



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Ciencia y Tecnología de los alimentos

Estudios de migración en biomateriales para su uso a alta temperatura en
contacto con alimentos

Migration studies in biomaterials for use in high temperature food contact

Autor/es

Sofía Nieves Calvo

Director/es

Esther Asensio Casas

Facultad de Veterinaria

2020

Índice

Resumen/Abstract	3
1. Introducción	5
2. Justificación y objetivos.....	9
3. Metodología	11
3.1. Descripción de las muestras.....	11
3.2. Ensayos de migración.....	11
3.3. Optimización del análisis mediante SPME-GC-MS	12
3.3.1. Extracción del Tenax®	12
3.3.2. Condiciones del análisis SPME-GC-MS	13
4. Resultados y discusión	15
4.1. Resultados de la optimización del análisis SPME-GC-MS.....	15
4.2. Análisis de los resultados obtenidos para el plato de bambú.....	16
4.2.1. Compuestos de interés que migran de los platos de bambú.....	22
4.3. Análisis de los resultados obtenidos para el plato de hoja de palma	23
4.3.1. Compuestos de interés que migran de los platos de bambú.....	28
4.4. Análisis de los resultados obtenidos para el plato de pulpa de trigo	29
4.4.1. Compuestos de interés que migran de los platos de pulpa de trigo	33
5. Conclusiones/Conclusions.....	35
Aportaciones en materia de aprendizaje.....	37
Bibliografía	39

Resumen

En este Trabajo Fin de Grado se han identificado los compuestos volátiles provenientes de ensayos de migración, realizados con platos fabricados con tres tipos de biomateriales: bambú, hoja de palma y pulpa de trigo. Los ensayos de migración se han realizado utilizando como simulante alimentario sólido Tenax® y calentando en horno a 170°C durante 1 hora, tal y como corresponde, a materiales que van a estar en contacto con alimentos con calentamiento en horno/microondas hasta los 170°C.

Para el análisis de los compuestos volátiles que migran desde el envase al simulante, se ha trabajado con microextracción en fase sólida (SPME-GC-MS). Para la identificación de un mayor número de compuestos provenientes de la migración, se ha visto que es necesario utilizar dos tipos de fibras SPME, roja y gris.

Al analizar los extractos tras los ensayos de migración en contacto con las dos caras de los platos, interior y exterior, se ha visto que presentan diferencias en el número y la cantidad de compuestos identificados, por lo que se considera que es necesario llevar a cabo ensayos de migración por ambas caras de los platos.

La identificación de los compuestos volátiles que migran muestra compuestos ya identificados en los pocos trabajos previos realizados para la evaluación de estos biomateriales en contacto con alimentos, así como otros compuestos no identificados hasta la fecha. La presencia de compuestos volátiles (aldehídos, alcanos y alquenos) en los extractos de migración estudiados proviene, principalmente, de la propia matriz vegetal de los biomateriales, así como de los tratamientos físico/químicos aplicados a los biomateriales durante su manufactura, junto con la adición de aditivos, emolientes, lubricantes, etc. que facilitan dicho proceso. Es necesario continuar este trabajo llevando a cabo la cuantificación de los compuestos de interés que presentan restricciones, para asegurar que este tipo de biomateriales resultan seguros para el consumidor desde el punto de vista del contacto alimentario.

Abstract

In this Final Degree Project, volatile compounds from migration tests have been identified, which were carried out with dishes made with three types of biomaterials: bamboo, palm leaf and wheat pulp. Migration tests have been executed using Tenax® as a solid food simulant and heating in an oven at 170°C for 1 hour, as it corresponds, to materials that are going to be in contact with food that is supposed to be heated in the oven / microwave up to 170°C.

In order to perform the analysis and identification of the volatile compounds that have migrated from the container to the simulant, solid phase microextraction (SPME-GC-MS) has been used. So as to cover the largest number of compounds identified from migration, it has been seen that it is necessary to carry out the analyzes with two types of SPME fibers, red fiber and gray fiber.

When analyzing the extracts after the migration tests in contact with the two faces of the plates, inside and outside, it has been seen that they present differences in the number and quantity of identified compounds, so it is considered that it is necessary to perform migration trials for both faces of the dishes.

The identification of the volatile compounds shows that some of them have already been identified in few previous studies that were carried out for the evaluation of these biomaterials in contact with food, while other compounds had not been found yet. The presence of volatile compounds (aldehydes, alkanes and alkenes) in the migration extracts comes mainly from the plant matrix of the biomaterials as well as from the physical / chemical treatments applied to the biomaterials during their manufacture in order to transform them into dishes, together with the addition of additives, emollients, lubricants, etc. that facilitate this process. It is necessary to continue this study by accomplishing the quantification of the most relevant compounds that present restrictions, so as to ensure that this type of biomaterials, from the point of view of food contact, are safe for the consumer.

1. Introducción

1.1. El envase alimentario

El envase es un elemento fundamental e indispensable en la producción y consumo de alimentos. Sus principales funciones incluyen la protección frente al deterioro causado por factores físico-químicos y microbiológicos, el mantenimiento de sus propiedades organolépticas; y, en determinadas ocasiones, permite el consumo directo del alimento a temperatura ambiente o en caliente. No obstante, la migración de sustancias desde el material de envase hacia el alimento podría tener un impacto negativo en la seguridad del producto (Kemmer & Schmid, 2017).

La migración se describe como un proceso de difusión influenciado por la interacción de los componentes del alimento, con el material que se encuentra en contacto con ellos. Esta interacción depende fundamentalmente de las propiedades del material. En la Unión Europea, la migración de materiales a alimentos supone tanto un problema de salud como legal (Arvanitoyannis & Bosnea, 2010). Los requerimientos que deben cumplir los materiales destinados a contacto con alimentos se encuentran recogidos en el Reglamento (CE) Nº 10/2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos, y en su posterior modificación, Reglamento (CE) Nº 2016/1416.

Hoy en día, los materiales plásticos son los que se emplean más habitualmente para la fabricación de envases y embalajes de alimentos. Su estructura se basa en un conjunto de monómeros que reaccionan entre sí dando lugar al polímero correspondiente. Los monómeros que no completan la reacción o lo hacen parcialmente suponen un riesgo potencial para la salud del consumidor debido a su migración hacia los productos alimenticios. Asimismo, en la producción de los plásticos intervienen diferentes aditivos (colorantes, solventes, adhesivos, tintas de impresión etc.) que pueden presentar impurezas denominadas *sustancias agregadas no intencionadamente* (Non-Intentionally Added Substances, NIAS), y también constituyen agentes de peligro por migración (Kemmer & Schmid, 2017).

Estos compuestos provenientes del plástico poseen propiedades potencialmente tóxicas que se han asociado mediante estudios epidemiológicos a desórdenes en el sistema inmunológico y reproductor; anormalidades en las funciones de la glándula tiroides y pituitaria; afecciones neurológicas, y a un incremento en la incidencia de varios tipos de cáncer (Khajavi *et al.*, 2019).

Otra importante problemática que caracteriza al uso de envases plásticos es el impacto medioambiental que generan. Actualmente, el 80% de la contaminación de los océanos se debe a la presencia de residuos plásticos y se estima que cada año la cantidad vertida es de un valor medio de 8 millones de toneladas. Los microplásticos, partículas de tamaño inferior a 5 mm, se han detectado tanto en el tracto gastrointestinal como en los tejidos de numerosas especies marinas de todos los niveles de la cadena trófica (Bonnano & Orlando-Bonaca, 2020).

Por todo ello, en la actualidad están surgiendo multitud de alternativas biodegradables y sostenibles frente al uso de materiales plásticos en contacto con alimentos. Una de estas alternativas es el uso de envases para alimentos, concretamente de platos, obtenidos a partir de fibras naturales de origen vegetal: madera, pulpa de trigo, bambú u hoja de palma, entre otros; y que se denominan **biomateriales**. Presentan numerosas ventajas, destacando su disponibilidad alrededor de todo el mundo a un precio asequible y su biodegradabilidad. Otros beneficios que se han descrito incluyen su baja densidad, dando lugar a envases más ligeros, su elevada rigidez y el menor impacto que suponen sobre la salud de los operarios que intervienen en su fabricación (Berthet *et al.*, 2015).

1.2. Biomateriales

Uno de los biomateriales que más importancia tiene en el mercado actual, es el fabricado con fibras de **bambú**. Esta planta crece en zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo y está sustituyendo progresivamente a la madera, ya que muchos países, especialmente en África, no tienen la capacidad suficiente para producirla; además, el tiempo de cultivo del bambú es mucho menor en comparación con la madera. Otra ventaja que presenta esta planta es su papel como sumidero de carbono, secuestrando el dióxido de carbono de la atmósfera y reduciendo su concentración del aire. Sus aplicaciones abarcan desde la fabricación de suelos y techos hasta la obtención de telas y papel (Okokpujie *et al.*, 2020). Los envases de bambú destacan por sus propiedades mecánicas, entre las que se incluye su elevada resistencia ante el impacto, su larga durabilidad y su flexibilidad (Xie *et al.*, 2019).

Otro biomaterial que se encuentra disponible en el mercado es el constituido por **pulpa de trigo**. Se ha descrito que los residuos lignocelulósicos de los cultivos de trigo se incluyen en una de las principales fuentes de biomasa renovable producidas a nivel global, puesto que es uno de los cereales más cultivados en el planeta, con una producción anual de 2,5 millones de toneladas. España produjo en torno a 5-6 millones de toneladas en 2015, situándose en el puesto 21 del mundo. Los residuos de estos cultivos suelen enterrarse o incinerarse, generando contaminación y riesgo de incendios; pero también pueden

aprovecharse para la obtención de biomateriales de gran potencial destinados a la construcción, envasado o desarrollo de dispositivos optoelectrónicos. Estos nuevos campos de aplicación son una excelente manera de revalorizar los subproductos de la industria agrícola del trigo (Sánchez *et al.*, 2016).

