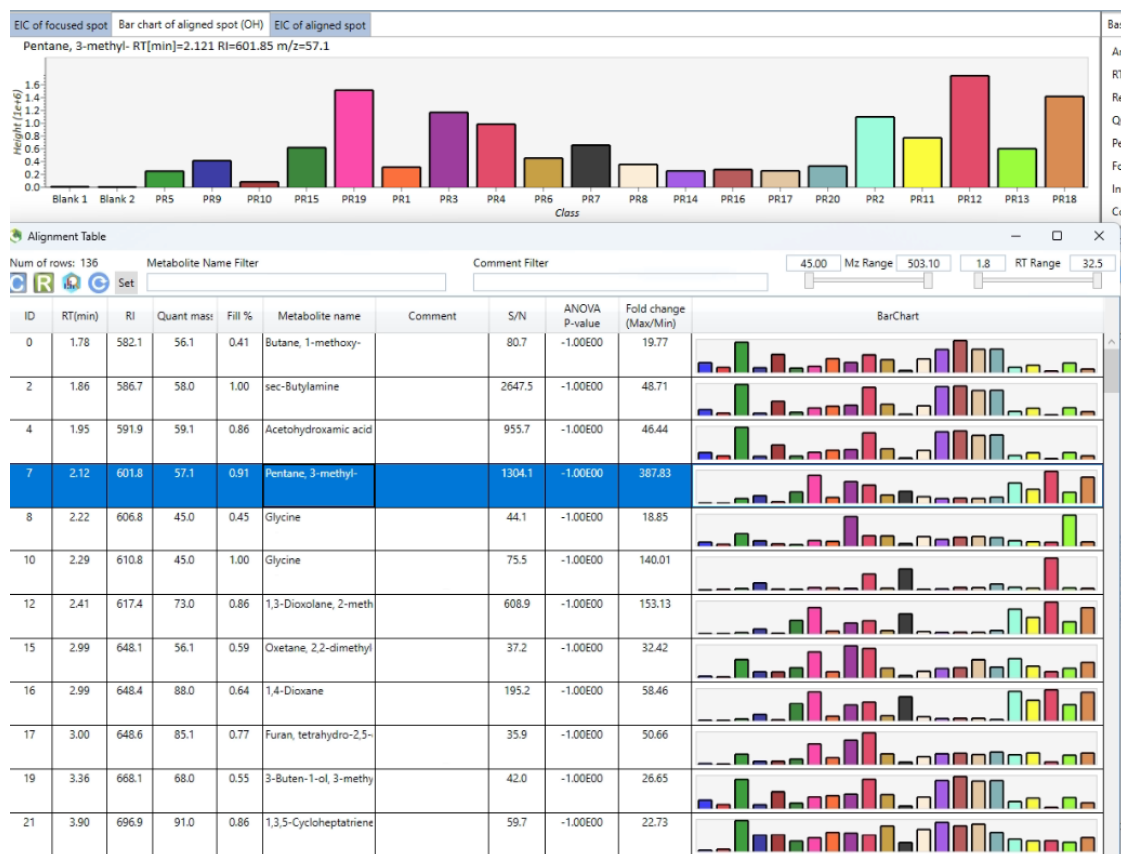


Figura 8: Lista de compuestos en MS-DIAL

Como se puede apreciar en la imagen, cada compuesto se ve más favorecido o más fácilmente detectado por según que experimento de los explicados anteriormente. De esta forma nos aseguramos de cubrir el máximo de rangos de variables y ver que compuestos se ven favorecidos por estas condiciones. Una vez tenemos los compuestos verificados, realizamos la suma de señales para poder introducir los datos en el software Minitab y obtener gráficas y datos de optimización

Realizamos una comparación de estas variables mediante graficas comparativas enfrentando las diferentes variables según la fibra seleccionada y según la muestra para poder establecer las condiciones óptimas de cada fibra. Esto lo realizamos con el software Minitab que nos muestra tanto las gráficas como las condiciones óptimas de extracción. Estas graficas son conocidas como MRS o metodología de superficie de respuesta, las cuales nos van a mostrar las condiciones óptimas de todas las variables en figuras 3D en este caso:

