



UNIVERSIDAD DE JAÉN

Escuela Politécnica Superior de Linares

Trabajo Fin de Grado

DETERMINACIÓN DE ESBO EN SIMULANTES

Alumno: Rosa Linarejos Moreno Infantes

Tutor: Antonio J. Ortiz Hernández

Depto.: Química Inorgánica y Orgánica

Julio, 2018

ÍNDICE

1.RESUMEN.....	4
2.ABSTRACT.....	4
3.INTRODUCCIÓN.....	5
3.1. Policloruro de vinilo (PVC).....	5
3.1.1. Obtención.....	7
3.2. Migración.....	7
3.2.1 Principales elementos migrantes.....	8
3.2.2. Simulantes de alimentos.....	9
3.3. Plastificantes (ESBO).....	10
3.3.1. Toxicidad.....	12
3.3.2. Normativa vigente.....	13
3.4. Fundamento básico de los equipos.....	14
4.OBJETIVOS.....	16
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
5.1. Materiales y reactivos.....	16
5.2. Métodos.....	17
5.2.1. Normativa vigente (UNE-EN-1186-2).....	17
5.2.2. Estudio de migración.....	19
5.2.3. Ultrasonidos.....	19
5.2.4. Resonancia magnético nuclear.....	20
5.2.5. Infrarrojo.....	21
5.2.6. Espectroscopía del infrarrojo cercano (NIR).....	21
5.2.7. Cromatografía líquida asociada a un masas triplecuadrapolo (HPLC-MS/MS-TQ).....	22
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
6.1. Migración y ultrasonidos.....	24

6.2. Resonancia magnético nuclear.....	26
6.3. Espectroscopía infrarroja y NIR.	27
6.4. HPLC-MS/MS-TQ.....	31
7. CONCLUSIONES.....	37
8. BIBLIOGRAFÍA.	39

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Estructura policloruro de vinilo.(C ₂ H ₃ Cl) _n	6
Figura 2. Triglicérido mayoritario del ESBO	10
Figura 3. Equipo de ultrasonidos.....	20
Figura 4. Equipo HPLC-MS/MS-TQ.	24
Figura 5. Espectro resonancia magnético nuclear de ESBO	27
Figura 6. Espectro infrarrojo ESBO.	28
Figura 7. Espectro infrarrojo aceite con plastificante.....	28
Figura 8. Espectro infrarrojo aceite sin plastificante.....	28
Figura 9. Comparación de espectros (ESBO, aceite con y sin plastificante).	29
Figura 10. Espectro NIR aceite con plastificante.	30
Figura 11. Espectro NIR ESBO.....	30
Figura 12. Diagrama ESBO 10 ppm.....	31
Figura 13. Diagrama aceite más plastificante.....	32
Figura 14. Diagrama ESBO 20 ppm.....	33
Figura 15. Diagrama ESBO 40 ppm.....	33
Figura 16. Diagrama ESBO 60 ppm.....	33
Figura 17. Diagrama ESBO 80 ppm.....	34
Figura 18. Diagrama ESBO 100 ppm.....	34
Figura 19. Recta calibrado ion 685.3 tiempo retención 0.82-0.84	35

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1. Tipos de simulantes alimentarios. [7], [8]	9
Tabla 2. Principales características técnicas del ESBO. [9]	11
Tabla 3. Principales ácidos grasos contenidos en el ESBO. [9]	11
Tabla 4. Composición del Film.	17
Tabla 5. Condiciones operación HPLC-MS/MS-TQ	22
Tabla 6. Resultados estudio migración.....	24
Tabla 7. Resultados extracción de plastificantes con ultrasonidos.....	25
Tabla 8. Resultados extracción de aceite con ultrasonidos.	26
Tabla 9. Resultados recta de calibrado.	34
Tabla 10. Resumen rectas de calibrado.	36

1. RESUMEN.

Este trabajo fin de grado surgió como continuación a un trabajo anterior, en el que se plantea la prioridad de buscar un método de determinación in situ de plastificantes en simulantes. La empresa Flexia Films, que trabaja en el sector industrial relacionado con el plástico, sigue interesada en el estudio de la migración global de los diferentes plastificantes del film (PVC). Esta empresa al igual que todas las que se dedican a la fabricación de polímeros que más tarde estarán en contacto con alimentos, deben cumplir una norma muy estricta en cuanto a la cantidad de plastificantes que pueden migrar del plástico a los alimentos.