Un fenómeno similar ocurre con las **hojas de palma**, consideradas como un residuo de las plantaciones del árbol de la palma cuya eliminación supone un problema medioambiental en países como China. Se ha descrito que las fibras vegetales de diferentes partes de este árbol pueden ser aprovechadas en forma de biomateriales gracias a sus propiedades físicas y mecánicas; y aplicadas como material de refuerzo de polímeros de polipropileno o como material sustituto de la madera (Xu *et al.*, 2015).

De igual manera que los envases plásticos y cualquier otro material de envasado destinado al contacto con alimentos, estos nuevos biomateriales deben ser evaluados para garantizar la seguridad alimentaria. Los biomateriales podrían contener resinas, aditivos y otras NIAS que podrían migrar hacia los alimentos (Osorio *et al.*, 2020) poniendo en riesgo la salud del consumidor. Al tratarse de materiales muy novedosos en el mercado, no se encuentran contemplados de manera específica en la legislación, pero el Reglamento (CE) Nº 1935/2004 sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos se aplica sobre cualquier material destinado al contacto con alimentos.

Para identificar los compuestos provenientes de la migración, y dar paso a su correspondiente cuantificación posteriormente, se deben llevar a cabo ensayos de migración cuyas condiciones dependen del tipo de compuestos que se quieran analizar y del uso intencionado del material, tal y como fija el Reglamento (CE) Nº 10/2011. Asensio, Montañés & Nerín (2020) llevaron a cabo la identificación y cuantificación de compuestos volátiles provenientes de la migración de dos tipos diferentes de envases fabricados con biomateriales (platos de pulpa de trigo y de madera) para su uso a temperatura ambiente con alimentos calientes. Sin embargo, es importante señalar que algunos platos fabricados con biomateriales pueden utilizar a altas temperaturas (horno o microondas hasta los 170°C), por lo que resulta necesario complementar los estudios previos con ensayos de migración que alcancen los 170°C.

2. Justificación y objetivos

Este trabajo fin de grado surge como respuesta ante la escasez de estudios de migración en estos nuevos biomateriales destinados al contacto con alimentos y que se encuentran ya disponibles en el mercado en distintos formatos para su uso por parte de los consumidores, y que prometen sustituir progresivamente al uso de materiales plásticos. En concreto, este trabajo es la continuación a un trabajo de investigación comenzado el curso pasado (Asensio, Montañés & Nerín, 2020) en el cual se estudiaron dos tipos platos fabricados con biomateriales (madera y pulpa de trigo) en otras condiciones de ensayo debido a sus características y uso al que estaban destinados.

El **objetivo principal** de este TFG ha sido llevar a cabo estudios de migración a alta temperatura para una serie de platos de pulpa de trigo, bambú y hoja de palma. Para alcanzar dicho objetivo, se desarrollaron los siguientes objetivos específicos:

- Realizar ensayos de migración específica con simulante sólido (Tenax®) para alta temperatura.
- Optimización de las condiciones más óptimas para la identificación de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a cromatografía de gases (GC-MS), mediante la utilización de diferentes tipos de fibras SPME.
- Identificación de los compuestos volátiles migrantes mediante SPME-GC-MS en las condiciones óptimas para los tres tipos de platos seleccionados.
- Análisis de los resultados obtenidos y evaluación de la migración específica proveniente de la utilización de los platos a alta temperatura.

3. Metodología

3.1. Descripción de las muestras

Para llevar a cabo este estudio se han empleado muestras de platos de bambú, pulpa de trigo y hoja de palma (Figura 1) que se compraron a un proveedor español y que se encuentran disponibles en el mercado, estando todos ellos destinados a su uso en servicios de catering. Están preparados para estar en contacto directo con alimentos calientes y, en concreto, estos tres tipos de platos permiten calentar la comida en horno/microondas hasta los 170°C, es decir, a altas temperaturas.



Figura 1. Platos de bambú, pulpa de trigo y hoja de palma (Monouso, 2020).

3.2. Ensayos de migración

De acuerdo con el Anexo III del Reglamento (UE) Nº 10/2011, dadas las condiciones de uso de este tipo de platos (hasta 170°C) el simulante que se propone para llevar a cabo los ensayos de migración (Figura 2) es el que corresponde a alimentos secos, llamado simulante alimentario E, conocido como Tenax®, y que es poli (óxido de 2,6-difenil-p-fenileno).

Simulante alimentario	Abreviatura
Etanol 10 % (v/v)	Simulante alimentario A
Ácido acético 3 % (w/v)	Simulante alimentario B
Etanol 20 % (v/v)	Simulante alimentario C
Etanol 50 % (v/v)	Simulante alimentario D1
Aceite vegetal (*)	Simulante alimentario D2
poli(óxido de 2,6-difenil-p-fenileno), tamaño de partícula 60-80 malla, tamaño de poro 200 nm	Simulante alimentario E

Figura 2. Lista de simulantes alimentarios del Reglamento (UE) Nº 10/2011.

Antes de su utilización en los ensayos de migración, el Tenax® se debe limpiar previamente en un Soxhlet con acetona durante 6 h tal y como describe la norma UNE-EN 14338. Además, siguiendo esta misma norma, se calculó la cantidad de simulante E (g) que hay que utilizar en cada ensayo en base a la superficie de contacto (dm^2), debiéndose mantener una relación de 4 g Tenax®/ dm^2 . Se ha descrito que para llevar a cabo los ensayos de

migración manteniendo dicha relación (Kleebauer, Harling & Schneider, 2018), lo más representativo, es cortar tiras de material de un tamaño 1 x 4 cm y cubrirlas con la cantidad correspondiente de Tenax® necesaria para llevar a cabo el ensayo de migración.

Por todo ello, se cortaron tiras de 1 x 4 cm (Figura 3a) de cada uno de los tres tipos de platos. Para llevar a cabo los ensayos de migración se dispusieron sobre placas Petri de vidrio y, a su vez, sobre una circunferencia de papel de aluminio en forma de bandeja para manejar el simulante con más facilidad (Figuras 3b y 3c). Manteniendo la relación fijada en la norma, para 4 cm² de superficie, se utilizaron 0,16 g de Tenax®. En la balanza analítica se pesaron tanto las tiras de material como el Tenax® añadido. En cada ensayo se estudiaron un total de seis muestras incluyendo, dos tiras de cada material (cara interior y cara exterior del plato en contacto con el simulante) y un blanco de Tenax®.

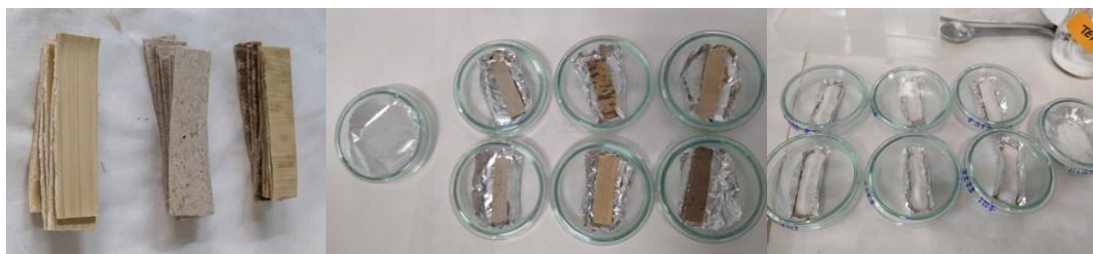


Figura 3a) tiras debambú, pulpa de trigo y hoja de palma; 3b) tiras de biomaterial sobre placas Petri y 3c) tiras con el Tenax® antes de ensayo de migración.

Una vez preparadas las muestras, estas se cubrieron con las tapas de vidrio de las placas de Petri. De acuerdo con el capítulo 2.1.3 del Reglamento (UE) Nº 10/2011, se seleccionaron como condiciones de tiempo y temperatura para llevar a cabo los ensayos de migración, aquellas consideradas como el peor de los casos: 175°C durante 1 hora, condiciones representativas del calentamiento que sufren los alimentos al meterlos dentro de este tipo de platos en horno/microondas.

3.3. Optimización del análisis mediante SPME-GC-MS

Para la optimización de las condiciones de análisis de los extractos mediante SPME-GC-MS, lo primero que se llevó a cabo fue la extracción del Tenax®, para poder posteriormente ser analizado. Para ello, se aplicó el procedimiento que se describe en el siguiente apartado.

3.3.1. Extracción del Tenax®

La extracción de los compuestos volátiles que el Tenax® retiene durante los ensayos de migración, para su posterior análisis mediante SPME-GC-MS, se llevó a cabo con etanol (EtOH). Una vez terminado el ensayo de migración, las placas Petri con las tiras de material en

contacto con el simulante se sacaron del horno, se dejaron atemperar durante unos minutos y, a continuación, se trasvasó el Tenax® a viales de centrifuga de 10 mL. De acuerdo a lo publicado por Aznar *et al.*, (2016) las muestras de Tenax® se extrajeron dos veces consecutivas con fracciones de 2,5 g y 2 g de etanol (EtOH), controlados gravimétricamente.

Sobre el vial que contiene el Tenax® se adicionan 2,5 g de EtOH pesados en balanza analítica y la extracción se lleva a cabo en un baño de ultrasonidos durante 1 hora (Figura 4a), para seguidamente centrifugar durante 10 minutos (Figura 4b), con el objetivo de separar el Tenax® del extracto de etanol. Este primer extracto se recoge y trasvasa a viales de 20 mL. Sobre el Tenax® que queda en el vial se adiciona, igualmente por pesada, la cantidad de EtOH (2 g) correspondiente a la segunda extracción y se opera de la misma manera. Finalmente, los dos extractos de EtOH se juntan en el vial de 20 mL (Figura 4c), obteniendo el extracto final sobre el que posteriormente se determinarán los compuestos volátiles que han migrado desde el envase.