Tabla 7: Graficas de superficie de respuesta en la comparación de las distintas variables del proceso con las diferentes fibras para PET

FIBRAS PET	TIEMPO (min) vs TEMPERATURA(°C)	TIEMPO (min) vs MASA(g)	TEMPERATURA(°C) vs MASA(g)
Dark Grey			
Purple			
BLUE			
GREY			
RED			

Tabla 8: Graficas de superficie de respuesta en la comparación de las distintas variables del proceso con las diferentes fibras para PO

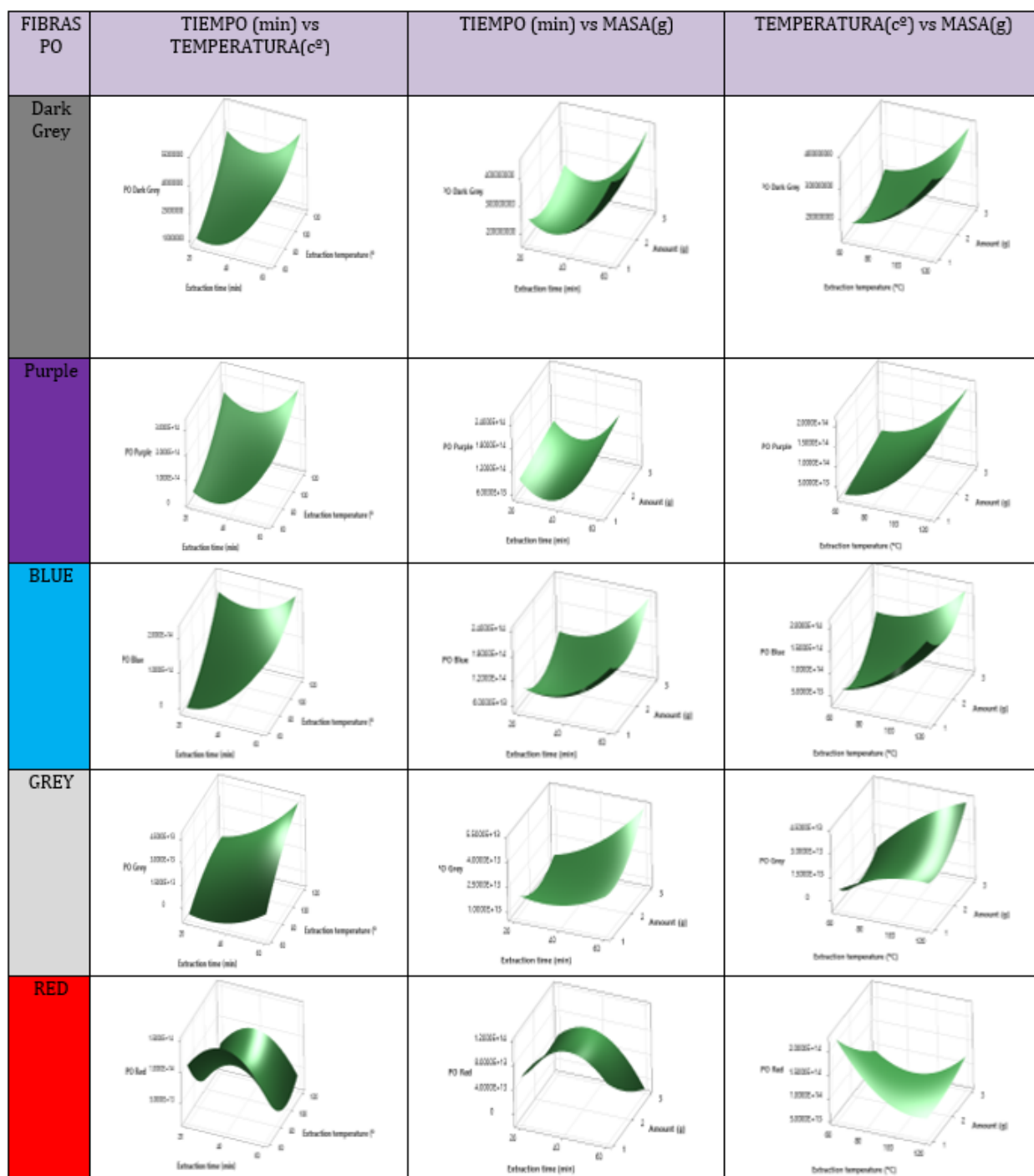


Tabla 9: Optimización numérica de las condiciones ideales de extracción de cada fibra para PET

