



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Estudio de la interacción envase-alimento en los nuevos
envases comerciales para cocinar

Study of the interaction packaging-food in new commercial
packaging for cooking

Autor/es

Gema Casado Hidalgo

Director/es

Margarita Aznar Ramos

Celia Domeño Recalde

Facultad de Veterinaria

2018

Índice

Resumen.....	2
Abstract.....	3
1. Introducción.....	4
1.1 Migración.....	4
1.2 Técnicas de análisis.....	8
1.3 Legislación.....	11
2. Justificación y objetivos.....	13
3. Metodología.....	14
3.1 Materiales.....	14
3.2 Reactivos.....	14
3.3 Instrumental.....	14
3.4 Parámetros y condiciones del análisis por GC-O-MS.....	15
3.5 Desarrollo experimental.....	16
3.5.1 Análisis de los materiales mediante HS-SPME GC-O-MS.....	17
3.5.1.1 Preparación de las muestras e inyección.....	17
3.5.1.2 Identificación de los compuestos.....	18
3.5.2 Ensayo de migración.....	19
3.5.2.1 Preparación de las muestras e inyección.....	19
3.5.2.2 Identificación de los compuestos.....	19
4. Resultados y discusión.....	20
4.1 Identificación de los compuestos de los materiales.....	20
4.1.1 Identificación mediante el espectrómetro de masas.....	20
4.1.2 Identificación mediante el análisis olfatométrico.....	23
4.2 Identificación de los compuestos capaces de migrar al alimento.....	25
4.3 Relación de las identificaciones.....	28
5. Conclusiones.....	31
6. Conclusions.....	32
7. Aportaciones en materia de aprendizaje.....	33
8. Bibliografía.....	34

Resumen

Se han producido cambios sociales, valorándose más el tiempo y la comodidad y esto ha llevado consigo a producirse también cambios en la forma de cocinar. El uso de envases que te permitan cocinar el alimento directamente en su interior está aumentando considerablemente ya que es una forma rápida, sana y limpia, lo que ha llevado a un aumento en la demanda de este tipo de envases.

Debido a esta demanda, es interesante estudiar los posibles riesgos que puede conllevar su uso. El alimento está en constante interacción con el envase y su entorno, dando lugar a una posible migración. Además, al aplicar altas temperaturas durante un tiempo determinado, ya sea en el horno o en el microondas, esta migración puede verse acelerada, dando lugar a compuestos capaces de producir alteraciones organolépticas, al ser sustancias sensorialmente activas; o ser sustancias tóxicas, llegando a hacerlos no aptos para el consumo.

Este proyecto tiene como objetivo principal evaluar este tipo de envases tanto desde el punto de vista del material como de las interacciones que se pueden producir con su uso. Así se van a identificar los compuestos capaces de migrar desde los envases de cocinado al alimento. Para llevar a cabo este objetivo se identificarán los compuestos presentes en el material, se compararán esos compuestos en diferentes materiales, y, por último, se evaluará la influencia del tipo de tratamiento térmico, reproduciendo las condiciones de cocinado recomendadas por el fabricante. Una vez identificados los compuestos en el material, se hará un estudio de migración utilizando simulantes alimentarios para determinar qué compuestos tienen capacidad para migrar al alimento. Para la identificación de todos los compuestos se utilizará la cromatografía de gases con espectrómetro de masas acoplada a olfatometría.

Los resultados muestran que en el material se forman numerosos compuestos volátiles, la mayoría de ellos aldehídos, que son sustancias sensorialmente activas y además, varios de ellos tienen la capacidad de migrar al alimento. Sin embargo, se ha demostrado que mediante la olfatometría se detectan una mayor cantidad de compuestos que por la espectrometría de masas. Esto quiere decir que los compuestos que migran están a baja concentración, por lo que no debería afectar a la seguridad del alimento, pero sí que son capaces de producir alteraciones organolépticas en el alimento.

Abstract

Social changes have been produced, time and comfort are valued more, which has also produced changes in the way you cook. The use of packaging which allows you to cook the food directly inside has increased considerably because it is a faster, healthier and cleaner way, which has led to an increase in the demand for this type of packaging.

Due to this demand, it is interesting to study the possible risks that can lead to its use. The food is in constant interaction with the packaging and its environment, leading to possible migration. In addition, when applying high temperatures for a certain time, either in the oven or in the microwave, this migration can be accelerated, giving rise to compounds capable of producing organoleptic alterations, because of their sensorial active substances; or toxic substances, making them unfit for consumption.

The main objective of this project is to evaluate this type of packaging both from the point of view of the material and the interactions that can occur with its use. This will identify the compounds which are capable of migrating from the cooking packaging to the food. To carry out this objective, the compounds present in the material will be identified, these compounds will be compared in different materials, and finally the influence of the type of heat treatment will be evaluated by reproducing the cooking conditions recommended by the manufacturer. Once the compounds in the material have been identified, a migration study will be made using food simulants to determine which compounds have the capacity to migrate to the food. To identify all of the compounds, gas chromatography with mass spectrometer coupled to olfactometry will be used.

The results show that numerous volatile compounds are formed in the material, most of them aldehydes, which are sensorial active substances and also several of them have the capacity to migrate to the food. However, it has been shown that more compounds are detected by olfactometry than by mass spectrometry. This means that the compounds that migrate are at low concentration so it should not affect the safety of the food but, they are capable of producing organoleptic alterations in the food.

1. Introducción

Actualmente, en la sociedad, se han producido unos cambios en el estilo de vida que han influido directamente en los hábitos alimenticios. Las personas cada vez valoran más el tiempo y la comodidad (Iglesias et al., 2009), sin dejar de preocuparse por cocinar de una forma sana. Por ello, el consumo de comida cocinada en el propio envase está en auge en los últimos años. Esto se debe principalmente a que dicho envase nos permite calentar y/o cocinar en el microondas u horno, de forma limpia, rápida y sana.

Estos envases de cocinado son materiales plásticos que al ser sometidos a altas temperaturas durante un determinado tiempo pueden dar lugar a migraciones al alimento; siendo una posible fuente de contaminación química, y/o modificar las propiedades organolépticas del alimento que contienen.

1.1 Migración

El producto envasado debe considerarse como un sistema terciario en el que interacciona el alimento con el envase y con el entorno. Estas interacciones son transferencias de masa que se corresponden a tres fenómenos: la permeabilidad o paso de gases o de vapor de agua a través del envase; la adsorción de sustancias del alimento o del entorno en el envase; y la migración o transferencia de sustancias del envase al alimento (Navia et al., 2014) (Vera, 2013).

En la evaluación de la capacidad de los materiales poliméricos para el envasado de alimentos se debe prestar una especial atención a la migración envase-alimento ya que, las sustancias que migran incorporándose al alimento pueden: producir alteraciones organolépticas, debido a la transferencia de sustancias sensorialmente activas que aportan sabores y olores extraños al alimento; o ser sustancias tóxicas, llegando a hacerlos no aptos para el consumo (Galotto et al., 2008) (Catalá and Gavara, 2002).

La migración no se produce de la misma forma en todos los materiales o envases en contacto con alimentos, ya que está influenciada por una gran cantidad de factores. En los materiales poliméricos, incluyendo plásticos y derivados celulósicos, se produce la interacción mediante un mecanismo de transferencia de masa a través de la matriz polimérica. En esta interacción, tanto los componentes y aditivos añadidos para mejorar las propiedades, como las sustancias no añadidas intencionalmente (NIAS) que están presentes en el material, pueden llegar a incorporarse al producto envasado (Canellas et al., 2017). Estas sustancias no añadidas intencionadamente pueden estar presentes en el alimento envasado como resultado de los procesos de reacción y degradación o la presencia de impurezas en las materias primas utilizadas para la producción de envases (Nerin et al., 2013).

El tipo de compuestos químicos que pueden migrar desde el envase hasta el alimento es muy variable y numeroso (Muncke, 2013). Por un lado, los materiales plásticos son unos polímeros de elevado peso molecular, inertes, con una solubilidad limitada, y por ello, su transferencia al alimento es muy limitada. Por otro lado, las sustancias del material de envase que sí pueden migrar son los compuestos de bajo peso molecular que se encuentran en la matriz polimérica, tales como los residuos, coadyuvantes de la polimerización, aditivos, compuestos procedentes de la degradación del polímero y/o aditivos o sustancias adyacentes al material del envase (Catalá and Gavara, 2002) (Canellas et al., 2012). Estas sustancias adyacentes pueden ser barnices, adhesivos y tintas de impresión usadas comúnmente en materiales plásticos de múltiples capas utilizados para el envasado de alimentos, conteniendo compuestos que pueden migrar a los alimentos ya sea por difusión a través de las multicapas o debido a fenómenos de desajuste (Domeño et al., 2017) (Aznar et al., 2015) (Canellas et al., 2015a).

Un ejemplo de ello, es el caso de los embalajes biodegradables, que se fabrican mediante la combinación de varios materiales, creando una multicapa con las propiedades necesarias. Cada material, incluido el adhesivo, podría contener sustancias que capaces de migrar a los alimentos. Este aspecto es muy importante tenerlo en cuenta ya que se ha llegado a comprobar que se producen migraciones con estas sustancias añadidas involuntariamente, que resultan ser compuestos neoformados creados por la reacción de compuestos añadidos en el adhesivo (Canellas et al., 2015b).

Por todo ello, la migración se caracteriza por su alta complejidad, ya que está fuertemente influenciada tanto por la interacción entre los componentes de los alimentos, como por el material de envasado y todo lo que éste contiene (Nerin et al., 2016).