Figura 4a) viales con el Tenax® en el baño de ultrasonidos; 4b) centrifuga y 4c) viales de 20 mL donde se recogen los dos extractos etanólicos.

Para el posterior análisis mediante SPME-GC-MS, los extractos no deben superar el 50% de EtOH, de hecho, cuanto menor es el % de EtOH, mejor funciona la fibra SPME con la que se trabaja. Según estudios anteriores llevados a cabo por Asensio, Montañés & Nerín (2020), se obtienen mejores resultados si el % de EtOH no supera el 20-25%. Por ello, lo que se hizo fue diluir el extracto recogido en el vial de 20 mL con agua destilada hasta obtener un porcentaje de EtOH del orden del 20%. Con el objetivo de controlar el % de EtOH en todos los ensayos y ser reproducibles, para cada análisis se tomaron 2,5 g de extracto etanólico y se le adicionaron 12 g de agua destilada.

3.3.2. Condiciones del análisis SPME-GC-MS

Para llevar a cabo el análisis de los extractos mediante SPME-GC-MS se seleccionaron dos tipos de fibras SPME, con el objetivo de detectar el mayor rango de compuestos volátiles posible: fibra ROJA (polydimethylsyloxane (PDMS)) para analitos volátiles con características

apolares; y fibra GRIS (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsyloxane(DVB/CAR/PDMS)) adecuada para analitos volátiles con polaridad intermedia.

Las condiciones para el análisis SPME-GC-MS fueron:

- Módulo SPME (CTC Analytics CombiPal autosampler): fibra SPME (gris y roja), agitación a 500 rpm, tiempo de incubación 2 min, temperatura 80°C, tiempo de extracción 20 min y tiempo de desorción 2 min. A todas las muestras antes de su análisis se les adiciona aproximadamente 2 g de NaCl.
- Cromatógrafo GC-MS (Agilent 6809N) con detector de espectrometría de masas MS 5975B): columna capilar HP-5 (Agilent Technologies, Madrid, Spain), programa del horno: 50°C durante 5 min, rampa de 10°C/min hasta los 300°C, y mantener 5 min. Adquisición en modo SCAN ($m/z = 50-800$). La identificación de los compuestos volátiles se llevó a cabo utilizando la biblioteca de espectros presente en el software del equipo (NIST Chemistry WebBook).

4. Resultados y discusión

4.1. Resultados de la optimización del análisis SPME-GC-MS

Los resultados obtenidos de la optimización del análisis de los extractos etanólicos de los ensayos de migración, para los tres tipos de platos, se muestran de manera gráfica (cromatogramas) en las Figuras 5 y 6. Los extractos se analizaron mediante SPME-GC-MS utilizando las dos fibras SPME propuestas (roja y gris). En cada una de las figuras se comparan los perfiles cromatográficos obtenidos para cada uno de los tres tipos de platos, con cada una de las fibras utilizadas. En ambas figuras los cromatogramas se muestran en la misma escala, para observar si existen diferencias entre los resultados obtenidos.

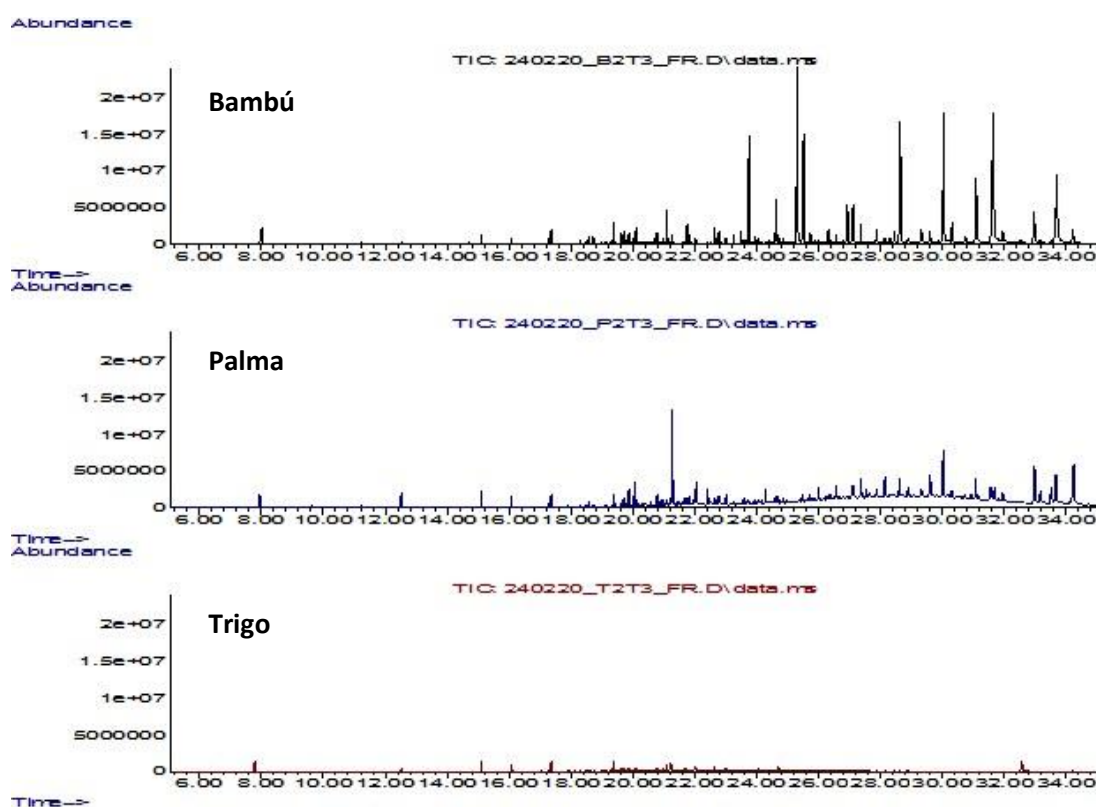


Figura 5. Comparación perfiles cromatográficos obtenidos con la fibra ROJA para los tres tipos de platos.

En la Figura 5, análisis con fibra ROJA, se puede observar que los perfiles cromatográficos obtenidos para cada uno de los tres tipos de platos presentan diferencias; en primer lugar, en la cantidad de sustancias volátiles que han migrado, siendo el plato de pulpa de trigo el que presenta compuestos en muy baja concentración frente a los otros dos tipos de platos, hoja de palma y bambú. En segundo lugar, se puede observar que existen diferencias en el perfil cromatográfico (número de picos cromatográficos obtenidos), lo que pone de manifiesto que migran compuestos diferentes según el tipo de plato analizado.

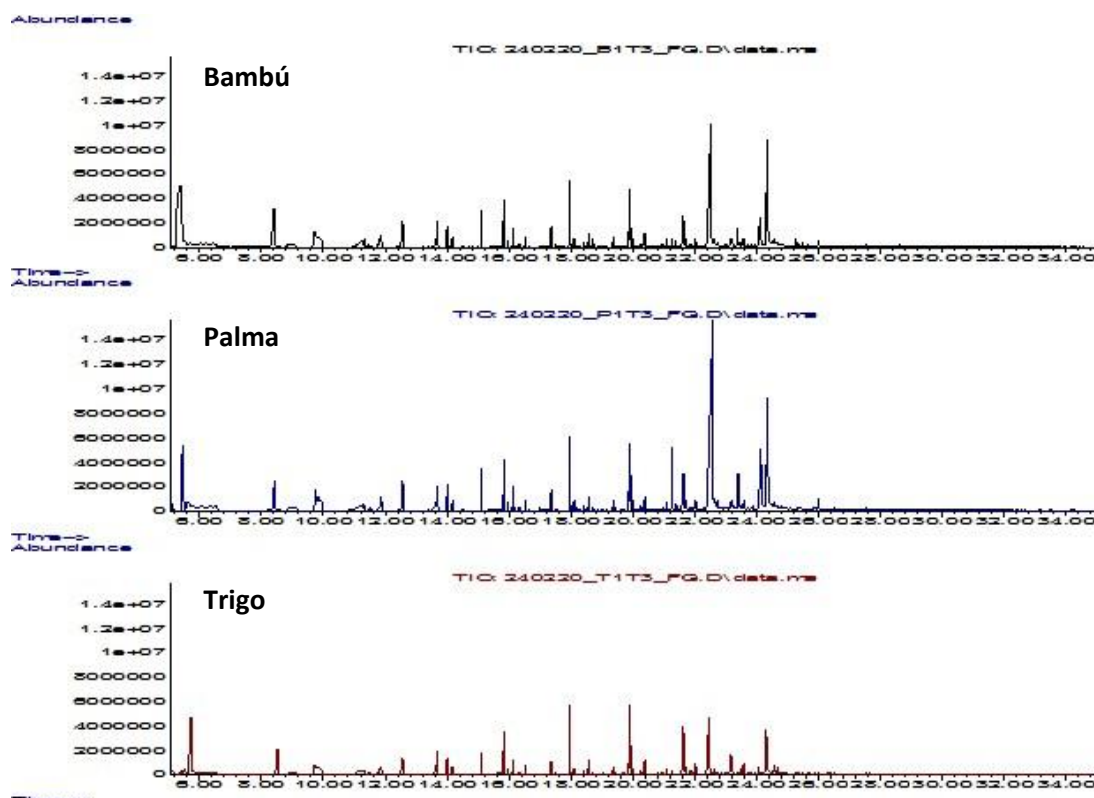


Figura 6. Comparación perfiles cromatográficos obtenidos con la fibra GRIS para los tres tipos de platos.