PET SOLIDO	Tiempo de extracción (min)	Temperatura de extracción (Cº)	Cantidad muestra(g)	Deseabilidad compuesta
DARK GREY	60	120	3	1
PURPLE	47,47	120	1	0.974703
BLUE	60	60	2,859	1
GREY	36,97	60	1,949	0.957261
RED	60	120	2,52	0.815168

Tabla 10: Optimización numérica de las condiciones ideales de extracción de cada fibra para PET

PO SOLIDO	Tiempo de extracción (min)	Temperatura de extracción (ºC)	Cantidad muestra (g)	Deseabilidad compuesta
DARK GREY	60	120	3	1
	60	120	1	1
PURPLE	60	120	3	1
	60	120	1	1
BLUE	60	120	3	0.985009
GREY	60	120	3	0.871215
RED	42,63	60	1	1

Como se observa en las figuras y en la tabla de datos, cada fibra muestra unas condiciones óptimas diferentes para cada una de las muestras (PET y PO). Lo que buscamos es que la columna de deseabilidad compuesta sea lo más próxima a 1.

En algunas ocasiones como en la tabla de poliolefinas tenemos dos fibras que presentan dos condiciones distintas con una deseabilidad compuesta de 1. En ambos casos (Dark Grey y Purple) se nos muestra que es indiferente añadir 1 o 3 gramos de muestra. Debido a esto para optimizar el método tomaríamos como optimo el experimento que usa menos cantidad de muestra.

6.4. Selección de la fibra

Para la selección de la fibra ideal en nuestro caso hemos desarrollado una superposición de los cromatogramas de las cinco fibras para las dos muestras, PET y PO. Ambos cromatogramas han sido seleccionados de experimentos con las mismas condiciones estudiadas para que se puedan comparar. Mediante esto podemos observar visualmente de manera clara cuál es la fibra que más compuestos nos identifica. Se muestra como ejemplo el cromatograma obtenido con todas la fibras con Poliolefinas.