La magnitud y la velocidad con la que se produce la migración del envase al alimento depende de diversos factores. Por un lado hay que destacar que, la magnitud de la migración es directamente proporcional a la concentración del migrante en el material de envase. Y por otro lado, la magnitud y la velocidad de la migración están influenciadas por las propiedades físico – químicas de la sustancia migrante (polaridad y peso molecular), del material de envasado (destacando la densidad: si es más denso, menor es la migración) y del alimento (siendo la migración mayor en alimentos grasos) (Galotto et al., 2008). Además, dos parámetros importantes que hay que tener en cuenta son la temperatura de almacenamiento y el tiempo de contacto, ejerciendo esta primera, una fuerte influencia en la cantidad y tipo de sustancias que migran al alimento. Por último destacar que, también influye el tamaño del envase en proporción al volumen del producto alimenticio, ya que un embalaje pequeño tiene una superficie mayor en relación a su volumen (Muncke, 2013).

La migración puede dividirse en tres etapas: en primer lugar se da la difusión del migrante en la matriz polimérica a través de los espacios libres transitorios originados por los movimientos naturales aleatorios de las cadenas del polímero, que ocurre en ausencia de fuerzas externas y que obedece a las leyes de Fick; en segundo lugar, la solvatación o dilución en el alimento, que se produce en la interfase alimento – envase y dependiendo de cómo sea el coeficiente de partición (favorable o desfavorable), se producirá la transferencia más rápido o más lento; y por último, la dispersión del migrante en el alimento. El migrante llega a esta etapa ya disuelto en el alimento (Galotto et al., 2008).

En la práctica, se distinguen varios tipos de migración. Por un lado, la migración global es la cantidad total de los componentes del material de envase que son transferidos al alimento, sean conocidos o no, en las condiciones de preparación y almacenamiento menos favorable, sin tener en cuenta su toxicidad. Y por otro lado, la migración específica es la cantidad de una sustancia concreta e identificable que es transferida al alimento, teniendo en cuenta su toxicidad. Además se distinguen otros términos como, la migración potencial o límite de composición, que es la cantidad máxima de una sustancia presente en un materia que potencialmente podría ser transferida al alimento envasado (Catalá and Gavara, 2002).

El análisis de la migración global y específica directamente en el alimento es una tarea muy compleja y a menudo imposible. Por ello se recurre a los llamados ensayos de migración utilizando sustancias simulantes, es decir, sustancias que se caracterizan por poseer un poder extractivo similar a los alimentos a los que está destinado el envase (Catalá and Gavara, 2002). Las condiciones de temperatura y tiempo de estos ensayos están establecidas en el Reglamento EU/10/2011. Para hallar el simulante alimentario apropiado para determinados alimentos, se debe tener en cuenta la composición química y las propiedades físicas de cada alimento (Reglamento 10/2011).

Por último, destacar el papel de la temperatura en el proceso global de migración. Las altas temperaturas aumentan la difusión de los compuestos en el material, aumentando la probabilidad de migración de monómeros y oligómeros (Bhunia et al., 2013). Además, cabe la posibilidad de que los compuestos se descompongan térmicamente, afectando a su identidad.

Todo esto hay que tenerlo en cuenta para el diseño y fabricación de nuevos envases, como son los envases horneables y microondeables.

En cuanto a los envases horneables, destacar el reto que es para los fabricantes de envasado, ya que estos envases tienen que resistir altas temperaturas durante un tiempo determinado manteniendo tanto las propiedades del envase como las del alimento.

Respecto a los envases microondeables, aunque su calentamiento tiene una duración menor que los horneables, el estudio de la migración de componentes del material calentado por microondas presenta gran interés. Esto se debe a que, tanto el alimento como el envase pueden alcanzar rápidamente altas temperaturas, siendo además no uniformes a lo largo del calentamiento. Las temperaturas que se alcanzan varían en función de la naturaleza del alimento, los que tienen mucho contenido en agua alcanzan los 100 – 110°C y los que tienen un elevado contenido graso o de azúcares, los 200°C y superiores (Jovani, 2014).

Además de inducir efectos térmicos sobre el material, también puede inducir efectos no térmicos, los cuales dependen de la naturaleza del material plástico (Catalá and Gavara, 2002) (Nerin et al., 2013). Dos ejemplos de estructuras utilizadas para la fabricación de materiales microondeables son: PP/EVOH/PP o PET/Al/PP. El PP se suele utilizar porque tiene resistencia a la sorción de la grasa, es esterilizable y microondeable (Jovani, 2014).

1.2 Técnicas de análisis

Las sustancias sensorialmente activas que pueden migrar del envase al alimento tienen umbrales de detección muy bajos. Sin embargo, estas sustancias migran en concentraciones por debajo de los límites toxicológicos y, generalmente por debajo de los límites de detección instrumentales. Es por ello que, su evaluación requiere el uso combinado de técnicas instrumentales y análisis sensorial ya que, el ser humano es capaz de distinguir un número infinito de sustancias a muy bajas concentraciones (Bernstein, 1999) (Vera, 2013).

Por un lado, la técnica analítica instrumental más importante para el análisis de las posibles sustancias migrantes de naturaleza volátil es la cromatografía de gases, que permite detectar, separar y cuantificar este tipo de sustancias. Por otro lado, la técnica sensorial que complementa esta señal cromatográfica es la olfatometría, que consiste en contar con evaluadores entrenados para oler los gases a la salida de la columna cromatográfica. Además, si el equipo cuenta con detector de espectrometría de masas se puede identificar las sustancias involucradas (Wrona et al., 2017).

De manera que la técnica utilizada para llevar a cabo este análisis es la cromatografía de gases con espectrómetro de masas acoplada a olfatometría. A continuación se explica con más detalle cada una de estas partes.

En primer lugar, la cromatografía es una técnica instrumental de separación dinámica, en la que los analitos se distribuyen entre dos fases, una estacionaria, que se mantiene fija, y otra móvil, que se desplaza por la estacionaria. Los analitos se encuentran en la fase móvil y se van desplazando en continuo a través de la fase estacionaria. Según sea su constante de distribución o reparto, tendrán tendencia a estar en una fase u otra. Si la constante es alta, quiere decir que ese analito tiende a estar en la fase estacionaria. Y si es baja, en la fase móvil. Así es como los analitos se van distribuyendo y por tanto separando. La cromatografía puede de ser de gases (CGS) o líquida (CGL). En este caso se utiliza la cromatografía de gases, por lo que la fase móvil es un gas. La CGS es la técnica con mejor poder de resolución para compuestos orgánicos volátiles.

En segundo lugar, la espectrometría de masas es el detector más utilizado en las cromatografías por su rapidez y alta sensibilidad. Esta técnica proporciona tanto información de la masa molecular de un compuesto como información de su estructura. Tras la elución de los componentes volátiles se obtiene el cromatograma, una representación gráfica de una serie de picos que aparecen a determinados tiempos de retención. Cada pico corresponde a un tipo de componente volátil, que se puede identificar gracias a la existencia del amplio software con librerías espectrales (Aceña, 2011).

Con la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas, se ha obtenido un amplio conocimiento de la composición de la fracción volátil de los alimentos. Sin embargo, no terminan de encajar los resultados cromatográficos con las percepciones sensoriales porque en los alimentos hay una gran cantidad de compuestos volátiles y no todos ellos poseen olor, de la misma manera que hay compuestos con olor que se encuentran por debajo del límite de detección del método.

Por este motivo y con el objetivo de identificar los compuestos activos sensorialmente de entre la totalidad de la fracción volátil, se desarrolló en 1964 la cromatografía de gases con detección olfatométrica (GC-O) (Aceña, 2011). En esta técnica, una vez que los componentes a separar salen de la columna, el flujo se divide en dos, una parte va a un detector químico, que es el espectrómetro de masas y la otra a un detector olfatométrico, donde se sitúa la nariz del analista, ambos conectados en paralelo (Vera et al., 2014).

Esto permite relacionar la información química que genera el espectrómetro de masas con la información sensorial del olfatómetro lo que aporta una serie de ventajas tales como, la posibilidad de asignar descriptores olfativos a los picos cromatográficos, detectar olores que el detector instrumental no puede registrar y evaluar la contribución de cada volátil en el aroma global del alimento (Bascón, 2016) (Ferreira et al., 2003).

En la CG-O, la inyección de muestras puede realizarse por inyección líquida de un extracto de la muestra o por microextracción en fase sólida (SPME).

La SPME, es una técnica creada a principios de los años 90 que permite la extracción y concentración simultáneas de los compuestos, reduciéndose considerablemente el tiempo de análisis. Las principales ventajas que presenta la SPME son: su simplicidad y fácil aplicación sobre muestras tanto sólidas, como líquidas o gaseosas; la manipulación prácticamente nula de la muestra; el que no requiera disolventes o elevadas temperaturas durante la extracción; y su gran selectividad (Aceña, 2011).

La microextracción en fase sólida del espacio de cabeza (HS-SPME) es una técnica muy utilizada para el análisis de compuestos volátiles. Es una técnica de solvente libre que permite el análisis directo con alta sensibilidad (Canellas et al., 2016). Se basa en exponer la fibra al espacio de cabeza extrayendo los compuestos volátiles de la fase gaseosa que está en equilibrio con la matriz, de forma que se obtiene un extracto lo más parecido posible a la fracción volátil que se inhala (Aceña, 2011) (Alpendurada, 2000).