En el caso de la fibra GRIS (Figura 6), se puede observar que los cromatogramas obtenidos son más similares en su perfil cromatográfico, pero al igual que en el caso de la fibra roja, el plato de trigo es el que presenta menor migración de compuestos volátiles.

Dado que se observó la presencia de compuestos volátiles diferentes para los distintos tipos de platos, así como según el tipo de fibra utilizada, se decidió analizar los extractos de migración de los tres tipos de platos con las dos fibras (roja y gris) con el objetivo de cubrir la mayor identificación de compuestos volátiles provenientes de la migración. Además, los análisis de las muestras de platos se llevaron a cabo por ambas caras, la interior (en contacto con los alimentos) y la exterior; con objeto de ver si existen diferencias. A continuación, se van a ir mostrando los resultados obtenidos para cada uno de los tres tipos de platos estudiados.

4.2. Análisis de los resultados obtenidos para el plato de bambú

En la Tablas 1 y 2 se muestran los resultados obtenidos de la identificación de los compuestos volátiles en los platos de bambú, analizados mediante SPME-GC-MS utilizando fibra roja y fibra gris, respectivamente, diferenciando entre la cara interior y la cara exterior del plato. En dichas tablas se muestran, además, los usos de algunos de los compuestos y si se presentan alguna de las siguientes restricciones: límite de migración específica (LME) de acuerdo con el Reglamento (UE) Nº 10/2011; valores NOAEL (Nivel Sin Efecto Adverso

Observable); o bien si se encuentran clasificados de acuerdo a las Reglas Cramer de toxicidad (Toxtree v3.1.0.1851). Este último sistema divide los compuestos en tres grupos en función de su límite de ingesta diaria admisible: TTC I ($30 \mu\text{g/kg-d}$), TTC II ($9 \mu\text{g/kg-d}$) y TTC III ($1,5 \mu\text{g/kg-d}$). Se entiende que cuanto menor es el límite, mayor es la toxicidad del compuesto siendo la clase III la más perjudicial.

Señalar que el primer criterio que se utiliza para buscar las restricciones de cada compuesto identificado es el LME según el Reglamento (UE) N° 10/2011. Si no se encuentra contemplado, se comprueba si posee NOAEL y, finalmente, se recurre a la clasificación Cramer. Además, si el compuesto no aparece en el Reglamento (UE) N° 10/2011, el límite de migración de cada compuesto está establecido en $10 \mu\text{g/kg}$.

Para poder evaluar, desde un punto de vista general, los resultados que se muestran en las Tablas 1 y 2 se han representado de manera gráfica, diferenciando y comparando según la fibra SPME utilizada (roja o gris) y la cara del plato sometida al ensayo de migración (interior o exterior). Las Figuras 7 y 8 muestran la comparación entre la utilización de la fibra roja y la fibra gris para los ensayos llevados a cabo por las dos caras del plato de bambú. Señalar que en las gráficas se muestra de manera acumulada en barras las áreas obtenidas de cada compuesto según la cara ensayada.

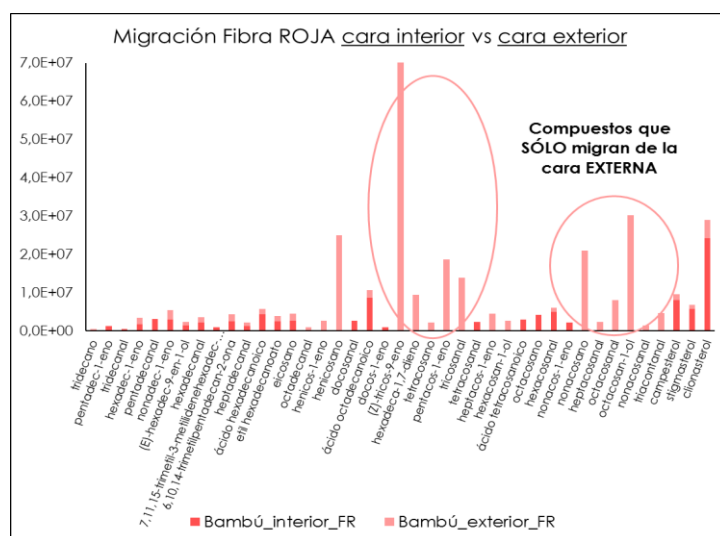


Figura 7. Resultados obtenidos con fibra SPME roja en las dos caras del plato de bambú.

En la Figura 7 se puede observar que se identifican mayor número de compuestos volátiles cuando el ensayo de migración es por la cara externa; si bien para los compuestos identificados en ambas caras el área obtenida en la cara interior es mayor que la de cara exterior del plato de bambú.

Tabla 1. Resultados análisis plato de bambú mediante SPME-GC-MS con **fibra ROJA**. Comparación de los compuestos identificados para ambas caras del plato (interior y exterior)

tr	CAS	compuestos	Bambú INTERIOR	Bambú EXTERIOR	Restricciones	Usos/Propiedades
13,21	112-40-3	dodecano		X	TTC I	<i>Solvente y lubricante</i>
14,59	2437-56-1	tridec-1-eno		X	TTC I	<i>Fragancia y estabilizante calor</i>
14,70	629-50-5	tridecano	X	X	TTC I	<i>Solvente y tratamiento superficial</i>
15,77	3891-98-3	2,6,10-trimetildodecano	X		1000 mg/kg-d⁽¹⁾	
16,19	112-54-9	dodecanal	X	X	TTC I	<i>Contacto alimentario</i>
17,26	13360-61-7	pentadec-1-eno	X	X	TTC I	
17,49	10486-19-8	tridecanal	X		TTC I	<i>Aditivo alimentario</i>
19,60	629-73-2	hexadec-1-eno	X	X	TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
19,85	2765-11-9	pentadecanal	X		TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
20,04	18435-45-5	nonadec-1-ene	X		TTC I	
20,69	64437-47-4	(E)-hexadec-9-en-1-ol	X	X	TTC I	
20,95	629-80-1	hexadecanal	X	X	TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,19	504-96-1	7,11,15-trimetil-3-metilidenehexadec-1-eno	X		TTC I	
21,25	502-69-2	6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	X	X	TTC II	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,87	NIST131119	5-nonadecen-1-ol	X		TTC I	
21,99	629-90-3	heptadecanal	X	X	TTC I	
22,40	57-10-3	ácido hexadecanoico	X	X	< 60 mg/kg⁽²⁾	<i>Contacto alimentario</i>
22,72	628-97-7	etil hexadecanoato	X	X	TTC I	<i>Aditivo alimentario</i>
22,78	112-95-8	eicosano	X	X	1000 mg/kg-d⁽¹⁾	<i>Contacto alimentario. Aditivo indirecto</i>
22,99	638-66-4	octadecanal		X	TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
23,49	1599-68-4	henicos-1-eno		X	TTC I	
23,76	629-94-7	henicosano		X	TTC I	
23,95	72934-04-4	nonacosanal			TTC I	
24,31	57-11-4	ácido octadecanoico	X	X	< 60 mg/kg⁽²⁾	<i>Contacto alimentos/manufactura papel</i>
24,40	1599-67-3	docos-1-eno	X		TTC I	<i>Lubricante</i>
24,57	111-61-5	etil octadecanoato (metil estearato)	X	X	TTC I	<i>Antioxidante</i>
24,64	629-97-0	docosano		X	TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
24,85	2400-66-0	icosanal		X	TTC I	
25,34	27519-02-4	(Z)-tricos-9-eno		X	TTC I	<i>Residuo de pesticidas</i>
25,54	638-67-5	tricosano		X	TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>

25,65	125110-62-5	hexadeca-1,7-dieno		X	TTC I	
26,03	-	compuesto m/z=67/82/96/320		X	-	
26,97	16980-85-1	pentacos-1-eno		X	TTC I	
26,94	NIST131094	(Z)-pentacos-12-eno		X	TTC I	
27,14	16980-85-1	pentacosano	X	X	TTC I	COVs/componente natural plantas
27,37	59426-46-9	3-dodecylfuran-2,5-diona		X	TTC III	Antimicrobiano
27,41	-	compuesto m/z= 237/167/153/223	X		-	
28,13	57866-08-7	tetracosanal	X		TTC I	
28,40	2433-96-7	ácido tricosanoico		X	TTC I	
28,46	15306-27-1	heptacos-1-eno		X	TTC I	
28,65	593-49-7	heptacosano		X	TTC I	Componente natural plantas
28,89	506-52-5	hexacosan-1-ol	X	X	TTC I	
29,12	557-59-5	ácido tetracosanoico	X		< 60 mg/kg ⁽²⁾	Componente natural plantas
29,32	630-02-4	octacosano	X		TTC I	
29,60	26627-85-0	hexacosanal	X	X	TTC I	
29,87	18835-35-3	nonacos-1-eno	X		TTC I	
30,04	630-03-5	nonacosano		X	TTC I	COVs/componente natural plantas
30,31	72934-03-3	heptacosanal		X	TTC I	Antimicrobiano
30,75	NIST 351816	heptacosil 2,2,3,3,3-pentafluoropropanoato		X	TTC III	
31,08	22725-64-0	octacosanal		X	TTC I	
31,64	557-61-9	octacosan-1-ol		X	TTC I	
32,98	22725-63-9	triacontanal		X	TTC I	
33,17	474-62-4	campesterol	X	X	TTC III	Clase: esteroides lipídicos
33,53	83-48-7	stigmasterol	X	X	TTC II	Clase: esteroides lipídicos
33,69	41755-58-2	triacontil acetato		X	TTC I	
34,26	83-47-6	clionasterol	X	X	TTC III	Clase: esteroides lipídicos

⁽¹⁾ valor de NOAEL y ⁽²⁾ valor de límite de migración específica (LME) según Reglamento (UE) Nº 10/2011