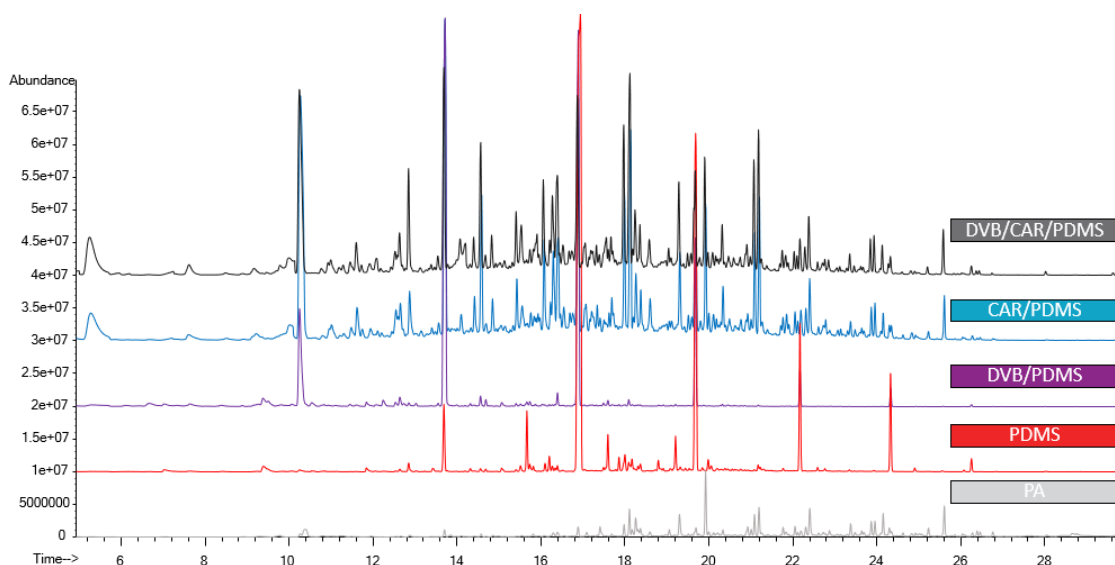


Figura 9: Comparación cromatograma distintas fibras, PO

Los parámetros en los cromatogramas son en el eje X el tiempo de retención, que indica el tiempo (min) en el que cada compuesto aparece (cada pico es un compuesto). Por otro lado, en el eje Y tenemos la abundancia, o cantidad de ese compuesto. A mayor altura del pico, más compuesto hay o más cantidad de compuesto hemos sido capaces de extraer. Por este último motivo y observando los cromatogramas decidimos que la fibra seleccionada para estudiar la migración a simulantes alimentarios en la **fibra DVB/Carbon WR/PDMS** porque es la que más cantidad de compuestos puede extraer de la muestra.

6.5. Simulantes alimentarios

Una vez seleccionada la fibra, continuamos estudiando las migraciones de las muestras a los simulantes alimentarios. De esta forma, optimizaremos las condiciones de la fibra Dark Grey para determinar el máximo de compuestos que migran de la muestra a los simulantes alimentarios seleccionados.

El funcionamiento para desarrollar esta parte del estudio es el mismo que la extracción sólida para la optimización de las cinco fibras, en este caso para una única fibra y con dos tipos diferentes de extracción: con Head Space (HS) y con Direct Immersion (DI). Los diferentes experimentos que se van a realizar están explicados anteriormente en el desarrollo experimental. Los resultados obtenidos fueron:

Tabla 11: Graficas de superficie de respuesta en la comparación diferentes simulantes alimentarios para PET y PO con la fibra gris oscura en DI

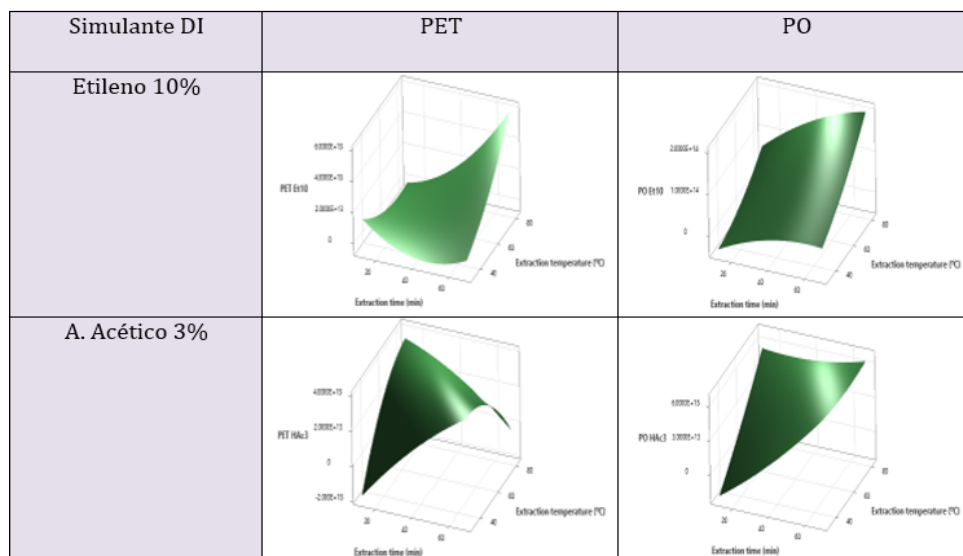


Tabla 12: optimización numérica de las condiciones ideales de extracción de la fibra gris oscura para cada uno de los simulantes alimentarios en DI para PET y PO

DI	Extraction time (min)	Extraction temperature (°C)	Composite desirability
PET Ethanol 10%	68.28	82.25	1
PET Acetic acid 3%	68.28	40	0.97
POs Ethanol 10%	68.28	82.25	1
POs Acetic acid 3%	68.28	40	0.97

La optimización de la respuesta en DI entre las muestras PO y PET junto con los simulantes 10% de etanol y 3% de ácido acético conduce a una deseabilidad compuesta de 0,748. Sin embargo, la optimización de las condiciones separando los simulantes da lugar a una mayor deseabilidad compuesta cercana a 1, lo que indica la necesidad de utilizar condiciones diferentes para cada simulante alimentario, independientemente de que la muestra sea de PET o de PO.