1.3 Legislación

Se han establecido legislaciones nacionales e internacionales que deben cumplir los materiales destinados a entrar en contacto con los alimentos debido a la gran incidencia de la migración en la calidad y, sobre todo, en la salubridad de los alimentos envasados.

En esta legislación se abarcan temas como: listas positivas de sustancias admitidas para la fabricación industrial de materiales plásticos destinados a estar en contacto con los alimentos, límites de migración global y específica, y ensayos de evaluación.

Tres Reglamentos a destacar son:

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

El principio básico del presente Reglamento es que cualquier material u objeto destinado a entrar en contacto directa o indirectamente con alimentos ha de ser lo suficientemente inerte para evitar que se transfieran sustancias a los alimentos en cantidades lo suficientemente grandes para poner en peligro la salud humana, o para ocasionar una modificación inaceptable de la composición de los productos alimenticios o una alteración de las características organolépticas de éstos.

La finalidad y objeto del presente Reglamento es garantizar el funcionamiento efectivo del mercado interior en relación con la comercialización en la Comunidad de los materiales y objetos destinados a entrar en contacto directo o indirecto con alimentos, proporcionando al mismo tiempo la base para garantizar un elevado nivel de protección de la salud humana y de los intereses de los consumidores.

Se aplica a los materiales y objetos terminados que estén destinados a entrar en contacto con alimentos o, que estén ya en contacto con alimentos y estén destinados a tal efecto o, de los que quepa esperar razonablemente que entrarán en contacto con alimentos o que transferirán sus componentes a los alimentos en condiciones normales o previsibles de empleo.

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

Algunos sectores de la industria han establecido directrices sobre buenas prácticas de fabricación, pero otros carecen de ellas. Por ello, se ve necesario garantizar la uniformidad entre Estados miembros. De este modo, el presente reglamento establece las normas sobre buenas prácticas de fabricación para los grupos de materiales y objetos destinados a entrar en contacto con los alimentos. Se aplicará a todos los sectores y todas las etapas de fabricación, procesamiento y distribución de los materiales y objetos, hasta la producción de sustancias primas, ésta no inclusive.

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

Este Reglamento establece requisitos específicos para la fabricación y comercialización de materiales y objetos plásticos destinados a estar en contacto con los alimentos, ya en contacto o que es razonable suponer que entrarán en contacto.

Las sustancias usadas en la fabricación de capas plásticas para materiales y objetos plásticos no pueden transferir sus componentes a los alimentos en cantidades superiores a las establecidas. Para ello se establecen dos límites, el de migración global y el de migración específica. Respecto a la migración global, se establece un límite de 10 mg/dm² de material plástico o 60 mg/kg de alimento. Y respecto a la migración específica, se han establecido los límites de migración específica (LME) que se establecen en el anexo I, expresados en mg de sustancia por kg de alimento (mg/kg). Para las sustancias que el anexo I no establezca LME, se aplicará un límite genérico de migración específica de 60 mg/kg. Además, las sustancias que no aparezcan en el anexo I del presente Reglamento, no deberán superar 10 ng/g en la migración.

Destacar que en el anexo III del presente Reglamento se establecen los simulantes alimentarios para demostrar la conformidad de materiales y objetos plásticos que aún no estén en contacto con alimentos. En él, hay una lista de los simulantes alimentarios, la asignación general a los alimentos y una asignación específica, donde aparece una clasificación según la descripción del alimento.

2. Justificación y objetivos

El objetivo de este proyecto es evaluar los envases de cocinado directo tanto desde el punto de vista del material como de las interacciones que se pueden producir con su uso. Para ello se va a identificar los compuestos capaces de migrar desde el envase de cocinado hasta el alimento. Al tratarse de un envase que se utiliza como recipiente para cocinar el alimento, tiene que soportar altas temperaturas durante un periodo de tiempo determinado, sin que se produzcan migraciones capaces de alterar el alimento, ya sea organolépticamente, produciendo olores y sabores extraños; como químicamente, llegando a hacerlo no apto para el consumo.

Para conseguir la resolución de este objetivo se dividió el trabajo en una serie de objetivos parciales:

- Objetivo 1 → Identificar los compuestos presentes en dos material: Material 1 y Material 2.
- Objetivo 2 → Comparar los compuestos identificados en ambos materiales.
- Objetivo 3 → Evaluar la influencia del tipo de tratamiento térmico en la formación y la intensidad de los compuestos después de someterlos a las condiciones recomendadas por el fabricante. Para ello se ha sometido uno de los material al horno eléctrico y al microondas.
- Objetivo 4 → Realizar un estudio de migración con tres simulantes alimentarios: etanol 10% (v/v), etanol 95% (v/v) y aceite de girasol en las condiciones recomendadas por la legislación.

3. Metodología

3.1 Materiales

Se utilizaron para los ensayos 2 bolsas de dos marcas diferentes, a las que se les llamaron Material 1 y Material 2. Ambas fueron adquiridas en una gran superficie.

Las condiciones de cocinado que aconsejó el fabricante para el Material 1 fueron: en el horno 200°C desde 45 minutos hasta 55 (dependiendo del tipo de producto); y en el microondas con 800W de potencia desde 25 hasta 35 minutos.

Para el Material 2, las condiciones de cocinado fueron iguales que las del Material 1. En este caso, el fabricante especificó la composición del Material: 100% polietileno apto para uso alimentario.

3.2 Reactivos

Se prepararon disoluciones de patrones con el fin de confirmar los compuestos identificados. Los patrones utilizados fueron xileno, 1-octen-3-ona, 2-octenal, nonanal, trans-2-nonenal, estragol, decanal, undecanal, dodecanal y tridecanal, suministrados por Sigma-Aldrich Química (Barcelona, España). Además, como disolvente se utilizó metanol (calidad LC-MS) adquirido en ScharlauChemie S.A (Sentmenat, España).

También se utilizó aceite de girasol, etanol 10% (v/v) y etanol 95% (v/v) como simulantes alimentarios para realizar los ensayos de migración.

3.3 Instrumental

El equipo principal que se utilizó para llevar a cabo los ensayos fue un cromatógrafo de gases 7890N acoplado a un detector de espectrómetro de masas 5977D (Agilent Technologies) y un puerto de olfatometría (Phaser). El inyector es automático 7693 y la columna es HP – 5MS (DB – 5) de 30 metros de longitud, 0,25 milímetros de diámetro exterior y 0,25 micrómetros de diámetro interior (Agilent Technologies).

Además, se utilizó un equipo para concentrar las muestras de etanol al 95% DB-3 (Techne).

3.4 Parámetros y condiciones del análisis por GC-O-MS

Las inyecciones se realizaron en splitless a una temperatura de 250°C. Para las disoluciones orgánicas se realizó inyección líquida con un volumen de inyección de 1µL. Mientras que para las disoluciones acuosas (<10% de materia orgánica) se realizó inyección por SPME utilizando el tipo de fibra DVB/CAR/PDMS. Esta fibra fue elegida ya que posee las tres polaridades, siendo más versátil y facilitando la extracción.

Para extraer los analitos en las muestras cocinadas con horno se acondicionó el vial a 80°C durante 15 minutos para que saliesen los volátiles al espacio de cabeza y, posteriormente, se introdujo la fibra para que adsorbieran los analitos durante 20 minutos a 80°C. En el caso de las muestras calentadas con microondas no fue necesario acondicionar el vial y se introdujo la fibra directamente 20 minutos a temperatura ambiente para extraer los analitos.

Una vez acondicionada la fibra, se inyectó en el equipo y se procedió a la desorción durante 3 minutos a 250°C. El tipo de fibra, la temperatura y el tiempo de adsorción o de extracción de los analitos son parámetros muy importantes que es necesario optimizar y ajustar para extraer todos los volátiles correctamente pero sin excederse, ya que si se calienta demasiado el vial, la fibra se puede llegar a saturar.

Otro aspecto a tener en cuenta fue el programa del horno. Podía ser isoterma, es decir, con la misma temperatura durante todo el análisis cromatográfico; o con gradiente de temperatura, es decir, con rampas. El programa elegido fue con gradiente de temperatura, de manera que durante los primeros 5 minutos estuvo a 40°C para que saliese el disolvente, que no interesaba, y transcurrido este tiempo, se empezó a subir la temperatura 10°C por minuto hasta los 300°C, que es lo que permitió la columna (DB5).

Para la detección por olfatometría hubo dos aspectos a tener en cuenta: la temperatura del puerto olfatómico, que en este caso fue de 170°C; y el paso de aire humidificado para evitar la deshidratación de las fosas nasales y con ello evitar la disminución de la capacidad olfativa del analista.

Además, para los análisis olfatómicos se utilizó un panel de 5 catadores previamente entrenados. Su entrenamiento consistió en dos pruebas con compuestos de diferente naturaleza química y diferentes descriptores.

En primer lugar, olieron los compuestos situados en viales de forma individual y tuvieron que anotar descriptores aromáticos para cada uno de ellos. Y en segundo lugar, se preparó una disolución con 7 compuestos a una concentración de 20 ppm y el catador anotó los descriptores aromáticos que consideraron adecuados, el tiempo en el que se percibieron y su intensidad.

Respecto al espectrómetro de masas se utilizó en modo SCAN de 50 a 400mz.

3.5 Desarrollo experimental

En primer lugar se procedió a identificar los compuestos del Material 1 y del Material 2 para ver diferencias y semejanzas.

En segundo lugar, se comprobó la influencia del tipo de tratamiento térmico al que era sometido el envase en los compuestos detectados. Para ello, se comprobó el comportamiento de los compuestos identificados en el Material 1 sometido a las condiciones del horno eléctrico y al microondas.