Tabla 2. Resultados análisis plato de bambú mediante SPME-GC-MS con **fibra GRIS**. Comparación de los compuestos identificados para ambas caras del plato (interior y exterior)

tr	CAS	compuestos	Bambú INTERIOR	Bambú EXTERIOR	Restricciones	Usos/Propiedades
14,59	2437-56-1	tridec-1-eno		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
17,25	13360-61-7	pentadec-1-eno	X		TTC I	
18,71	124-25-4	tetradecanal	X	X	TTC I	
19,61	64437-47-4	(E)-hexadec-9-en-1-ol		X	TTC I	
19,62	36653-82-4	hexadecan-1-ol	X	X	1000 mg/kg-d⁽¹⁾	<i>Emoliente/Agente lubricante</i>
20,05	14237-73-1	(E,7R,11R)-3,7,11,15-tetrametilhexadec-1-eno	X	X	TTC I	
20,96	629-80-1	hexadecanal	X		TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,19	504-96-1	7,11,15-trimetil-3-metilidenehexadec-1-eno	X	X	TTC I	
21,25	502-69-2	6,10,14-trimetilpentadec-1-eno	X	X	TTC II	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,80	629-92-5	nonadecano	X		TTC I	
22,38	57-10-3	ácido hexadecanoico	X	X	< 60 mg/kg⁽²⁾	<i>Contacto alimentario</i>
22,72	628-97-7	etil hexadecanoato	X	X	TTC I	
22,78	112-95-8	eicosano		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
23,49	1599-68-4	henicos-1-eno		X	TTC I	
23,73	629-94-7	henicosano		X	TTC I	
24,28	57-11-4	ácido octadecanoico		X	< 60 mg/kg⁽²⁾	<i>Contacto alimentos/manufactura papel</i>
24,57	111-61-5	etil octadecanoato		X	TTC I	<i>Antioxidante</i>
25,31	27519-02-4	(Z)-tricos-9-eno	X		TTC I	<i>Pesticida agroquímico</i>
26,31	646-31-1	tetracosano	X	X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
26,92	16980-85-1	pentacos-1-eno	X	X	TTC I	
27,10	16980-85-1	pentacosano	X	X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
27,36	72934-02-2	tricosanal	X	X	TTC I	<i>Antimicrobiano</i>
28,44	15306-27-1	heptacos-1-eno	X		TTC I	
28,72	593-49-7	heptacosano		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
28,87	58196-28-4	pentacosanal	X		TTC I	
29,11	557-59-5	ácido tetracosanoico		X	< 60 mg/kg⁽²⁾	<i>Componente natural plantas</i>
29,31	630-02-4	octacosano	X		TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
29,59	26627-85-0	hexacosanal		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
30,05	630-03-5	nonacosano		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
30,29	72934-03-3	heptacosanal		X	TTC I	<i>Antimicrobiano</i>

30,74	2004-39-9	heptacosan-1-ol		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
31,06	22725-64-0	octacosanal	X	X	TTC I	
31,61	557-61-9	octacosan-1-ol		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
32,46	544-85-4	dotriacontano	X		TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
32,94	22725-63-9	triacontanal			TTC I	
33,14	474-62-4	campesterol		X	TTC III	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>
33,51	83-48-7	stigmasterol		X	TTC II	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>
34,21	83-47-6	clionasterol		X	TTC III	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>
34,78	7098-22-8	tetratriacontano	X		TTC I	

⁽¹⁾ valor de NOAEL y ⁽²⁾ valor de límite de migración específica (LME) según Reglamento (UE) Nº 10/2011

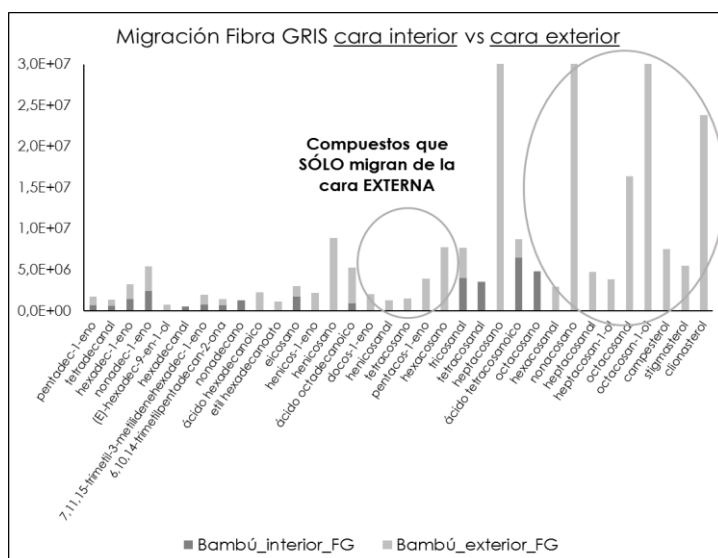


Figura 8. Resultados obtenidos con fibra SPME gris en las dos caras del plato de bambú.

En la Figura 8, se observa al igual que en el caso de la fibra roja, que se identifica un mayor número de compuestos en la cara exterior, y en este caso, para los compuestos que se identifican en ambas caras del plato, en ocasiones se obtiene mayor área en la cara interior y para otros compuestos en la cara exterior.

Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de estudiar la migración de los platos de bambú por ambas caras, ya que se han encontrado compuestos que migran desde la cara externa pero no desde la interna. Esto puede ser debido a que los platos tienen una estructura multicapa (capas de bambú adheridas por presión, calor o con algún tipo de adhesivo) y la capa interior, dado que es la que va a estar en contacto con los alimentos, puede llevar algún tratamiento aplicado durante la fabricación del plato disminuyendo la migración de compuestos. Por otro lado, es interesante utilizar las dos fibras SPME ya que algunos de los compuestos de interés, es decir que presentan restricciones, en unos casos se identifican con la fibra roja y en otros con la fibra gris.

4.2.1. Compuestos de interés que migran de los platos de bambú

Comparando los compuestos identificados en las Tablas 1 y 2 con un trabajo anterior llevado a cabo por Asensio, Montañés & Nerín (2020) en el que se analizaron platos fabricados con biomateriales (madera y pulpa de trigo) en contacto con simulantes líquidos y ensayos de migración a 70°C; en este trabajo se han identificado varios compuestos en común, como son el 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona, el ácido hexadecanoico y el ácido octadecanoico. El primero de ellos, se clasifica como clase II según Cramer, por lo que debe encontrarse en una concentración inferior a 9 µg/kg-d y se trata de un compuesto volátil que la madera y la corteza pueden liberar cuando se calientan a alta temperatura (Mastelic *et al.*, 2006), como en

este caso, al calentar el plato a 170°C. Los ácidos hexadecanoico y octadecanoico junto con el ácido tetracosanoico también identificado en este caso, presentan límite de migración específica (LME < 60 mg/kg) según Reglamento (UE) 10/2011 y están relacionados con la industria del envasado de alimentos. Por otro lado, se han identificado una serie de compuestos que presentan valor NOAEL a controlar (1000 mg/kg-d) y que son el 2,6,10-trimetildodecano, el eicosano cuya presencia está relacionada con el contacto alimentario ya que puede utilizarse como aditivo indirecto y el hexadecan-1-ol que puede actuar como emoliente y/o agente lubricante, cuya presencia puede estar relacionada con la manufactura de los platos.

Otro estudio donde se han llevado a cabo ensayos de migración en platos de bambú (Osorio et al., 2020), muestra que al igual que en este caso, la mayoría de los compuestos identificados son alcanos y alquenos. Estos grupos son constituyentes naturales de la planta del bambú, y su presencia puede estar también relacionada con la degradación del biomaterial, es decir, se pueden producir reacciones de oxidación durante el proceso de manufactura de los platos que aumente la presencia de estos compuestos, dando lugar a que luego puedan migrar al alimento en contacto cuando se calienta el plato. Además, se han identificado un grupo de compuestos pertenecientes a la clase de esteroides lipídicos y que se encuentran clasificados como clase II y III según Cramer (límite de 9 y 1,5 µg/kg-d, respectivamente) que son el campesterol, clionasterol y stigmasterol. La presencia de este grupo de compuestos se ha descrito previamente en brotes de bambú jóvenes (Osorio et al., 2020), por lo que su presencia también tiene origen en la propia planta. Además, pertenecen al grupo de los denominados fitosteroides, los cuales tienen la capacidad de reducir los niveles de colesterol en sangre, e inhiben el crecimiento de células cancerígenas en el ser humano.

Por último, se ha identificado la presencia de 3-dodecalfuran-2,5-diona, clasificado como clase III según Cramer y al que se le atribuye actividad antimicrobiana. Es posible que su presencia en el material se deba a que en algún momento de la fabricación ha tenido contacto con este compuesto o con algún material tratado con un antimicrobiano, cosa normal en la industria alimentaria para evitar peligros de origen microbiológico

4.3. Análisis de los resultados obtenidos para el plato de hoja de palma

De la misma manera que con los platos de bambú, los compuestos volátiles identificados provenientes de los extractos de migración en los platos de hoja de palma mediante análisis SPME-GC-MS se muestran en las Tablas 3 y 4.