En el trabajo anterior, al que ya se ha hecho referencia, se llegó a la conclusión de que el procedimiento propuesto por la norma vigente (UNE-EN-1186-2) no era útil para determinar la migración de dichas sustancias.

En este trabajo fin de grado se va a evaluar la viabilidad de distintos procedimientos de medición directa en simulantes, opción alternativa a la cuantificación indirecta que establece la norma actual, mediante los cuales se podrá determinar la migración total de ESBO (plastificante) empleando matrices poliméricas y el simulante requerido por la norma (aceite de oliva virgen extra).

2. ABSTRACT.

This project is the following step of a previous thesis, in which the priority of looking for a method to determine plasticizers in simulants in situ is raised. Flexia Film company, which belongs to the industrial sector related to the plastic, continues interested in studying the total migration of different types of plasticizers of the film (PVC). Flexia Film and the rest of the companies belonging to the industrial sector of polymers, must fulfil a very strict regulation that establishes the quantity of plasticizers that can migrate from the plastic to the food.

In the previous thesis, which has been mentioned before, the conclusion achieved was that the current rule (UNE-EN-1186-2) was not useful to determine the migration of the above mentioned substances.

In this project, the viability of different procedures of direct measurement in simulants is going to be evaluated, which is an alternative option to the indirect quantification established by the current norm. By means of these procedures the total

migration of ESBO (plasticizer) is going to be determined, using polymeric matrices and olive oil as simulant.

3. INTRODUCCIÓN.

La producción global de plásticos se ha disparado en los últimos 50 años, y en especial en las últimas décadas. Entre 2002-2013 aumentó un 50%: de 204 millones de toneladas en 2002, a 299 millones de toneladas en 2013. Se estima que en 2020 se superarán los 500 millones de toneladas anuales, lo que supondría un 900% más que los niveles de 1980.

China es el principal productor de plásticos seguido de Europa, Norte América y Asia (excluyendo China). Dentro de Europa, más de dos tercios de la demanda de plásticos se concentran en cinco países: Alemania (24,9%), Italia (14,3%), Francia (9,6%), Reino Unido (7,7%) y España (7,4%).

Existen muchos tipos de plásticos, aunque el mercado está dominado por cuatro tipos principales:

- Polietileno (PE): Bolsas de plástico, láminas y películas de plástico, contenedores (incluyendo botellas), microesferas de cosméticos y productos abrasivos.
- Polyester (PET): Botellas, envases, prendas de ropa, películas de rayos X, etc.
- Polipropileno (PP): Electrodomésticos, muebles de jardín, componentes de vehículos, etc.
- Policloruro de polivinilo (PVC): Tuberías y accesorios, válvulas, ventanas, etc.

La mayor parte de los plásticos se emplean en la fabricación de envases, es decir, en productos de un solo uso. En concreto en Europa la demanda de plásticos para envases fue del 39% en 2013, y en España ascendió al 45%. [16]

3.1. Policloruro de vinilo (PVC).

Consiste en un homopolímero de cloruro de vinilo lineal. Las cadenas macromoleculares de PVC están poco ramificadas. Los grupos cloro laterales están estéricamente desordenados a lo largo de la macromolécula, esto da lugar a un polímero polar. Contiene aproximadamente un 57% de cloro.

El PVC presenta varias propiedades en función de los monómeros o polímeros que se utilicen en la polimerización. De este modo existen en el mercado diferentes tipos de PVC, como el del poli (cloruro de vinilo) rígido (PVC-U), el de alto impacto (PVC-HI), el clorato (PVC-C) y el plastificado (PVC-P) entre otros. [1]

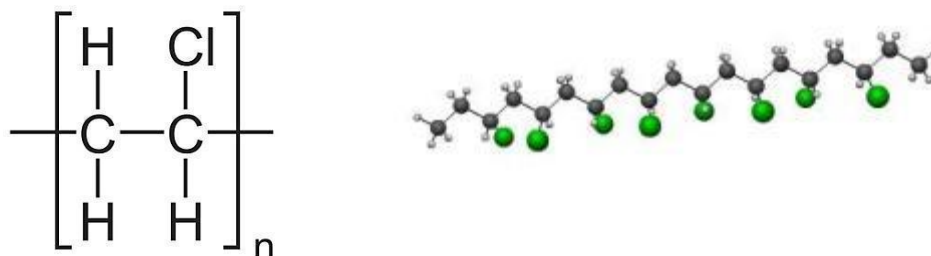


Figura 1. Estructura policloruro de vinilo. $(C_2H_3Cl)_n$

- Características químicas:

- Tiene muy buena resistencia tanto a los ácidos débiles como a los fuertes.
- Tiene muy buena resistencia a las bases fuertes y débiles.
- Tiene una resistencia media a los disolventes orgánicos.
- Su resistencia frente a la oxidación a 500 °C es muy pobre.
- Tiene muy buena resistencia al agua, tanto dulce como salada.
- Se trata de un material inflamable.
- Su resistencia a la radiación UV es muy buena, tanto el PVC rígido como el flexible.
- Gran resistencia a la corrosión.
- Elevada resistencia al ataque biológico (hongos, bacterias, termitas...)
- Buen aislante térmico, acústico y eléctrico. [1,15]

En su forma pura, el PVC es pesado, rígido y frágil. Se puede transformar de un material rígido a otro elástico y suave como la goma. Sus propiedades mecánicas difieren bastante dependiendo de si la formulación del PVC es rígida o plástica. Pueden ser extruidos, inyectados, comprimidos, termoformados, moldeados por soplado y barnizados. Se emplea para crear películas, tubos, cables y fibras. [1]

3.1.1. Obtención.

La obtención del policloruro de vinilo se hace a partir de acetileno y ácido clorhídrico. El PVC no puede ser procesado por sí mismo, debe estar compuesto por, al menos, un estabilizante, un lubricante, y en el caso de que se trate de PVC flexible, un plastificante.

La mayor parte de la producción mundial se realiza en discontinuo a través de una polimerización por emulsión, en la que, el cloruro de vinilo líquido se dispersa finamente en agua mediante agitación. Se emplean peróxidos orgánicos como iniciadores, disueltos en el cloruro de vinilo. A la suspensión se le añaden coloides protectores en mínimas cantidades; estos impiden que las partículas se unan en el momento de la transición del estado líquido a sólido. Las partículas más grandes se denominan partículas primarias y son separadas fácilmente del líquido por centrifugación, tamizado o filtrado. Las partículas más finas, que quedan en suspensión, son separadas con la ayuda de bombas de alta presión o un agitador, de modo que se produce una polimerización en microsuspensión. Después se lava, se seca y se elimina completamente el cloruro de vinilo que queda sin reaccionar, mediante un proceso de desgasificación intensa.

Se fabrican también diferentes PVCs en función del trabajo para el que han sido designados. Así, se crea un polímero especial si es destinado a suspensión (S-PVC), a emulsión (E-PVC) o masa (M-PVC). [1]

3.2. Migración.

El término «migración» generalmente describe un proceso de difusión, que puede estar fuertemente influenciado por la interacción de los componentes del alimento con el material de empaquetamiento. [5]

La migración genera modificaciones sustanciales en las propiedades reológicas y mecánicas del PVC, modificando sus propiedades originales. además de la contaminación de la sustancia de contacto, de ahí que se les exige una elevada permanencia y baja toxicidad. Existen tres modos fundamentales (Titow, 1990) de pérdida de un plastificante desde un PVC que lo contiene:

- Volatilización desde la superficie hacia el aire
- Extracción, el plastificante se difunde hacia un líquido en contacto
- Migración, en este caso hay una transferencia hacia un sólido que se halla en contacto íntimo con la superficie.

Aunque a nivel normativo se ha extendido el término migración, como el proceso de difusión de un plastificante hacia una fase condensada en contacto con él.

3.2.1 Principales elementos migrantes.

Las sustancias que pueden migrar al alimento dependen de la naturaleza del material de empaquetamiento. Los polímeros usados en empaquetamientos y embalajes alimentarios están formados por monómeros, oligómeros, aditivos y residuos de solventes (tintas y/o adhesivos) que pueden transferirse al alimento. Dentro de los aditivos usados en la fabricación de empaquetamientos están los plastificantes, antioxidantes, estabilizantes y colorantes, entre otros.

Los monómeros y oligómeros (número finito de monómeros) son sustancias reactivas y potencialmente tóxicas. Ejemplo de ellos son los monómeros estireno y cloruro de vinilo usados para elaborar PS y PVC, respectivamente.

Los plastificantes (estearato de butilo, acetiltributil citrato y adipatos, entre otros) presentan baja toxicidad, pero tienen un efecto potencial carcinogénico. La migración de plastificantes aumenta cuando hay contacto directo con alimentos grasos y con el incremento de temperatura.