Y por último, una vez que se identificaron los compuestos, se hicieron ensayos de migración con tres tipos de simulantes alimentarios, etanol al 10%, etanol al 95% y aceite vegetal. Estos ensayos tienen como finalidad comprobar si puede haber migración de los compuestos identificados al alimento en las condiciones de uso.

3.5.1 Análisis de los Materiales mediante HS-SPME GC-O-MS

3.5.1.1 Preparación de las muestras e inyección

Para analizar los Materiales se prepararon cuadrados de 2,5x2,5cm con cada uno de ellos y se introdujeron en viales. A continuación, tanto las muestras de Material 1 como de Material 2 se llevaron a un horno a 190°C durante una hora y media. En el caso del Material 1 con microondas, se calentaron durante 30 minutos a máxima potencia. Se realizaron 5 réplicas de cada ensayo. Además, los blancos de cada Material se hicieron exactamente igual que las muestras pero sin meterlos en el horno o en el microondas.

Posteriormente se extrajeron los analitos del espacio de cabeza mediante HS-SPME en las condiciones establecidas. Pasado este tiempo se retiró la fibra y se procedió a su desorción en el inyector del cromatógrafo de gases a 250°C durante 3 minutos.

A continuación, se llevó a cabo el análisis olfatométrico. Lo realizaron las 5 personas previamente entrenadas, situándose en el puerto olfatométrico y anotando: los aromas percibidos (mediante descriptores aromáticos), el tiempo al que los percibieron y la intensidad que consideraron en base a una escala del 1 al 3, siendo 1 la valoración más baja y 3 la de mayor intensidad (Maroto and Coello, 2006).

3.5.1.2 Identificación de los compuestos

Una vez que todos los catadores realizaron el análisis olfatométrico y el equipo procesó la información, se procedió a la identificación de los compuestos. Para realizar una buena identificación se utilizaron 3 criterios: el espectro de masas, los descriptores aromáticos y los índices de retención.

En primer lugar, la identificación con el espectrómetro de masas se realizó comparando los espectros de masas de cada uno de los compuestos detectados en el cromatograma con los espectros de la librería NIST. El criterio que se utilizó para dar válido un compuesto fue el MATCH, un número que te indica la similitud entre el espectro experimental y el registrado. En este caso, a partir de 700 fue cuando se dio por identificado un compuesto.

En segundo lugar, para la identificación por olfatometría se agruparon todos los resultados anotados por los catadores. Para ello se tomaron como referencia los descriptores aromáticos y el tiempo a los que se percibieron. Una vez agrupados, se hizo la media de los tiempos de retención; y con la intensidad y la frecuencia, se calculó la frecuencia modificada.

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

Donde F es la frecuencia detectada (número de personas que detectan el aroma entre el número total de catadores y por 100). Y la I, es la intensidad (el promedio de la intensidad detectada entre 3, que es la máxima intensidad y por 100) (Cullere et al., 2004). La frecuencia modificada, es el parámetro que sirvió para seleccionar los aromas con más relevancia del Material, siendo el 45% el límite de selección.

En tercer lugar, para realizar la identificación por los índices de retención, se inyectó una disolución de alcanos desde el C₇ al C₄₀ en las mismas condiciones cromatográficas que las muestras. Conociendo el tiempo de retención al que salen los alcanos por la columna cromatográfica y el de los compuestos, se pudo calcular el índice de retención o de *Kovats* mediante la siguiente fórmula:

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

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

Una vez identificados los compuestos aromáticos y calculados los índices de *Kovats* se compararon con dos bases de datos: Flavornet (www.flavornet.org) y The good scents company (www.thegoodscentcompany.com). Ambas bases de datos proporcionan los índices de *Kovats* en diferentes columnas cromatográficas y descriptores aromáticos para una gran variedad de compuestos.

Además para hacer una confirmación completa de algunas de estas identificaciones se adquirieron estos compuestos como reactivos y se prepararon disoluciones con una concentración de 10 ppm en metanol. Posteriormente, al tratarse de soluciones orgánicas, se hicieron inyecciones líquidas, y una vez obtenidos los cromatogramas se compararon los índices de *Kovats* de los estándares con los experimentales.

Por último, una vez que se tuvieron identificados los compuestos de los Materiales, se trabajó con un software llamado MSD ChemStation F.01.03.2357 en el cual se introdujo el nombre de los compuestos, con su tiempo de retención y las masas de los iones con mayor relevancia. El programa fue capaz de identificar los compuestos en todas las muestras e integrar el pico para calcular el área; se hizo todo automáticamente. Sin embargo, hubo que ir compuesto por compuesto en todas muestras para comprobar si el programa tomaba el pico correcto. Para reconocer el pico correspondiente al compuesto se comparaba el espectro de masas con el de la librería NIST, si no coincidía se cambiaba de pico hasta identificarlo y en el caso de no ser ninguno o no haber pico se ponía el área a 0.

3.5.2 Ensayos de migración

3.5.2.1 *Preparación de las muestras e inyección*

Para realizar el test de migración se usaron tres simulantes: etanol 10% (v/v) y etanol 95% (v/v) y aceite de girasol. De cada tipo de simulante se prepararon 6 viales con cuadrados de Material 1 de 2,5x2,5cm en su interior. De esos 6 viales, 3 se trataron con temperatura (190°C/50minutos) y los otros 3 sin temperatura; y, posteriormente, se sometieron a migración a 70°C durante 2 horas.

Una vez acabada la migración, se retiró el Material 1 de los viales quedando solo el simulante con los posibles compuestos migrantes. Por un lado, el aceite y el EtOH 10 al ser soluciones acuosas se inyectaron por HS-SPME (con las mismas condiciones que en el resto de pruebas). Por otro lado, el EtOH95% se concentró a 50°C durante 1 hora por medio de nitrógeno gaseoso, partiendo de 5mL hasta llegar a 1mL; y al ser una disolución orgánica, se inyectó por inyección líquida.

3.5.2.2 *Identificación de los compuestos*

La identificación de los compuestos migrantes se realizó de la misma forma que la identificación de los compuestos en el Material. En primer lugar se hizo el análisis olfatométrico por triplicado y en segundo lugar se calculó las áreas de los compuestos identificados por espectrometría de masas por triplicado con el software anterior.

4. Resultados y discusión

4.1 Identificación de los compuestos de los materiales

4.1.1 Identificación mediante el espectrómetro de masas

Material 1 versus Material 2:

En primer lugar se identificaron los compuestos comunes y los propios de cada uno de los dos Materiales (Material 1 y Material 2). Para ello, se agruparon en una misma tabla los compuestos de ambos Materiales que presentaron un Match superior o igual a 700. La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos al comparar los dos materiales.

Tabla 1: Compuestos identificados del Material 1 y del 2 sometidos a horno con el espectrómetro de masas. tr, tiempo de retención; IR, índice de retención.

tr	Nombre	N° CAS	IR	Identificación	
				Material 1	Material 2
6,21	Tolueno	108-88-3	758	x	x
7,11	Hexanal*	66-25-1	795	x	x
8,01	Furfural*	98-01-1	833	x	
9,60	Heptanal*	111-71-7	900	x	x
10,86	Benzaldehído*	100-52-7	962	x	x
11,65	Octanal*	124-13-0	1002	x	x
12,43	Bencenoacetaldehído	122-78-1	1047	x	
12,82	Acetofenona	98-86-2	1071		x
13,20	2-nonanona	821-55-6	1093	x	x
13,31	Undecano	1120-21-4	1099	x	
13,40	Nonanal*	124-13-0	1105	x	x
14,43	1-nonanol*	143-08-8	1172	x	
14,91	Estragol	140-67-0	1203	x	x
14,96	Decanal*	112-31-2	1206	x	x
15,82	Nonaico	112-05-0	1268		x
16,13	Trideceno	2437-56-1	1291		x
16,19	Undecanona	112-12-9	1295	x	
16,38	Undecanal*	112-44-7	1309	x	x
17,24	1-undecanol	112-42-5	1374	x	
17,51	2-dodecanona	6175-49-1	1395		x
17,55	Tetradecano	629-59-4	1398		x
17,71	Dodecanal*	112-54-9	1412	x	x
18,21	Hexadecanol	36653-82-4	1452		x
18,51	1-dodecanol	112-53-8	1475	x	x
18,97	Tridecanal	10486-19-8	1513	x	x
19,48	Nonilciclohexano	359-07-1	1557	x	x
20,12	Tetradecanal	124-25-4	1615	x	x

Ni: no identificado; * compuesto confirmado con estándar.

De esta forma, se determinó que el Material 1 y 2 son envases de cocinado con una composición muy similar. Esto se debe a que se identificó el mismo número de compuestos en ambos Materiales de los cuales, todos menos 6, fueron comunes.

Además de averiguar que los compuestos de cada uno de los Materiales eran parecidos, se quiso ver si sus intensidades también eran similares. Para llevarlo a cabo, se superpusieron los cromatogramas obtenidos tras analizar el Material 1 y el Material 2, tal y como se observa en la Figura 1.