Tabla 3. Resultados análisis plato de hoja de palma mediante SPME-GC-MS con **fibra ROJA**. Comparación de los compuestos identificados para ambas caras del plato (interior y exterior)

tr	CAS	compuestos	Palma INTERIOR	Palma EXTERIOR	Restricciones	Usos/Propiedades
17,26	13360-61-7	pentadec-1-eno	X	X	TTC I	
18,71	124-25-4	tetradecanal		X	TTC I	
20,04	18435-45-5	nonadec-1-eno	X	X	TTC I	
21,19	504-96-1	7,11,15-trimetil-3-metilidenehexadec-1-eno	X	X	TTC I	
21,25	502-69-2	6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	X	X	TTC II	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,64	102608-53-7	3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol	X	X	TTC I	
21,88	56554-35-9	(9Z)-octadeca-9,17-dienal	X		TTC I	
22,05	112-39-0	metil hexadecanoato	X	X	1000 mg/kg-d⁽¹⁾	<i>Contacto alimentario. Aditivo indirecto</i>
27,36	72934-02-2	tricosanal	X		TTC I	<i>Antimicrobiano</i>
27,86	630-01-3	hexacosano	X		TTC I	<i>COVs/Componente natural plantas</i>
28,13	57866-08-7	tetracosanal	X		TTC I	
28,43	59130-70-0	octadecil 2-etilhexanoato	X		TTC I	
28,59	593-49-7	heptacosano	X		TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
29,58	26627-85-0	hexacosanal	X		TTC I	
30,01	630-03-5	nonacosano	X		TTC I	<i>COVs/Componente natural plantas</i>
30,29	72934-03-3	heptacosanal	X		TTC I	<i>Antimicrobiano</i>
30,91	-	compuesto m/z = 380/135/143/157/261	X		-	
31,06	22725-64-0	octacosanal	X		TTC I	
31,16	NIST103932	stigmasta-4,7,22-trien-3alpha-ol	X		TTC III	
31,52	630-04-6	hentriacontano	X		TTC I	
31,56	557-61-9	octacosan-1-ol	X		TTC I	
31,65	-	compuesto m/z = 394/135/143/157/221/275	X		-	
31,92	72934-04-4	nonacosanal	X		TTC I	
32,94	22725-63-9	triacontanal	X		TTC I	
33,13	474-62-4	campesterol	X		TTC III	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>
33,48	83-48-7	stigmasterol	X		TTC II	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>
33,63	41755-58-2	triacontil acetato	X		TTC I	
34,18	83-47-6	clionasterol	X		TTC III	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>

⁽¹⁾ valor de NOAEL y ⁽²⁾ valor de límite de migración específica (LME) según Reglamento (UE) N° 10/2011

Tabla 4. Resultados análisis plato de hoja de palma mediante SPME-GC-MS con **fibra GRIS**. Comparación de los compuestos identificados para ambas caras del plato (interior y exterior)

tr	CAS	compuestos	Palma INTERIOR	Palma EXTERIOR	Restricciones	Usos/Propiedades
17,26	13360-61-7	pentadec-1-eno	X	X	TTC I	
18,71	124-25-4	tetradecanal	X		TTC I	<i>Agente lubricación</i>
19,61	64437-47-4	(E)-hexadec-9-en-1-ol		X	TTC I	
19,71	629-73-2	hexadec-1-eno	X		TTC I	<i>Lubricante/Emoliente</i>
20,04	18435-45-5	nonadec-1-eno	X	X	TTC I	
20,56	-	compuesto m/z= 91/71/105/461/537	X			
20,57	2425-54-9	1-clorotetradecano		X	TTC III	<i>Antimicrobiano</i>
20,63	68317-73-7	ácido 1-metil-2-ciclopenteno-1-carboxílico metil ester		X	TTC III	
21,19	504-96-1	7,11,15-trimetil-3-metilidenehexadec-1-eno	X	X	TTC I	
21,25	502-69-2	6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	X	X	TTC II	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,63	102608-53-7	3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol		X	TTC I	
21,64	-	compuesto m/z=123/223/278/355	X			
22,41	57-10-3	ácido hexadecanoico	X	X	< 60 mg/kg ⁽²⁾	<i>Contacto alimentario</i>
22,71	628-97-7	etil hexadecanoato	X	X	TTC I	<i>Lubricante/Emoliente</i>
24,26	57-11-4	ácido octadecanoico	X		< 60 mg/kg ⁽²⁾	<i>Contacto alimentario/Manufactura papel</i>
24,55	111-61-5	etil octadecanoato (etil estearato)	X		TTC I	<i>Antioxidante</i>
25,47	638-67-5	tricosano		X	TTC I	
25,98	96168-15-9	5-metil-5-(4,8,12-trimetiltridecil)oxolan-2-ona	X		TTC I	
26,91	59130-69-7	hexadecil 2-etilhexanoato		X	1000 mg/kg-d⁽¹⁾	<i>Emoliente</i>
27,09	16980-85-1	pentacosano		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
27,35	72934-02-2	tricosanal		X	TTC I	<i>Antimicrobiano</i>
28,12	57866-08-7	tetracosanal		X	TTC I	
28,44	59130-70-0	octadecil 2-etilhexanoato		X	TTC I	
29,10	557-59-5	ácido tetracosanoico		X	< 60 mg/kg ⁽²⁾	
29,30	NIST382543	etenil icosil carbonato		X	TTC I	
29,59	26627-85-0	hexacosanal		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
28,60	593-49-7	heptacosano	X		TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
30,01	630-02-4	nonacosano	X	X	TTC I	<i>COVs/Componente natural plantas</i>
30,29	72934-03-3	heptacosanal	X	X	TTC I	<i>Antimicrobiano</i>

30,71	NIST 214164	stigmastan-3,5-dieno	X		TTC III	
31,06	22725-64-0	octacosanal	X	X	TTC I	
31,57	557-61-9	octacosan-1-ol		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
31,93	72934-04-4	nonacosanal		X	TTC I	
32,91	22725-63-9	triacontanal	X	X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
33,12	474-62-4	campesterol	X		TTC III	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>
33,47	83-48-7	stigmasterol	X	X	TTC II	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>
33,59	41755-58-2	triacontil acetato	X		TTC I	
34,16	83-47-6	clionasterol	X	X	TTC III	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>

⁽¹⁾ valor de NOAEL y ⁽²⁾ valor de límite de migración específica (LME) según Reglamento (UE) N° 10/2011

Al igual que en el caso de los platos de bambú, los resultados de las Tablas 3 y 4 se muestran de manera gráfica en las siguientes figuras. Las Figuras 9 y 10 muestran la comparación entre la utilización de la fibra roja y la fibra gris para los ensayos llevados a cabo por las dos caras del plato de hoja de palma.

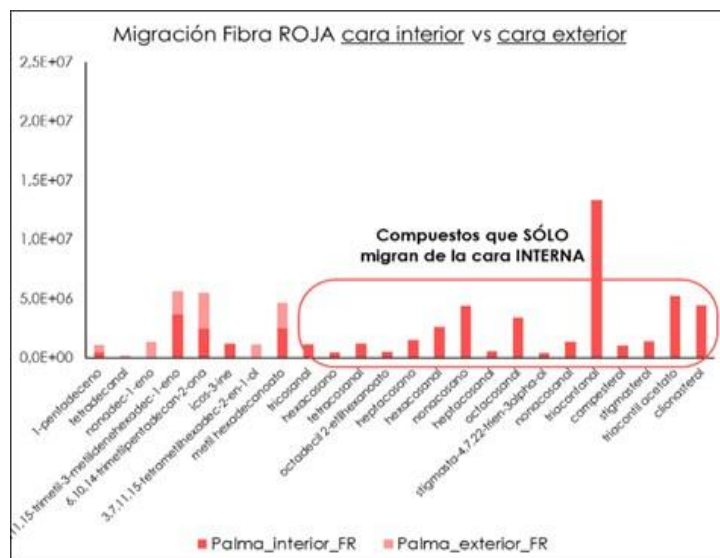


Figura 9. Resultados obtenidos con fibra SPME roja en las dos caras del plato de hoja de palma.

En esta ocasión, a diferencia de los platos de bambú, se observa una mayor migración de compuestos desde la cara interna del plato cuando se utiliza la fibra SPME roja, tanto en número de compuestos como en el área de los mismos, frente a la cara exterior del plato.

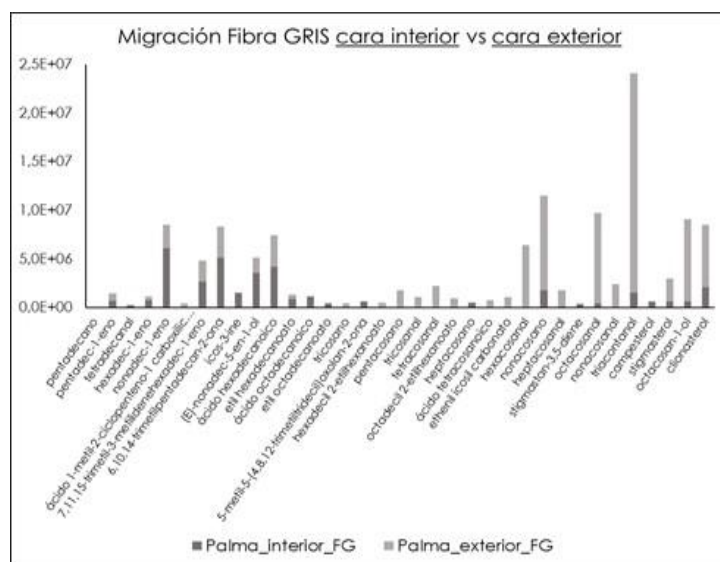


Figura 10. Resultados obtenidos con fibra SPME grisen las dos caras del plato hoja de palma.

En este caso, con la fibra SPME gris, se identifican más compuestos volátiles y la mayoría de ellos están, tanto en la cara interior como en la cara exterior. Para algunos de estos compuestos el área es mayor en la cara interior y para otros en la cara exterior.

Estos resultados, tanto los obtenidos con la fibra SPME roja como gris, ponen de manifiesto, al igual que en el caso de los platos de bambú, que no son iguales las caras interior y exterior de los platos. Lo que hace necesario estudiarlos por ambas caras, así como con ambos tipos de fibras por identificarse compuestos diferentes según la fibra utilizada.