Los antioxidantes se utilizan para disminuir el proceso de oxidación de los plásticos generado por la exposición a la luz. El BHT (Butil hidroxitolueno) y el Irganox 1010 son los antioxidantes más utilizados. La mayoría de los antioxidantes son tóxicos. Por otro lado, para prevenir la foto-oxidación de los materiales poliméricos, se adicionan estabilizantes de luz como las HALS (Aminas estéricamente impedidas).

Los colorantes usados pueden dividirse en dos grandes categorías: pigmentos y tintas. Los pigmentos pueden ser orgánicos e inorgánicos, y se caracterizan por tener alta incompatibilidad con los materiales poliméricos por lo que se requieren métodos de mezclado intensos. Las tintas presentan alta compatibilidad con la mayoría de matrices poliméricas, se funden fácilmente y no afectan la transparencia del material.

Las sustancias que no son adicionadas de forma intencional en el proceso de producción de los empaquetamientos, como las que se originan producto de los procesos de descomposición de los mismos (solventes: residuos de tintas de impresión y adhesivos), también pueden migrar al alimento bajo condiciones específicas de almacenamiento. [5]

Por último, hay que hacer referencia a los ftalatos, son un grupo de unas 80 sustancias químicas sintéticas que, dada su versatilidad y bajo precio, se utilizan

extensamente en productos de uso diario, como plastificantes, fijadores del aroma artificial y conservantes de cosméticos y productos de higiene.

En 2017 se descubrió que los niveles de ftalatos en la población infantil española eran superiores a la media europea, según el proyecto de biomonitorización DEMOCOPHES que analizó muestras de habitantes de 17 países europeos. Los resultados de este proyecto mostraban que tanto los niños y niñas estudiados como sus madres tenían metabolitos de DEHP, uno de los ftalatos que había sido identificado como disruptor endocrino para humanos.

Debido a sus efectos tóxicos para la reproducción, el uso de estas sustancias ya estaba restringido en aparatos electrónicos y en juguetes. Además, estaban incluidas en la lista de sustancias cuyo uso requiere autorización (Anexo XIV Reglamento REACH) en Europa. Sin embargo, sigue habiendo artículos que los contienen, así como los productos de limpieza y de cuidado personal, geles de pelo y cremas para la piel.

3.2.2. Simulantes de alimentos.

Un simulante es un producto que imita el comportamiento de un alimento o grupo de alimentos. Dada la complejidad de los productos alimenticios y la variedad de condiciones que surgen del contacto con los plásticos, se han establecido oficialmente ciertas sustancias listadas en la tabla 1, como los simulantes posibles a usar en la determinación de migración en alimentos. Cuando no es posible usar ninguno de los simulantes grasos, se permite el uso de iso-octano, etanol al 95 % u óxido de poli-fenileno (Tenax) [6].

TIPOS	SIMULANTE
Acuosos	Agua destilada
	Ácido acético 3% (p/v)
	Etanol al 15% (v/v)
Grasos	Aceite de oliva rectificado
	Aceite de girasol
	HB307

Tabla 1. Tipos de simulantes alimentarios. [7], [8]

3.3. Plastificantes (ESBO).

El aceite de soja epoxidado, conocido comúnmente como ESBO, es un líquido viscoso de color amarillo claro, cuyo punto de fusión está cerca de los -4°C .

En los aceites, los ácidos grasos suelen encontrarse formando triglicéridos. En el aceite de soja epoxidado, los anillos epoxi hacen que la molécula tenga un mayor peso molecular y ocupe más espacio al estar las cadenas más separadas entre sí por la presencia de los anillos epoxi. Esto hace que el triglicérido pueda introducirse con mayor facilidad entre las cadenas de PVC, proporcionándole flexibilidad, estabilidad térmica (evitando la deshidrocloración del PVC) y un mayor reblandecimiento durante las temperaturas de procesado. [2]

El alto peso molecular del ESBO ($\text{C}_{57}\text{H}_{98}\text{O}_{12}$), que es 974 g/mol, favorece una mayor estabilidad en mezclas con PVC, al no producirse la volatilización de monómeros como ocurre con otros plastificantes monoméricos de menor peso molecular como el adipato de 2-etilhexilo (DOA). [4], [17]