No disponemos de datos fiables de la extracción mediante HS, debido a que el solvente (etanol y HAc) ha saturado la fibra al calentarlo, por lo que como se aprecia en los cromatogramas inferiores, la extracción mediante HS no nos puede proporcionar información válida ni necesaria. Se observa la saturación comparando con el cromatograma de la extracción mediante DI. Esto sucedió con los tres simulantes utilizados en HS, aunque mostramos solo la comparación del etanol 10%:

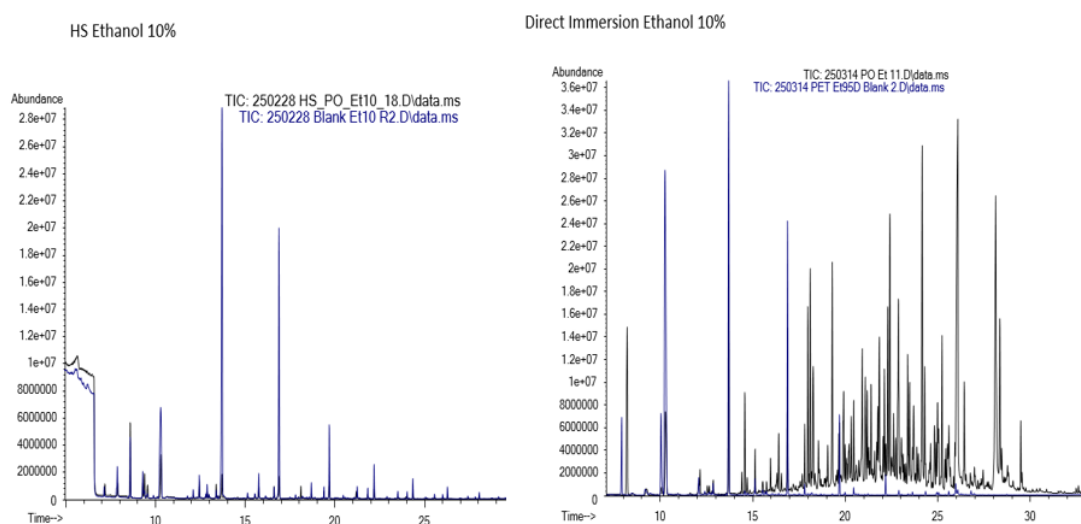


Figura 10: Comparación de dos cromatogramas con el mismo simulante alimentario (etanol 10%) y la misma fibra (gris oscuro), a la izquierda en HS y a la derecha en DI

6.6. Optimización de condiciones aplicándolo a un mix de compuestos

Realizada ambas extracciones con ambas fibras (SPME Arrow y SPME convencional), obtuvimos los análisis de compuestos y sus señales y procedimos con los mismos pasos a seguir de confirmación establecidos en puntos anteriores.

Realizamos dos graficas comparativas para ambas fibras con 5 analitos y 15 analitos. Observamos en la primera que ambas fibras pueden llevar a cabo una recta de calibrado con 5 analitos, pero es la fibra SPME Arrow la que presenta mayor robustez. En la gráfica de la derecha, analizamos 15 compuestos y observamos que la fibra SPME Arrow nos sigue proporcionando una recta de calibrado, mientras que con la fibra SPME convencional, al aumentar el número de analitos, esta se ve saturada por el exceso de compuestos y no es capaz de establecer una recta de calibrado correctamente.

Podemos concluir por esto que las fibras SPME Arrow presentan una mejoría significativa respecto a las SPME convencionales y son especialmente útiles en la absorción de un numero de analitos elevado.