4.3.1. Compuestos de interés que migran de los platos de hoja de palma

Como en el caso de los platos de bambú, también se han identificado el ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico y ácido tetracosanoico, todos ellos según Reglamento (UE) 10/2011 con un LME < 60 mg/kg, y relacionados con contacto alimentario. Respecto a los compuestos que presentan valor NOAEL (1000 mg/kg-d) se han identificado el metil hexadecanoato y hexadecil 2-etilhexanoato, relacionados con su uso como aditivo indirecto en contacto alimentario y emoliente, respectivamente. Además, este último solo aparece en la cara exterior con lo que podría relacionarse con el acabado exterior del plato.

En la cara exterior del plato destaca la identificación de dos compuestos clasificados como clase III según Cramer que son el 1-clorotetradecano que presenta actividad antimicrobiana y el ácido 1-metil-2-ciclopenteno-1-carboxílico metil ester. En la cara interior del plato se han identificado el stigmastan-3,5-dieno, también clasificado como clase III. Se ha descrito que este compuesto se forma en el aceite de oliva tras su proceso de refinado (León *et al.*, 2004), con lo que podría provenir de alguno de los tratamientos físico/químicos aplicados sobre las hojas de palma para poder utilizarlas en la fabricación de los platos.

Como en el caso de los platos de bambú, se han identificado los mismos tres esteroides lipídicos (campesterol, clionasterol y stigmasterol) en ambas caras de los platos, y cuyo origen puede ser atribuido a la matriz vegetal propiamente dicha. Mencionar también la identificación de un compuesto clasificado como clase II según Cramer que es el 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona, tanto en la cara interior como en la exterior y que también se ha identificado en los platos de bambú.

Además, se han identificado un número alto de alcanos, alquenos y aldehídos, muchos de ellos presentes como componentes naturales de las plantas, y, por tanto, provenientes de la propia matriz vegetal del biomaterial.

Tabla 5. Resultados análisis plato de pulpa de trigo mediante SPME-GC-MS con **fibra ROJA**. Comparación de los compuestos identificados para ambas caras del plato (interior y exterior)

tr	CAS	compuestos	Trigo INTERIOR	Trigo EXTERIOR	Restricciones	Usos
14,70	629-50-5	tridecano		X	TTC I	<i>Solvente/Tratamiento superficial</i>
15,59	1560-96-9	2-metiltridecano		X	TTC I	
16,08	629-59-4	tetradecano	X		TTC I	<i>Agente lubricante</i>
17,26	13360-61-7	pentadec-1-eno	X	X	TTC I	
18,70	124-25-4	tetradecanal	X	X	TTC I	<i>Agente lubricante</i>
19,61	629-73-2	hexadec-1-eno	X	X	TTC I	
20,04	18435-45-5	nonadec-1-eno		X	TTC I	
20,96	629-80-1	hexadecanal	X	X	TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,03	110-27-0	propan-2-il tetradecanoato	X	X	TTC I	<i>Emoliente de unión</i>
21,19	504-96-1	7,11,15-trimetil-3-metilidenehexadec-1-eno	X	X	TTC I	
21,25	502-69-2	6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	X	X	TTC II	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,63	102608-53-7	3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol	X	X	TTC I	
21,87	NIST131119	5-nonadecen-1-ol	X		TTC I	
21,99	629-90-3	heptadecanal	X		TTC I	<i>Antimicrobiano</i>
22,04	112-39-0	metil hexadecanoato		X	1000 mg/kg-d⁽¹⁾	<i>Contacto alimentario. Aditivo indirecto</i>
22,99	142-91-6	propan-2-il hexadecanoato		X	TTC I	<i>Emoliente de unión/Solvente</i>
23,96	112-61-8	metil octadecanoato		X	1000 mg/kg-d⁽¹⁾	<i>Emoliente</i>
25,72	51227-32-8	henicosanal		X	TTC I	
26,30	646-31-1	tetracosano		X	TTC I	
26,91	59130-69-7	hexadecil 2-etilhexanoato		X	1000 mg/kg-d⁽¹⁾	<i>Emoliente</i>
27,35	72934-02-2	tricosanal		X	TTC I	
28,12	57866-08-7	tetracosanal		X	TTC I	
28,60	593-49-7	heptacosano		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
29,57	111-02-4	escualeno		X	TTC I	
29,99	630-03-5	nonacosano		X	TTC I	
31,05	22725-64-0	octacosanal		X	TTC I	
33,60	41755-58-2	triacontil acetato		X	TTC I	
34,16	83-47-6	clionasterol		X	TTC III	<i>Clase: esteroides lipídicos</i>
34,32	540-10-3	hexadecil hexadecanoato		X	TTC I	<i>Emoliente/Lubricante</i>

Tabla 6. Resultados análisis plato de pulpa de trigo mediante SPME-GC-MS con **fibra GRIS**. Comparación de los compuestos identificados para ambas caras del plato (interior y exterior)

tr	CAS	compuestos	Trigo INTERIOR	Trigo EXTERIOR	Restricciones	Usos
17,26	13360-61-7	pentadec-1-eno	X	X	TTC I	
18,70	124-25-4	tetradecanal	X	X	TTC I	<i>Agente lubricación</i>
19,61	64437-47-4	(E)-hexadec-9-en-1-ol	X	X	TTC I	
20,04	18435-45-5	nonadec-1-eno	X	X	TTC I	
20,56	2425-54-9	1-clorotetradecano	X		TTC III	<i>Antimicrobiano</i>
20,96	629-80-1	hexadecanal	X	X	TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,03	110-27-0	propan-2-il tetradecanoato		X	TTC I	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,19	504-96-1	7,11,15-trimetil-3-metilidenehexadec-1-eno	X	X	TTC I	
21,25	502-69-2	6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona	X	X	TTC II	<i>Aditivo alimentario sabor</i>
21,63	102608-53-7	3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol	X		TTC I	
22,41	57-10-3	ácido hexadecanoico	X		< 60 mg/kg⁽²⁾	<i>Contacto alimentario</i>
22,71	628-97-7	etil hexadecanoato	X	X	TTC I	<i>Emoliente/Lubricante</i>
23,72	629-94-7	henicosano		X	TTC I	
24,26	57-11-4	ácido octadecanoico	X		< 60 mg/kg⁽²⁾	<i>Contacto alimentario/Manufactura papel</i>
24,56	111-61-5	etil octadecanoato (etil estearato)	X		TTC I	<i>Fragancia</i>
24,61	629-97-0	docosano		X	TTC I	
25,43	74339-54-1	hexadecil 2,2,2-tricloroacetato	X		TTC III	
25,71	51227-32-8	henicosanal	X	X	TTC I	
25,98	200272-61-3	4,8,12,16-tetrametilheptadecan-4-olide	X		TTC III	
26,30	646-31-1	tetracosano		X	TTC I	
26,77	-	<i>compuesto m/z = 239/182/170</i>	X		-	
26,99	542-44-9	2,3-dihidroxipropil hexadecanoato	X		TTC I	
27,14	16958-85-3	octil hexadecanoato		X	TTC I	<i>Antioxidante</i>
27,35	72934-02-2	tricosanal	X		TTC I	
27,51	70910-37-1	bis(2-propilpentil) benzeno-1,2-dicarboxilato		X	TTC I	
27,86	630-01-3	hexacosano	X		TTC I	
28,12	57866-08-7	tetracosanal	X		TTC I	
28,59	593-49-7	heptacosano	X		TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
29,28	NIST 406424	1-pentoxioctacosano	X		TTC I	
29,57	111-02-4	escualeno	X		TTC I	

29,80	-	<i>alpha-tocospiro B</i>	X		TTC III	
29,99	630-03-5	nonacosano	X	X	TTC I	
30,28	72934-03-3	heptacosanal	X		TTC I	
31,05	22725-64-0	octacosanal	X		TTC I	
31,56	557-61-9	octacosan-1-ol		X	TTC I	<i>Componente natural plantas</i>
33,61	NIST351891	<i>octatriacontil 2,2,3,3,3-pentafluoropropanoato</i>		X	TTC III	

⁽¹⁾ valor de NOAEL y ⁽²⁾ valor de límite de migración específica (LME) según Reglamento (UE) Nº 10/2011

Con la fibra SPME gris, la cantidad de compuestos identificados en ambas caras es similar, y la mayoría de ellos se identifican en ambas caras del plato. No obstante, los de mayor interés están presentes solo en una de las dos caras. El tamaño de las áreas también es similar en algunos compuestos, mientras que en otros es mayor en la cara interior (a excepción de aquellos únicamente presentes en la cara exterior).

Estos resultados, de nuevo muestran, al igual que en el caso de los otros dos biomateriales, que lo más adecuado es analizar ambas caras del material empleando los dos tipos de fibras SPME.

4.4.1. Compuestos de interés que migran de los platos de pulpa de trigo

Lo primero, destacar que los platos de pulpa de trigo son los que menos migración de compuestos volátiles muestran respecto a los otros dos tipos de platos elaborados con biomateriales (bambú y hoja de palma). Varios de los compuestos de interés coinciden con los identificados hasta ahora como es el caso del 6,10,14-trimetilpentadecan-2-ona, del metil hexadecanoato, del éster lipídico clionasterol y de los ácidos hexadecanoico y octadecanoico. De todos ellos, ya se ha hablado en los apartados anteriores y se ha justificado su presencia en los extractos de migración obtenidos.

Dos compuestos que presentan límite NOAEL de 1000 mg/kg-d y que no se han identificado más que en estos platos de pulpa de trigo son el metil octadecanoato y el hexadecil 2-etilhexanoato, cuya presencia puede estar relacionada con el proceso de fabricación del plato, ya que son, principalmente, agentes emolientes.