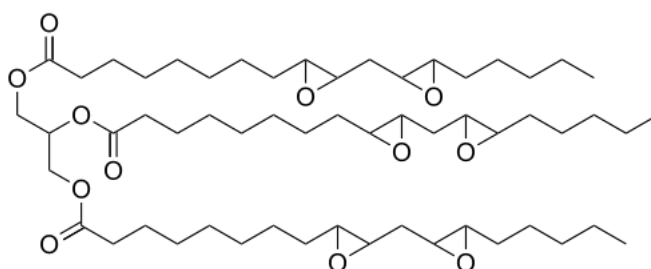


Figura 2. Triglicérido mayotitario del ESBO

El ESBO (aceite de soja epoxidado) es un plastificante muy conocido, que se obtiene de la epoxidación del aceite de soja con un compuesto de oxígeno activo como pueden ser un peróxido o un perácido. Una de las funciones que tiene este plastificante en el PVC es sellar las juntas de cierre. Además, el ESBO actúa como estabilizante y limpiador del cloruro de hidrógeno en el proceso de degradación del PVC. [3]

Su principal aplicación es en la industria alimentaria. El ESBO es utilizado en la industria alimentaria en películas de PVC para el envasado doméstico de alimentos, pero sobretudo como plastificante en juntas para tapas metálicas de tarros o botellas de vidrio con el fin de crear un sello que permita prevenir la contaminación microbiana. Este uso tan extendido se debe a su baja toxicidad y a su capacidad de biodegradarse. [11]

Los recipientes que contienen alimentos están normalmente cerrados con una junta hecha con PVC mixto con hasta un 40%-50% de plastificantes (ESBO, aceite de linaza epoxidado y otros tipos de plastificantes) que se encuentran en contacto directo con el alimento. Del porcentaje mencionado anteriormente, el 35% suele corresponder al ESBO, por lo tanto, hay un proceso de migración de este compuesto bastante considerable. Probablemente la mayor parte de esta migración tenga lugar durante el proceso de envasado y esterilizado, ya que en estos procesos la comida se mantiene caliente y a una alta presión. Tras esto, la migración puede continuar, de manera ocasional, por contacto durante el transporte y el almacenamiento. [3]

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS	UNIDADES	ESPECIFICACIÓN
Índice de acidez	mg KOH/g	<1
Viscosidad	mPa*s (20°C)	350-600
Color	Gardner	<2
Índice de refracción	20°C	1.472-1.478
Índice de epóxido	%	>6.4
Índice de Yodo	g I ₂ /100g	<3
Densidad	g/cm ³ (20°C)	0.990-1.010

Tabla 2. Principales características técnicas del ESBO. [9]

NÚMERO CARBONOS	ÁCIDO GRASO	ESPECIFICACIÓN %
C-16:0	Palmítico	8-12
C-18:0	Estearico	3-5
C-18:1	Oleico	17-30
C-18:2	Linoleico	48-57
C-18:3	Linolénico	4-11

Tabla 3. Principales ácidos grasos contenidos en el ESBO. [9]

3.3.1. Toxicidad.

El ESBO surgió ante la necesidad de buscar plastificantes distintos a los tradicionales (tipo ftalato) debido al potencial carcinogénico que presentaban estos últimos en las personas. Aunque el ESBO se considera un plastificante de baja toxicidad fue necesario realizar estudios de toxicidad. [12]

El reciente crecimiento del interés sobre el ESBO deriva de la petición sobre la investigación de la exposición a la que estaban sometidos los alimentos infantiles, que la EFSA (European Food Safety Authority) hizo en 2004. Este organismo recomendó el desarrollo de un límite específico de migración para el ESBO en las comidas de niños pequeños.

La toxicidad del ESBO fue profundamente evaluada, por primera vez, en 1988. El plastificante no presentó evidencias de carcinogenicidad ni genotoxicidad. Mostró una toxicidad muy baja cuando se experimentó con ratas. Tampoco se detectaron mutaciones ni efectos adversos.

Tras esto, el Comité Científico de Alimentación de la Unión Europea propuso una ingesta diaria de 1 mg por kilo de peso corporal, resultando como la migración máxima tolerable (60 kg para adultos) correspondiente a la migración total. Por esta razón, el ESBO fue autorizado como un aditivo sin límite de detección máximo en alimentos.

Por otra parte, los derivados del ESBO, como son las clorohidrinas (formadas por la interacción del ESBO con el ácido clorhídrico que resulta del proceso de degradación del PVC) y también algunos compuestos cíclicos, están siendo investigados para saber cuál es su verdadero proceso de migración al alimento, así como su estructura química y su toxicidad. [3]

Sin embargo, la ingesta diaria admisible fijada por el Comité Científico de la alimentación de la Unión Europea no tiene en cuenta las distintas exposiciones que hay entre diversos segmentos poblacionales (niños y adultos).