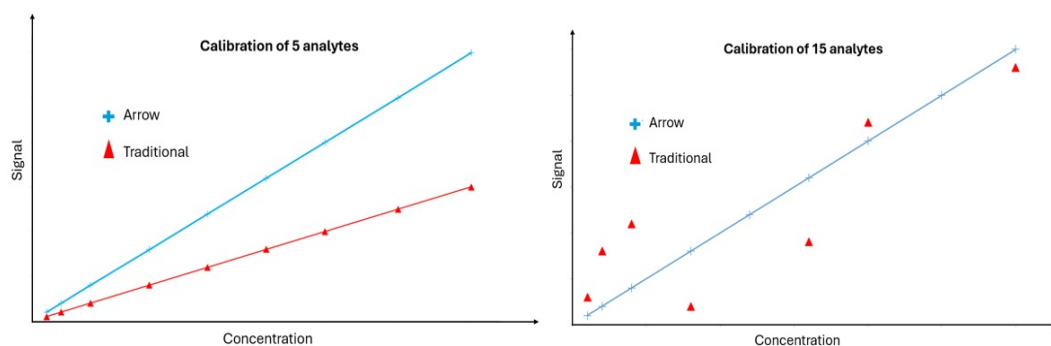


Figura 11: comparación en la calibración de fibras SPME Arrow y fibras SPME convencionales

7. Conclusiones (en castellano e inglés)

En este trabajo se ha desarrollado un método analítico para el análisis de materiales en contacto con alimentos (FCMs), centrado en la extracción de compuestos volátiles y semivolátiles mediante fibras SPME tipo Arrow. Para ello, se empezó comparando cinco fibras con distintos recubrimientos, con el objetivo de encontrar cuáles ofrecían mejores resultados en cuanto a sensibilidad y capacidad de retención de compuestos presentes en plásticos como el PET y las poliolefinas (POs). Esta comparación permitió seleccionar las fibras más adecuadas para las siguientes fases del estudio.

A continuación, se aplicó un diseño de experimentos (DoE) para investigar de manera estructurada las variables que más influían en la eficiencia de extracción, como la temperatura, el tiempo de extracción, el tipo de muestra y su cantidad. Gracias a este enfoque fue posible **optimizar las condiciones** sin necesidad de hacer un número excesivo de experimentos. Además, se observó que el tratamiento previo de las muestras sólidas, especialmente la **molienda criogénica**, ayudaba a mejorar mucho la liberación de compuestos desde las matrices plásticas.

Como resultado, se identificó la **fibra DVB/CAR/PDMS** como la más eficiente, ya que permitía detectar más cantidad de compuestos y en niveles muy bajos. Posteriormente, se optimizaron las condiciones de extracción en distintos simulantes alimentarios (**etanol al 10%, etanol al 95% y ácido acético al 3%**), probando tanto el **modo espacio de cabeza como el de inmersión directa**. Se comprobó que el espacio de cabeza no era adecuado en todos los casos, ya que la fibra podía saturarse fácilmente, sobre todo con simulantes etanólicos. En cambio, el modo de inmersión directa dio resultados más estables y sensibles.

Finalmente, se evaluó el método optimizado usando una mezcla estándar de **15 compuestos típicos de los FCMs**. Se comprobó que el método ofrecía **buena linealidad, alta sensibilidad y un amplio rango de calibración, lo que lo hace adecuado para análisis de control de calidad y vigilancia de la seguridad alimentaria relacionada con la migración de envase al alimento**. También **se comparó con las fibras SPME convencionales**, observando que estas no ofrecían la misma fiabilidad en la calibración de todos los compuestos.

En general, el trabajo demuestra que las fibras Arrow SPME son una **herramienta muy útil y versátil para el análisis avanzado de materiales en contacto con alimentos**, especialmente en el contexto de la seguridad alimentaria

Conclusions

In this work, an analytical method has been developed for the analysis of food contact materials (FCMs), focusing on the extraction of volatile and semi-volatile compounds using Arrow-type SPME fibres. To do so, we started by comparing five fibres with different coatings, with the aim of finding which ones offered the best results in terms of sensitivity and retention capacity of compounds present in plastics such as PET and polyolefins (POs). This comparison made it possible to select the most suitable fibres for the following phases of the study.