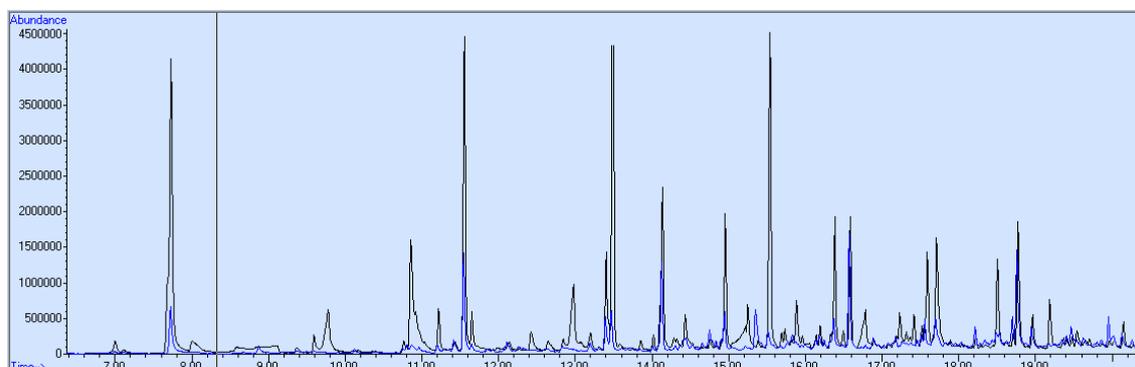


Figura 1. Superposición de los cromatogramas obtenidos tras analizar el Material 1 (●) y el Material 2(●).

Como se observa en la Figura 1, hay muchos picos que coinciden pero las intensidades no son las mismas, para tener un dato más numérico y poder comparar los dos Materiales de una forma más objetiva, se compararon las áreas de los compuestos comunes. Los resultados se muestran en la Figura 2.

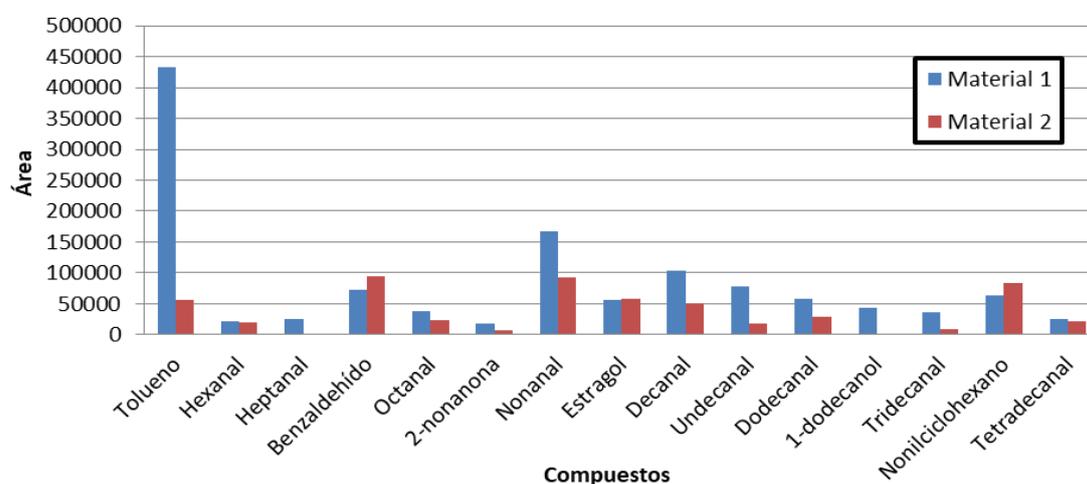


Figura 2. Comparación de las áreas de los compuestos identificados por espectrometría de masas que son comunes entre el Material 1 y el Material 2.

Al compararlas, se observó que presentan diferencias, siendo el Material 1 el que tiene los compuestos con mayor intensidad, a excepción del benzaldehído, estragol y nonilciclohexano. Por esta razón, se tomó el Material 1 como referencia en todos los ensayos.

Material 1 horno versus Material 1 microondas:

Después se procedió a comprobar el comportamiento del Material 1 tratado con horno y con microondas simulando las condiciones de cocinado para comprobar si mostraba diferentes.

Con el objetivo de ver la influencia del tipo de tratamiento térmico, se superpusieron los cromatogramas para observar las intensidades de los picos, tal y como se ve en la Figura 3.

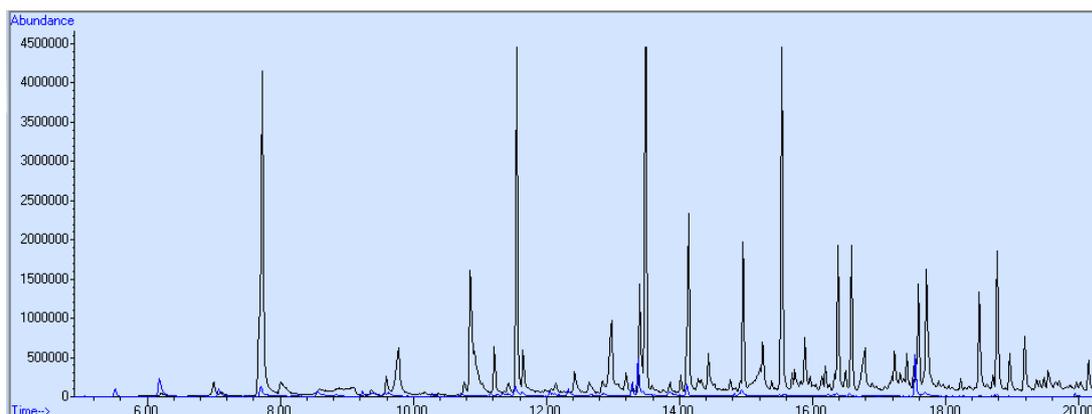


Figura 3. Superposición de los cromatogramas obtenidos tras analizar el Material 1 tratado con horno (●) y el tratado con microondas(●).

Como se observa en la Figura 3, apenas se aprecian picos en el Material tratado con microondas. Para completar la comparación de las intensidades de los compuestos, se contrastaron las áreas de ambos tal y como se muestra en la Figura 4.

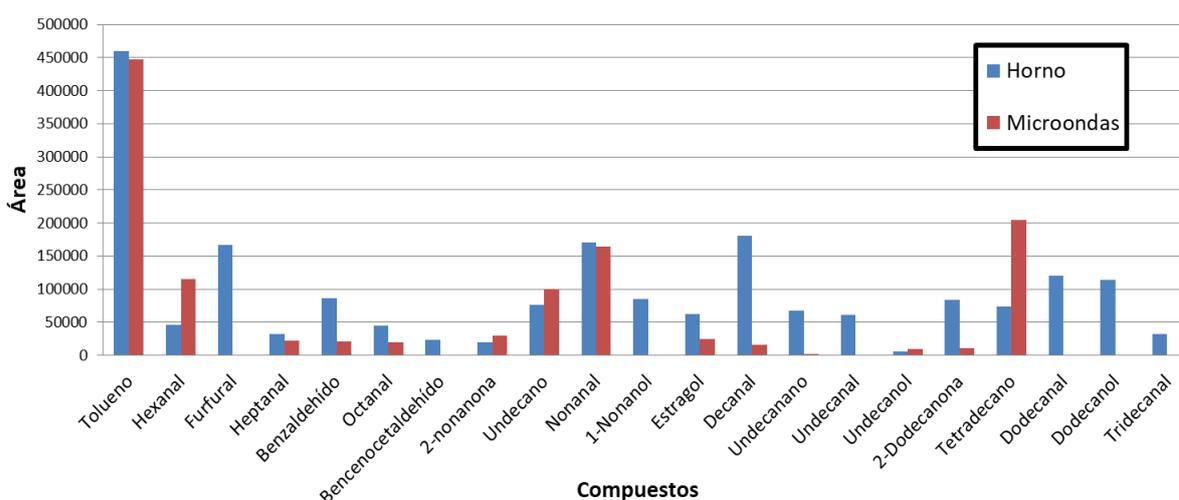


Figura 4: Comparación de las áreas de los compuestos identificados por espectrometría de masas del Material 1 sometido al horno y sometido al microondas.

En la Figura 4 se observa que el tipo de tratamiento térmico sí influye en la intensidad de los compuestos, ya que las áreas de los compuestos identificados en el Material sometido al horno son superiores a las del sometido al microondas. A excepción del hexanal, undecano y tetradecano.

4.1.2 Identificación mediante el análisis olfatométrico

Una vez calculadas todas las frecuencias modificadas del Material 1 y del 2 con horno y del Material 1 con microondas, se compararon para ver los compuestos odorantes comunes y no comunes. Esta comparación se realizó seleccionando los descriptores aromáticos que presentaron una frecuencia modificada superior al 45%. La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 2: Compuestos odorantes presentes en el Material 1 y en el 2 tras horneado (M1 y M2) y del Material 1 tras microondas (M.O.) con una frecuencia superior al 45%. IR exp., índice de retención experimental. La numeración de compuestos de esta tabla coincide con la de la figura 3 y 4.