Además, con la fibra gris se han identificado el 1-clorotetradecano, también identificado en el plato de hoja de palma y el hexadecil 2,2,2-tricloroacetato, que poseen actividad antimicrobiana, y que su presencia puede estar relacionada con tratamientos antimicrobianos aplicados en el proceso de fabricación de los platos, tal y como ya se ha comentado anteriormente. Con la misma fibra, se han identificado el 4,8,12,16-tetrametilheptadecan-4-olidey el alpha-tocospiro B, ambos clasificados como clase III según Cramer. El primero de ellos puede tener su origen en la propia planta, ya que se trata de un componente natural; y en el segundo caso se ha descrito que dicho compuesto tiene efectos citotóxicos tras estudios llevados a cabo in vitro en dos tipos de células (Chen *et al.*, 2006) y cuyo origen también se atribuye a los constituyentes propios de la planta.

Finalmente, mencionar la presencia del octatriacontil 2,2,3,3,3-pentafluoropropanoato, clasificado como clase III según Cramer, y que se ha encontrado en plantas de la familia *Orchidaceae* (Paudel *et al.*, 2018).

5. Conclusiones

Las principales conclusiones de este Trabajo fin de Grado son las que se muestran a continuación:

- A partir de la optimización llevada a cabo para la identificación de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a cromatografía de gases (GC-MS) se ha seleccionado el uso de dos fibras SPME: fibra SPME roja (PDMS) y fibra SPME gris (DVB/CAR/PDMS), puesto que la utilización de ambas fibras ha mostrado resultados diferentes y de interés.
- Tras llevar a cabo los ensayos de migración en las condiciones establecidas, los tres biomateriales analizados (bambú, hoja de palma y pulpa de trigo) han mostrado diferencias entre sí, tanto en la cantidad de compuestos volátiles identificados como en los perfiles cromatográficos. El plato de pulpa de trigo es el biomaterial en el que menor cantidad de compuestos volátiles migran y el plato de bambú el biomaterial en el que mayor número de compuestos volátiles migran.
- Los resultados cualitativos obtenidos muestran que, al analizar los platos de cada biomaterial por ambas caras, se observan diferencias en el número y cantidad de compuestos volátiles que migran, según se realice el ensayo de migración en contacto con la cara interna o la cara externa del plato. Este hecho pone de manifiesto la necesidad de realizar ensayos de migración por ambas caras de los platos, dada la disposición en la que se distribuyen los platos, es decir, apilados por lo que la cara exterior de un plato está en contacto con la cara interior de otro plato.
- Los compuestos volátiles que se han identificado en los extractos de migración presentan diferentes orígenes, siendo la mayoría, componentes naturales de las plantas y por tanto de la matriz de los biomateriales (esteroles lipídicos, alcanos y alquenos, principalmente). Si bien, se han identificado compuestos que proceden del proceso de manufactura de los platos (grupos ácido, algunos aldehídos), así como otros grupos de compuestos que están relacionados con la propia industria alimentaria (aditivos, sustancias para contacto alimentario) y que migran de manera no intencionada.
- Los resultados obtenidos en este trabajo coinciden con los resultados, de los pocos trabajos previos, que se han realizado analizando la migración que presentan estos nuevos materiales en contacto con alimentos (biomateriales). Poniendo de manifiesto la necesidad de continuar estos estudios, así como de cuantificar los compuestos identificados y comprobar que no superan las restricciones que se establecen para su contacto con alimentos.

5. Conclusions

The main conclusions of this Final Degree Project are those shown below:

- From the optimization process, that was carried out for the identification of volatile compounds by solid phase microextraction (SPME) coupled to gas chromatography (GC-MS), two SPME fibres have been selected: red SPME fiber (PDMS) and grey SPME fiber (DVB / CAR / PDMS), since the use of both fibres has shown different and interesting results.
- After performing the migration tests under the established conditions, the three analyzed biomaterials (bamboo, palm leaf and wheat pulp) have shown differences between them, both in the amount of volatile compounds identified and in the chromatographic profiles. The wheat pulp plate is the biomaterial in which the least amount of volatile compounds migrate and the bamboo plate is the biomaterial in which the highest number of volatile compounds migrate.
- The qualitative results obtained show that, when analysing the plates of each biomaterial on both sides, differences are observed in the number and quantity of volatile compounds that migrate, depending on whether the migration test is carried out in contact with the inner face or the outer face of the plate. This fact highlights the need to accomplish migration tests on both sides of the plates, given the arrangement in which the plates are distributed, that is, stacked so that the outer face of a plate is in contact with the inner face from another plate.
- The volatile compounds that have been identified in the migration extracts have different origins, the majority being natural components of plants and, therefore, of the matrix of biomaterials (mainly lipid sterols, alkanes and alkenes). Although, compounds that come from the manufacturing process of dishes (acid groups, some aldehydes) have been identified, as well as other groups of compounds that are related to the food industry itself (additives, substances for food contact) and that migrate from unintentional way.
- The results obtained in this work coincide with the results of the few previous studies, which have been carried out analysing the migration presented by these new materials in contact with food (biomaterials). It is necessary to highlight the need to continue these studies, as well as to quantify the identified compounds and verify that they do not exceed the restrictions established for their contact with food.

Aportaciones en materia de aprendizaje

En este Trabajo Fin de Grado he tenido la oportunidad de aplicar los conocimientos adquiridos durante la carrera en un trabajo de investigación novedoso, que me ha permitido entender cómo funcionan los fenómenos de migración y aprender a llevar a cabo ensayos de migración. Además, considero que he mejorado mi capacidad de trabajo en el laboratorio, especialmente en la preparación de muestras, y mis conocimientos acerca de la cromatografía, familiarizándome con su uso. También me ha resultado interesante aprender a desarrollar por escrito un trabajo práctico de laboratorio, desarrollando la metodología y representando e interpretando los resultados.

Por último, agradecer a mi tutora Esther Asensio por su paciencia y su atención en todo momento, y por todos los conocimientos que me ha transmitido. De igual manera, agradecer a mis amigos y familia todo el apoyo prestado.

Bibliografía

Arvanitoyannis I.S. & Bosnea L. (2010). Migration of substances from food packaging materials to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(2):63-76.

Asensio E., Montañés L. & Nerín C. (2020). Migration of volatile compounds from natural biomaterials and their safety evaluation as food contact materials. *Food and Chemical Toxicology*, 142, 111457.

Aznar M., Alfaro P., Nerín C., Jones E. & Riches E. (2016). Progress in mass spectroscopy for the analysis of set-off phenomena in plastic food packaging. *Journal of chromatography A*, 1543:124-133.

Berthet M-A., Angellier-Coussy H., Chea V., Guillard V., Gastaldi E. & Gontard N. (2015). Sustainable food packaging: Valorising wheat straw fibres for tuning PHBV-based composites properties. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 72:139-147.

Bonanno G. & Orlando-Bonaca M. (2020). Marine plastics: What risks and policies exist for seagrass ecosystems in the *Plasticene*? *Marine Pollution Bulletin*, vol 158.

Chen J., Chou E., Duh C., Yang S. & Chen I. (2006). New cytotoxic tetrahydrofuran-and dihydrofuran- type lignans from the stem of *Beilschmiedia tsangii*. *Planta Medica*, 72(4):351-7.

Khajavi M.Z., Mohammadi R., Ahmadi S., Farhoodi M. & Yousefi M. (2019). Strategies for controlling release of plastic compounds into foodstuffs based on application of nanoparticles and its potential health issues. *Trends in Food Science & Technology*, 90:1-12.

Kemmer D. & Schmid P. (2017). Migration of residual monomers from plastics into food. *Fraunhofer Institute for Process Engineering and Packaging (IVV)*.

Kleebauer M., Harling A. & Schneider M. (2018). Testing and development of migration barriers. *Bio-fibre magazine*, 7-8:26-30.

León-Camacho M., Serrano M.A. & Constante G. (2004). Formation of stigmasta-3,5-diene in olive oil during deodorization and/or physical refining using nitrogen as stripping gas. *Grasas y Aceites*, 55(3):227-232.

Mastelic, J., Jerkovic, I. & Mesic, M. (2006). Volatile constituents from flowers, leaves, bark and wood of *Prunus mahaleb* L. *Flavour Fragrance Journal*, 21:306-313.

Monouso (2020). Disponible en: <https://www.monouso.es/platos-biodegradables-216>. [Accedido 09/09/2020].

Okokpuije I.P., Akinlabi E.T. & Fayomi O.O. (2020). Assessing the policy issues relating to the use of bamboo in the construction industry in Nigeria, *Heliyon*, vol 6.

Osorio J., Aznar M., Nerín C., Birse N., Elliott C. & Chevallier O. (2020). Ambient mass spectrometry as a tool for a rapid and simultaneous determination of migrants coming from a bamboo-based biopolymer packaging. *Journal of Hazardous Materials*. Vol. 398.

Paudel M.R., Chand M.B., Pant B. & Pant B. (2018). Antioxidant and cytotoxic activities of *Dendrobium moniliforme* extracts and the detection of related compounds by GC-MS. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 134(18).

Reglamento (CE) No 1935/2004 del parlamento europeo y de la comisión de 27 de octubre de 2004 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos.

Reglamento (UE) No 10/2011 de la comisión de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos.

Sánchez R., Espinosa E., Domínguez-Robles J., Loaiza J.M. & Rodríguez A. (2016). Isolation and characterization of lignocellulose nanofibers from different wheat Straw pulps. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92:1025-1033.

Xie X., Zhou Z. & Yan Y. (2019). Flexural properties and impact behaviour analysis of bamboo cellulosic fibers filled cement based composites. *Construction and Building Materials*, 220:403-414.

Xu C., Zhu S., Xing C., Li D., Zhu N. & Zhou H. (2015). Isolation and properties of cellulose nanofibrils from coconut palm petioles by different mechanical process. *PLoS ONE*, 10(4).