A design of experiments (DoE) was then applied to investigate in a structured way the variables that most influenced the extraction efficiency, such as temperature, extraction time, sample type and sample quantity. This approach made it possible to optimise conditions without the need for an excessive number of experiments. Furthermore, it was observed that pre-treatment of the solid samples, especially cryogenic grinding, helped to greatly improve the release of compounds from the plastic matrices.

As a result, the DVB/CAR/PDMS fibre was identified as the most efficient, as it was able to detect more compounds and at very low levels. Subsequently, the extraction conditions were optimised in different food simulants (10% ethanol, 95% ethanol and 3% acetic acid), testing both headspace and direct immersion modes. It was found that headspace was not suitable in all cases, as the fibre could easily become saturated, especially with ethanolic simulants. In contrast, the direct immersion mode gave more stable and sensitive results.

Finally, the optimised method was evaluated using a standard mixture of 15 typical FCM compounds. The method was found to offer good linearity, high sensitivity and a wide calibration range, making it suitable for quality control analysis and food safety monitoring related to packaging-to-food migration. It was also compared to conventional SPME fibres, noting that these did not offer the same reliability in the calibration of all compounds.

Overall, the work demonstrates that Arrow SPME fibres are a very useful and versatile tool for advanced analysis of food contact materials, especially in the context of food safety.

8. Valoración personal

Durante la realización de mi TFG he podido recordar y profundizar mucho más sobre técnicas analíticas y equipos que he estudiado durante la carrera de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Además, he aprendido como es el trabajo con programas de análisis sofisticados y como se trabaja con el cromatógrafo de gases, tanto a inyectar muestras como a la posterior identificación de compuestos. También he conocido un mundo desconocido para mí como era la migración de compuestos de los plásticos de envases alimentarios, el cual me ha fascinado y me gustaría seguir profundizando.

Cabe destacar la falta de información que yo creo que la población tiene sobre este problema que día a día sigue dándose en nuestra vida cotidiana. Personalmente yo tampoco era muy consciente de ello hasta que he realizado este trabajo.

Por otro lado, este trabajo me ha servido para verme inmerso en la búsqueda de información de calidad científica y fiable, así como para aprender cuales son mis puntos fuertes a la hora de trabajar y cuáles no.

Por último, dar las gracias tanto a Carlos como a Celia, por estar durante todo este proceso ayudándome y enseñándome en todo lo que he necesitado.

9. Bibliografía

Anon. 2025. *Selecting the Appropriate SPME Fiber Coating –Effect of Analyte Molecular Weight and Polarity*. [online] Available at: <<https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/solid-phase-microextraction/selecting-the-appropriate?srsId=AfmBOopPEx0w2D6TJGMumviw6glwESAEUyHy4LeBW05ZltcyygRXlkPz>> [Accessed 27 May 2025].

Cecon, V.S., Da Silva, P.F., Curtzwiler, G.W. and Vorst, K.L., 2021. *The challenges in recycling post-consumer polyolefins for food contact applications: A review. Resources, Conservation and Recycling*, <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105422>.

Estremera, C., Blazquez-Martín, J., Aznar, M., Nerín, C. and Domeño, C., 2025. MS-DIAL as efficient tool for the food safety assessment of volatile substances in disposable tableware. *Food Packaging and Shelf Life*, [online] 49, p.101528. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2025.101528>.

Gutiérrez, M.C., Droguet, M., Carmen, M., Bouzán, G. and En Química, D., 2002. *LA CROMATOGRÁFIA DE GASES Y LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS: IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CAUSANTES DE MAL OLOR*. N^o, .

Helmroth, E., Rijk, R., Dekker, M. and Jongen, W., 2002. *Predictive modelling of migration from packaging materials into food products for regulatory purposes*.