N° Nombre	N° CAS	Descriptores aromáticos	IR exp.	Rt	% FM		
					M1 (Horno)	M2 (Horno)	M1 (M.O.)
1 Tolueno	108-88-3	Dulce, pan	772	6,55	35,36	48,99	44,72
2 Xileno*	108-38-3	Alcano, cloro	843	8,25	52,70	69,28	0,00
3 Furfuril alcohol	98-00-0	Grasa, desagradable	869	8,87	74,54	30,55	16,33
4 Ni	-	Desagradable	880	9,84	37,27	50,99	0,00
5 Benzaldehído	100-52-7	Grasa, aceitoso	924	10,44	30,43	48,99	28,28
6 1-octen-3-ona*	4312-99-6	Champiñón, seta	981	11,23	88,19	89,44	81,65
7 Octanal*	124-13-0	Limón, verde	1004	11,68	69,72	50,99	32,66
8 2-octenal*	2363-89-5	Alcano, dulce	1068	12,77	47,14	42,43	18,26
9 3,5-octadienona	38284-27-4	Asado, champiñón	1083	13,03	91,29	85,63	48,99
10 Nonanal*	124-19-6	Pepino, verde	1100	13,32	88,19	69,28	61,10
11 Sotolon	28664-35-9	Especias, licor	1112	13,50	95,74	54,77	0,00
12 Isoborneol	124-76-5	Cloro, verde	1152	14,13	76,07	52,92	83,67
13 trans-2-nonenal*	60784-31-8	Pimienta, green	1167	14,35	76,07	69,28	36,51
14 Nonanol	143-08-8	Especias, quemado	1176	14,49	23,57	52,92	28,28
15 Estragol*	140-67-0	Fruta, pepino	1199	14,85	74,54	46,90	11,55
16 Decanal*	112-31-2	Verde, pepino	1210	15,01	81,65	0,00	0,00
17 D-tetradecalactona	2721-22-4	Dulce, verde	1250	15,57	52,70	11,55	38,73
18 y-palmitolactona	730-46-1	Floral	1261	15,72	52,70	70,71	56,57
19 y-octalactona	104-50-7	Coco	1269	15,83	68,04	20,00	0,00
20 Undecanal*	112-44-7	Floral	1291	16,43	50,92	28,28	0,00
21 Ni	-	Grasa, cloro	1324	16,57	23,57	51,64	28,28
22 Ni	-	Canela, dulce	1372	16,83	52,70	56,57	54,16
23 2-Dodecanona	693-54-9	Desagradable	1389	17,42	52,70	36,51	0,00
24 Dodecanal*	112-54-9	Dulce, floral	1407	17,65	58,93	16,33	23,09
25 Tridecanal*	10486-19-8	Vainilla, dulce	1516	19,00	47,14	0,00	16,33

Ni: no identificado; * compuesto confirmado con estándar.

Realizando esta comparación, se determinó que el Material 1 tratado con horno poseía un mayor número de compuestos odorantes con una alta frecuencia modificada (mayor a 45%) que el Material 2 y que el Material 1 tratado con microondas. En el Material 1 con horno se determinaron 20 compuestos frente a los 16 del Material 2 y los 6 del Material 1 con microondas.

Material 1 versus Material 2:

En primer lugar, para identificar los compuestos con mayor impacto aromático del Material 1 y del 2, se hizo un gráfico en el que se compara el análisis olfatométrico de ambos Materiales de una forma más visual. En él, aparecen todos los compuestos con una frecuencia modificada superior al 45%, destacando los que son mayores del 60%. La Figura 5 muestra los resultados obtenidos.

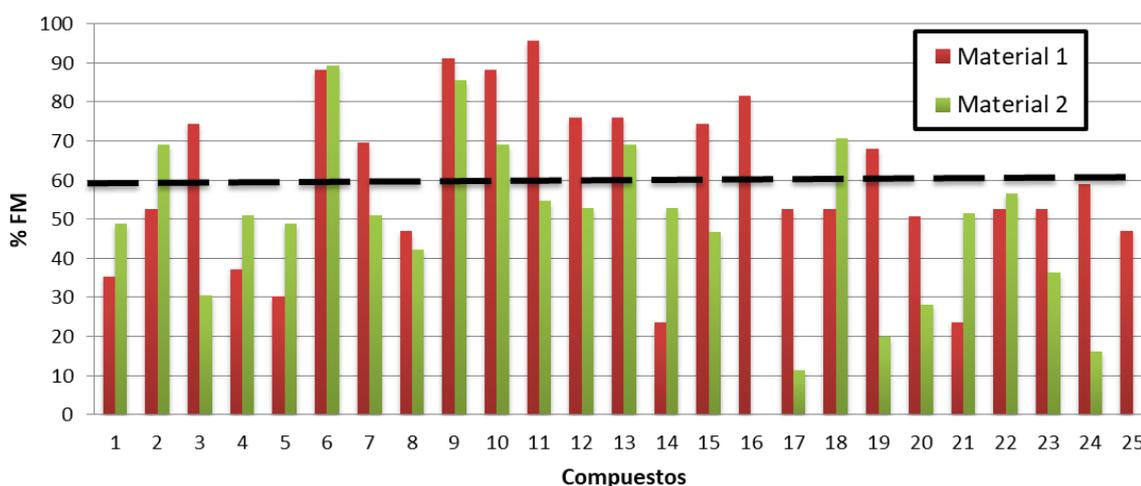


Figura 5: Comparación de los compuestos con una frecuencia modificada superior al 45% del Material 1 y del Material 2, destacando los que son mayores del 60%.

Como se observa en la figura, destaca el 1-octen3-ona, ya que está presente con una frecuencia modificada elevada en los dos Materiales. El resto de compuestos destacan por tener una frecuencia modificada elevada en el Material 1 y una menor en el 2 como es en el caso del furfural alcohol, octanal, 3,5-octadienona, nonanal, isoborneol, trans-2-nonenal, estragol, y-octalactona; destacar especialmente al sotolón, ya que es el compuesto con una mayor frecuencia modificada del Material 1 (95,74%), a diferencia del Material 2 (54,77%). Además, se observa que el decanal sólo está presente en el Material 1 (81,65% frente a 0%). Por otro lado, los compuestos identificados con una frecuencia modificada alta en el Material 2 y baja en el Material 1 fueron el xileno y la y-palmitolactona.

Material 1 horno versus Material 1 microondas:

En segundo lugar, se quiso averiguar si el tipo de tratamiento térmico presenta diferencias significativas en las frecuencias modificada de los compuestos aromáticos. Para realizarlo visualmente se diseñó la Figura 6, en la que se representan todos los compuestos con una frecuencia modificada superior al 45% del Material 1 tratado con horno y con microondas.

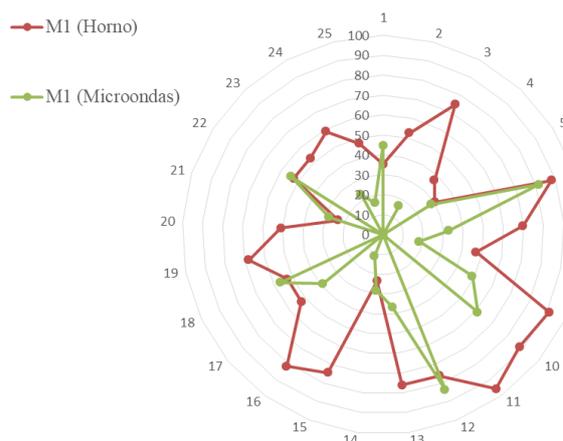


Figura 6: Comparación de los compuestos con una frecuencia modificada superior al 45% del Material 1 (M1) tratado con horno y con microondas.

En esta figura se observa de forma muy diferenciada el Material que ha sido sometido al horno del que ha sido sometido al microondas. Por un lado, en el Material sometido al horno se identificó un mayor número de compuestos con la frecuencia modificada alta, 11 compuestos frente a los 3 del microondas. Y por otro lado, las frecuencias modificadas de cada compuesto son más altas en el Material sometido al horno, a excepción del tolueno, nonanal, isoborneol, y-palmitolactona y los compuestos 21 y 22 (cuyos nombres no han podido ser identificados), que son mayores en el sometido al microondas.

4.2 Identificación de los compuestos capaces de migrar al alimento

Una vez identificados los compuestos del Material 1, se buscaron tanto por análisis olfatométrico como por espectrometría de masas en las migraciones realizadas con los tres simulantes alimentarios. El objetivo de este apartado fue descubrir si los compuestos que forman el Material 1 son capaces de migrar al alimento.

Tabla 3: Áreas de los compuestos identificados en el Material 1 que se han identificado en los simulantes alimentarios por espectrometría de masas.

N°	Nombre	Área		
		EtOH 10	EtOH95	Aceite
1	Tolueno	0	73	16331
2	Hexanal*	0	0	110966
3	Furfural*	0	0	104
4	Heptanal*	0	0	8012
5	Benzaldehído*	184	0	88
6	2-nonanona	0	0	5079
7	Undecano	0	0	12480
8	Nonanal*	7288	0	29835
9	1-nonanol*	0	0	3934
10	Estragol	0	0	36999
11	Decanal*	5173	0	0
12	Undecanona	0	0	0
13	Tetradecano	13229	0	0
14	Dodecanal*	6244	0	0
15	1-dodecanol	972	0	1404
16	Tetradecanal	239	0	287

*compuesto confirmado con estándar

De los 21 compuestos identificados en el Material 1, se detectaron 16 en alguno de los 3 simulantes. Pero solo 4 compuestos aparecían al menos en dos simulantes.