Lambré, C., Barat Baviera, J.M., Bolognesi, C., Chesson, A., Cocconcelli, P.S., Crebelli, R., Gott, D.M., Grob, K., Lampi, E., Mengelers, M., Mortensen, A., Rivière, G., Silano, V., Steffensen, I.L., Tlustos, C., Vernis, L., Zorn, H., Batke, M., Bignami, M., Corsini, E., FitzGerald, R., Gundert-Remy, U., Halldorsson, T., Hart, A., Ntzani, E., Scanziani, E., Schroeder, H., Ulbrich, B., Waalkens-Berendsen, D., Woelfle, D., Al Harraq, Z., Baert, K., Carfi, M., Castoldi, A.F., Croera, C. and Van Loveren, H., 2023. Re-evaluation of the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal*, 21(4). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2023.6857>.

Llambrich, M., Ramírez, N., Cumeras, R. and Brezmes, J., 2024. SPME arrow-based extraction for enhanced targeted and untargeted urinary volatilomics. *Analytica Chimica Acta*, 1329. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2024.343261>.

Lord, H. and Pawliszyn, J., 2000. *Evolution of solid-phase microextraction technology*. [online] *Journal of Chromatography A*, Available at: <www.elsevier.com/locate/chroma>.

Ma, Q.L., Hamid, N., Bekhit, A.E.D., Robertson, J. and Law, T.F., 2013. Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compounds in cooked beef using response surface methodology. *Microchemical Journal*, 111, pp.16–24. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.007>.

Mike Chung, T.C., 2013. *Functional polyolefins for energy applications*. *Macromolecules*, <https://doi.org/10.1021/ma401244t>.

Muzeza, C., Ngole-Jeme, V. and Msagati, T.A.M., 2023. *The Mechanisms of Plastic Food-Packaging Monomers' Migration into Food Matrix and the Implications on Human Health*. *Foods*, <https://doi.org/10.3390/foods12183364>.

Nisticò, R., 2020. *Polyethylene terephthalate (PET) in the packaging industry*. *Polymer Testing*, <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106707>.

Patil, C., Junghare, H., Hamjade, M., Patil, C.K., Girase, S.B. and Lele, M.M., 2020. *A Review on Cryogenic Grinding International Journal of Current Engineering and Technology A Review on Cryogenic Grinding*. [online] Available at: <<http://inpressco.com/category/ijcet>>.

Schymanski, E.L., Jeon, J., Gulde, R., Fenner, K., Ruff, M., Singer, H.P. and Hollender, J., 2014. Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence. *Environmental Science and Technology*, [online] 48(4), pp.2097–2098. <https://doi.org/10.1021/ES5002105>.

Silano, V., Barat Baviera, J.M., Bolognesi, C., Chesson, A., Cocconcelli, P.S., Crebelli, R., Gott, D.M., Grob, K., Lampi, E., Mortensen, A., Rivi re, G., Steffensen, I.L., Tlustos, C., Van Loveren, H., Vernis, L., Zorn, H., Cravedi, J.P., Fortes, C., Tavares Po as, M. de F., Waalkens-Berendsen, I., W lfle, D., Arcella, D., Cascio, C., Castoldi, A.F., Volk, K. and Castle, L., 2019. Update of the risk assessment of di-butylphthalate (DBP), butyl-benzyl-phthalate (BBP), bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), di-isononylphthalate (DINP) and di-isodecylphthalate (DIDP) for use in food contact materials. *EFSA Journal*, 17(12). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2019.5838>.

Song, N.E., Lee, J.Y., Lee, Y.Y., Park, J.D. and Jang, H.W., 2019. Comparison of headspace–SPME and SPME–Arrow–GC–MS methods for the determination of volatile compounds in Korean salt–fermented fish sauce. *Applied Biological Chemistry*, 62(1). <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0424-6>.

Velandia Cabra, J.R., 2018. Identificación de polímeros por espectroscopía infrarroja. *Revista Ontare*, 5. <https://doi.org/10.21158/23823399.v5.n0.2017.2005>.

Westland, J. and Technologies, A., 2023. *Solid phase microextraction (SPME) Solid Phase Microextraction Fundamentals*.