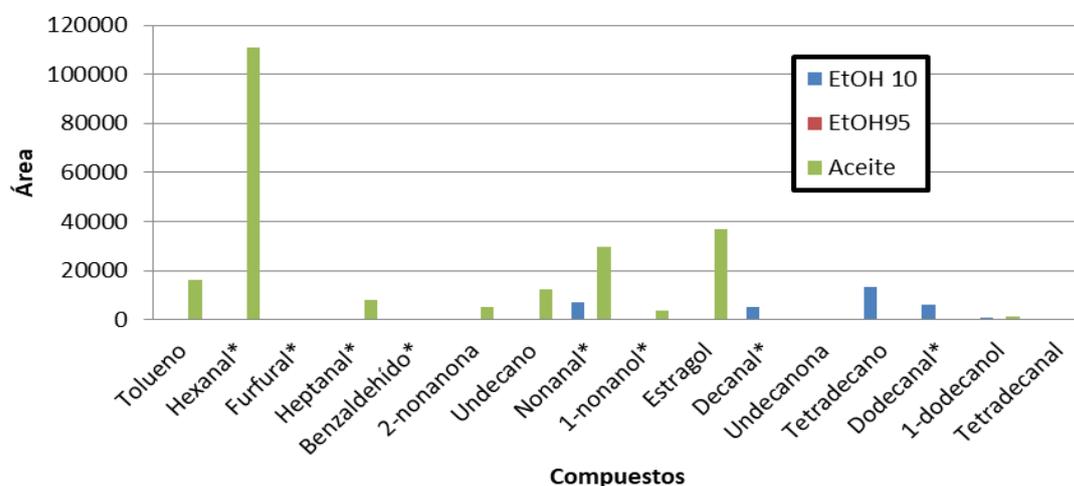


Figura 7: Comparación de las áreas de los compuestos identificados en el Material 1 que se han identificado en los simulantes alimentarios por espectrometría de masas.

Como se observa en la figura 7, no se puede identificar ningún compuesto por este criterio, ya que las áreas obtenidas son muy bajas y un mismo compuesto no se obtiene por varios simulantes, por lo que los compuestos que han aparecido no son fiables de identificar por este criterio.

Por lo tanto, el siguiente paso fue ver si el análisis por olfatometría era un criterio capaz de identificar compuestos migrantes. Para ello, se compararon los compuestos identificados en el Material 1 con una frecuencia modificada superior al 70% con las frecuencias modificadas de los simulantes.

Tabla 4: Comparación de las frecuencias modificadas mayores del 70% de los compuestos identificados en el Material 1 con las frecuencias modificadas obtenidas de los simulantes.

Nombre	M1 (Horno)	% FM		
		EtOH 10	EtOH 95	Aceite
Furfuril alcohol	74,54	43,03	-	38,49
1-octen-3-ona*	88,19	49,07	33,33	91,29
3,5-octadienona	91,29	50,92	38,49	38,49
Nonanal*	88,19	-	-	23,57
Sotolon	95,74	-	19,25	33,33
Isoborneol	76,07	81,65	19,25	54,43
trans-2-nonenal*	76,07	47,14	-	74,54
Estragol*	74,54	19,25	-	-
Decanal*	81,65	50,92	19,25	30,43

*compuesto confirmado con estándar

Una vez realizada la comparación, se identificaron 9 compuestos. Posteriormente se establecieron dos criterios para seleccionar los que aparecieron en los simulantes. El primero de ellos fue que la frecuencia modificada de los simulantes debía ser superior al 30%. Y el segundo criterio fue que aparecieran en un mínimo de dos simulantes. Por lo que el nonanal, el estragol y el sotolón se eliminaron. Los dos primeros por aparecer sólo en un tipo de simulante y el tercero, a pesar de aparecer tanto en etanol 95% como en aceite, se eliminó por tener unas frecuencias modificadas inferiores a lo establecido. De forma que finalmente se seleccionaron 6 compuestos.

A partir de estos 6 compuestos se realizó una nueva figura en la que se compararon las frecuencias modificadas de todos ellos en el Material 1 y en los 3 simulantes, para posteriormente determinar los que superaban el 60% de la frecuencia modificada.

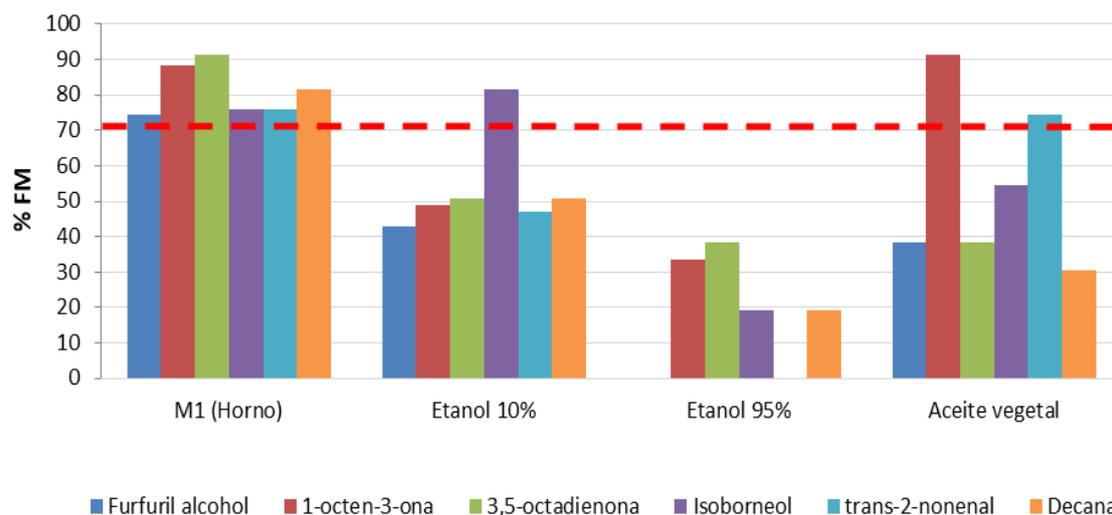


Figura 8: Comparación de los compuestos identificados en el Material 1 con una frecuencia modificada superior al 70%, con los compuestos presentes en al menos dos simulantes alimentarios con una frecuencia modificada superior al 30%, de los cuales se destacaron los superiores al 70%.

Los compuestos destacados fueron isoborneol con 81,65%, 1-octen-3-ona con un 91,29% y trans-2-nonenal con un 74,54%. De esta forma, con el test de migración se identificaron estos 3 compuestos como capaces de migrar al alimento al someterlo a 190°C durante 1 hora y 30 minutos en el horno, provocando modificaciones en las propiedades organolépticas del alimento cocinado.

4.3 Relación de las identificaciones con espectrometría de masas y análisis olfatométrico

En un principio se puede pensar que tendrían que identificarse los mismos compuestos tanto por espectrometría de masas como por olfatometría. Sin embargo, esto no es así, ya que son dos criterios que tienen una sensibilidad diferente para cada tipo de compuestos.

Para comprobarlo, se agruparon todos los resultados obtenidos por ambos criterios en forma de tabla, tanto los identificados en el Material como los identificados en las migraciones.

Tabla 5: Agrupación de los resultados obtenidos por espectrometría de masas y análisis olfatométrico tanto en el Material como en las migraciones.

Nombre	Material 1		Migraciones					
	Espectro de masas	Olfatometría	Espectro de masas			Olfatometría		
			EtOH10	EtOH95	Aceite	EtOH10	EtOH95	Aceite
Tolueno	x			x	x			
Hexanal*	x				x			
Furfural*	x				x			
Xileno*		x						
Furfuril alcohol		x				x		x
Heptanal*	x				x			
Benzaldehído*	x		x		x			
1-octen-3-ona*		x				x	x	x
Octanal*	x	x						
2-octenal*		x						
Bencenoacetaldehído	x							
3,5-octadienona		x				x	x	x
2-nonanona	x				x			
Undecano	x				x			
Nonanal*	x	x	x		x			x
Sotolon		x					x	x
Isoborneol		x				x	x	x
trans-2-nonenal*		x				x		x
Nonanol	x		x		x			
Estragol	x	x	x		x	x		
Decanal*	x	x	x		x	x	x	x
D-tetradecalactona								
γ-palmitolactona		x						
γ-octalactona		x						
Trideceno					x			
Undecanona	x		x					
Undecanal*	x	x						
1-undecanol	x							
2-dodecanona		x			x			
Tetradecano			x					
Dodecanal*	x	x	x		x			
1-dodecanol	x		x		x			
Tridecanal	x	x						

*compuesto confirmado con estándar; x, compuesto identificado por el correspondiente criterio, independientemente de su valor.

 Compuestos identificados por espectrometría de masas con un área superior a 50000 en el Material

 Compuestos con una frecuencia modificada >60% en el Material

 Compuestos con una frecuencia modificada > 70% en la migración

Agrupando los resultados, se observa que no se identifican los mismos compuestos por espectrometría de masas que por análisis olfatométrico.

Por un lado, algunos de los compuestos identificados tienen un límite de detección por encima de la sensibilidad del equipo pero por debajo de la sensibilidad de la nariz del analista. Por lo que estos compuestos se pueden identificar mediante el análisis olfatométrico pero no por la espectrometría de masas. Los mejores ejemplos de ello son el sotolón, trans-2-nonenal, isoborneol y 1-octen-3-ona. El primero de ellos tiene la mayor frecuencia modificada en el Material con un 95,74% aunque sus valores en la migración no son significativos. Mientras que, el trans-2-nonenal, isoborneol y 1-octen-3-ona, además de que tienen altos valores en el Material son los tres compuestos identificados capaces de migrar al alimento. Además destacar que, el isoborneol y 1-octen-3-ona son los compuestos más relevantes olfatoméricamente en el calentamiento por microondas, con una frecuencia de 83,67 y 81,65% respectivamente. También se detectan sensorialmente el xileno, furfural alcohol y 3,5-octadienona, aunque sus valores son más bajos.

Por otro lado, hay compuestos identificados con el espectrómetro de masas que no poseen aroma o si lo poseen no ha podido ser detectado por el analista. Esto se debe a que el umbral de detección sensorial es muy alto para la nariz humana y los compuestos se encuentran a una concentración menor. Estos compuestos son tolueno, hexanal, furfural, heptanal, benzaldehído, 2-nonanona, undecano, nonanol, undecanona, 1-undecanol y 1-dodecanol.

Y por último, destacar que sí hay compuestos que se detectan por medio de los dos criterios. Como es el caso del octanal, undecanal, dodecanal, tridecanal, nonanal, estragol y decanal. Los cuatro primeros se detectan en el Material pero no son capaces de migrar. Sin embargo, el nonanal, estragol y decanal sí que se han identificado en la migración, pero como sus valores han estado por debajo de los límites de selección, se ha concluido con que tampoco son capaces de migrar al alimento.

5. Conclusiones

Las dos técnicas estudiadas, CG-MS y CG-O-MS son complementarias para generar información sobre los materiales. Por un lado se puede detectar la posible presencia de sustancias tóxicas que pueden migrar al alimento y por otro, sustancias que pueden producir cambios organolépticos en el alimento. Ambos resultados van a determinar si el material es adecuado como envase de cocinado, y si este uso genera algún riesgo de salud o modificación organoléptica en el alimento.

Las conclusiones que se obtuvieron con la identificación de los compuestos de los materiales fueron:

- Con el espectrómetro de masas se determinó que:
 - o El Material 1 y 2 son envases con una composición muy similar. Sin embargo, los compuestos del Material 1, en general, poseen mayores intensidades.
 - o El tipo de tratamiento térmico sí influye en la intensidad de los compuestos, ya que el Material 1 tratado con microondas presentó muchos menos compuestos que el tratado con horno y, los que presentó, tuvieron intensidades más bajas.
- Con el análisis olfatométrico se determinó que, el Material 1 tratado con horno es el que posee un mayor número de compuestos odorantes con una alta frecuencia modificada (>45%). Se determinaron 20 frente a los 16 del Material 2 y los 6 del Material 1 con microondas.

Realizando los ensayos de migración, se descubrió mediante el análisis olfatométrico, que los compuestos del Material 1 capaces de migrar al alimento son el isoborneol, 1-octen-3-ona y trans-2-nonenal.

Con todo esto, se puede concluir que, los compuestos capaces de migrar al alimento tienen una concentración tan baja que el espectrómetro de masas no es capaz de identificar. Sin embargo, el umbral de percepción es alto y permite identificarlos olfatométricamente. De tal forma que no se ve afectada la seguridad del alimento pero sí pueden verse alteradas sus propiedades organolépticas, por lo que sería conveniente seguir trabajando directamente con alimentos, ya que cada matriz de alimento es diferente.

6. Conclusions

The two techniques studied, CG-MS and CG-O-MS are complementary to generate information about the materials. It is possible to detect the presence of toxic substances that can migrate to the food and furthermore substances that can produce organoleptic changes in the food. Both results will determine if the material is suitable to use as cooking packaging, and if this use generates any health risk or organoleptic modification in the food.

The conclusions that were obtained through the identification of the compounds of the materials were:

- With the mass spectrometer it was determined that:
 - o Material 1 and 2 are packaging with a very similar composition. However, the compounds of Material 1, in general, have higher intensities.
 - o The type of heat treatment has influence the intensity of the compounds, Material 1 was treated with microwaves and presented much fewer compounds than the one treated with the oven and, those that were present, had lower intensities.
- With the olfactometric analysis it was determined that Material 1 treated with furnace is the one that had a greater number of odorant compounds with a high-modified frequency (> 45%). 20 were determined against 16 of Material 2 and 6 of Material 1 with microwaves.

During the migration tests it was discovered through olfactometric analysis that the compounds of Material 1 are capable of migrating to the food and are isoborneol, 1-octen-3-one and trans-2-nonenal.

The conclusion found that the capable compounds of migrating to the food have a concentration so low that the mass spectrometer is not able to identify them. However, the perception threshold is high and allows to identify them olfactometrically. In such a way that the safety of the food is not affected but its organoleptic properties can be altered, so it would be convenient to continue working directly with food, since each food matrix is different.

7. Aportaciones en materia de aprendizaje

Realizar este proyecto me ha hecho integrar todos los conocimientos que he ido adquiriendo a lo largo del grado en materia de química y análisis instrumental. Sobre todo he aprendido en materia de migraciones, cromatografías de gases, espectrometría de masas, olfatometría, ensayos de migración y de legislación relacionada. Además, destacar que me ha llamado mucho la atención cómo he identificado los compuestos de los Materiales, ya que no sólo lo he hecho a partir de un detector químico, sino también de uno sensorial, lo que ha hecho que el trabajo sea más dinámico e interesante.

Lo que más destaco de este proyecto es que me ha servido para ganar autonomía de trabajo tanto en el laboratorio, de buscar información, seleccionarla y redactarla, como a la hora de tratar datos para los resultados, lo cual considero que ha sido laborioso porque tenía muchas muestras y resultados, destacando cuando tuve que calcular todas las áreas de todos los picos de cada muestra.

Sin duda, lo más difícil ha sido enfrentarme a una materia que no se ha dado en gran medida a lo largo de mi grado. Sin embargo, con la ayuda de las personas del departamento que he estado y mi búsqueda de información, ha hecho que entienda todo del proyecto.

8. Bibliografía

ACEÑA, L. 2011. *Aplicación de la cromatografía de gases-olfatometría en la caracterización del aroma del vinagre de vino, de los pistachos y del aceite de oliva*. Facultad de Enología de Tarragona.

AZNAR, M., DOMEÑO, C., NERÍN, C. & 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, 85-92.

BASCÓN, M. D. C. 2016. *La Cromatografía de Gases-Olfatometría como herramienta en la evaluación del aroma de los alimentos*. Facultad de farmacia de Sevilla.

BERNSTEIN, I. L. 1999. *Taste aversion learning: a contemporary perspective*.

BHUNIA, K., SABLAMI, S. S., TANG, J. & RASCO, B. 2013. *Migration of Chemical Compounds from Packaging Polymers during Microwave, Conventional Heat Treatment, and Storage*.

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, 141-148.

CANELLAS, E., VERA, P. & NERÍN, C. 2015a. Risk assessment derived from migrants identified in several adhesives commonly used in food contact materials. *Food and Chemical Toxicology*, 75, 79-87.

CANELLAS, E., VERA, P. & NERÍN, C. 2015b. *UPLC-ESI-Q-TOF-MSE and GC-MS identification and quantification of non-intentionally added substances coming from biodegradable food packaging*.

CANELLAS, E., VERA, P. & NERÍN, C. 2016. Multiple headspace-solid phase microextraction for the determination of migrants coming from a self-stick label in fresh sausage. *Food Chemistry*, 197, 24-29.

CANELLAS, E., VERA, P. & NERÍN, C. 2017. Migration assessment and the ‘threshold of toxicological concern’ applied to the safe design of an acrylic adhesive for food-contact laminates. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34, 1721-1729.

CATALÁ, R. & GAVARA, R. 2002. *Migración de componentes y residuos de envases en contacto con los alimentos*, Valencia, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC.

DOMEÑO, C., AZNAR, M., NERÍN, C., ISELLA, F., FEDELI, M. & BOSETTI, O. 2017. Safety by design of printed multilayer materials intended for food packaging. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34, 1239-1250.

FERREIRA, V., PET’KA, J., AZNAR, M. & CACHO, J. 2003. Quantitative gas chromatography–olfactometry. Analytical characteristics of a panel of judges using a simple quantitative scale as gas chromatography detector. *Journal of Chromatography A*, 1002, 169-178.

GALOTTO, M. J., VALENZUELA, X. & GUARDA, A. 2008. *Inocuidad de los envases plásticos destinados al envasado de alimentos*. Universidad de Santiago de Chile.

IGLESIAS, R. B., LORÁN, F. F., HERNANDO, E. M. & RIPOLL, M. Á. R. 2009. *Los platos preparados en la Comunidad de Madrid*

JOVANI, R. 2014. *Nuevos envases para la industria alimentaria* [En línea]. Disponible en: <http://www.packaging.enfasis.com/articulos/69695-nuevos-envases-la-industria-alimentaria> [Acceso 5 de mayo 2018].

MUNCKE, J. 2013. *Migración* [En línea]. Disponible en: <https://www.foodpackagingforum.org/es/ensado-de-alimentos-y-salud/migracion> [Acceso 10 de mayo 2018].

NAVIA, D., AYALA, A. & VILLADA, H. 2014. Interacciones empaque-alimento: migración. *Revista Ingenierías* 13, 100-113.

NERIN, C., ALFARO, P., AZNAR, M. & DOMÉÑO, C. 2013. The challenge of identifying non-intentionally added substances from food packaging materials: A review. *Analytica Chimica Acta*, 775, 14-24.

NERIN, C., SILVA, F., MANSO, S. & BECERRIL, R. 2016. Chapter 6 - The Downside of Antimicrobial Packaging: Migration of Packaging Elements into Food A2 - Barros-Velázquez, Jorge. *Antimicrobial Food Packaging*. San Diego: Academic Press.

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

VERA, P., CANELLAS, E. & NERÍN, C. 2014. Migration of odorous compounds from adhesives used in market samples of food packaging materials by chromatography olfactometry and mass spectrometry (GC–O–MS). *Food Chemistry*, 145, 237-244.

WRONA, M., VERA, P., PEZO, D. & NERÍN, C. 2017. Identification and quantification of odours from oxobiodegradable polyethylene oxidised under a free radical flow by headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography-olfactometry-mass spectrometry. *Talanta*, 172, 37-44.