Los niños debido a su bajo peso corporal y a un mayor consumo de alimentos envasados en botellas, latas y tarros se encuentran más expuestos a esta sustancia. En el año 2003 se realizó un estudio sobre la contaminación de los alimentos para bebés. Las muestras para el estudio se compraron en distintos países de la Comunidad Europea, disponiendo un total de 248 muestras. Los resultados mostraron que 95 de las 248 muestras contenían ESBO con valores superiores a los permitidos, llegando a sobrepasar los 100 mg/kg. Además, se encontraron variaciones entre los niveles encontrados de ESBO, los

cuales no solo dependen de la naturaleza del producto alimenticio analizado, sino también de la forma de producción y el porcentaje de grasa. [13]

3.3.2. Normativa vigente.

Según el Reglamento (UE) N° 10/2011 de la comisión de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos, queda reflejado lo siguiente:

- El límite de migración global de 10 mg por 1 dm² corresponde, para un embalaje cúbico que contenga 1 kg de alimento, a una migración de 60 mg por kilogramo de alimento. En el caso de embalajes pequeños, para los que la relación entre superficie y volumen es mayor, la migración resultante es más alta. Para los lactantes y niños de corta edad, que consumen más cantidad de alimento por kilogramo de peso corporal y aún no tienen una nutrición diversificada, procede adoptar disposiciones especiales con objeto de limitar la ingesta de las sustancias cedidas por los materiales en contacto alimentario. A fin de permitir con embalajes de pequeño volumen la misma protección que con embalajes mayores, el límite de migración global para los materiales de contacto destinados a embalajes de alimentos para lactantes y niños de corta edad debe estar asociado al límite en el alimento, y no a la superficie del embalaje.
- En los últimos años se están desarrollando materiales plásticos para contacto alimentario que no constan solo de una capa plástica, sino que combinan hasta quince capas plásticas diferentes para obtener resultados óptimos de funcionalidad y protección de los alimentos, reduciendo al mismo tiempo los residuos de embalajes. En estos materiales u objetos plásticos multicapa, las capas pueden estar separadas de los alimentos por una barrera funcional. Esta barrera es una capa en el interior de los materiales y objetos en contacto con alimentos que impide la migración hacia los alimentos de las sustancias que se encuentran detrás de ella. Tras una barrera funcional pueden utilizarse sustancias no autorizadas, a condición de que cumplan determinados criterios y su migración se mantenga por debajo de un límite de detección dado. Tomando en consideración los alimentos para lactantes y otras personas especialmente sensibles, así como la amplia tolerancia analítica de los análisis de migración, conviene establecer un nivel máximo de 0,01 mg/kg de alimento para la migración de una sustancia no autorizada a través de una barrera

funcional. Las sustancias mutágenas, carcinógenas o tóxicas para la reproducción no deben utilizarse en los materiales u objetos en contacto con alimentos sin una autorización previa, por lo que no deben quedar amparadas por la noción de barrera funcional.

En los últimos años se están desarrollando materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos que combinan diversos materiales para obtener resultados óptimos de funcionalidad y protección de los alimentos, reduciendo al mismo tiempo los residuos de embalajes. Las capas plásticas de estos materiales y objetos compuestos multicapa deben cumplir los mismos requisitos de composición que las capas plásticas que no están combinadas con otros materiales. En los compuestos multicapa, procede aplicar la noción de «barrera funcional» a las capas plásticas separadas de los alimentos por una barrera funcional. Dado que con las capas plásticas se combinan otros materiales y aún no se han adoptado medidas específicas para estos materiales a escala de la UE, todavía no es posible establecer requisitos para los materiales y objetos multicapa finales. Por ello, no procede aplicarles límites de migración específica ni el límite de migración global, con la excepción del cloruro de vinilo monómero, sustancia para la que ya se ha establecido esta restricción.

- En el caso del ESBO, el límite de migración será de 60 mg/kg, excepto en el caso de los obturadores de PVC utilizados para sellar tarros de cristal que contengan preparados para lactantes y preparados de continuación, tal como se definen en la Directiva 2006/141/CEE, o alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad, tal como se definen en la Directiva 2006/125/CE, el límite de migración se reduce a 30 mg/kg. [10]

3.4. Fundamento básico de los equipos.

- Ultrasonidos: El ultrasonido (US) es la parte del espectro del sonido de la frecuencia de aproximadamente 16 kHz que está fuera del rango normal del oído humano. Una corriente eléctrica transmite su energía a un sistema mecánico que la convertirá en vibraciones de alta intensidad que generan ondas de ultrasonido. Los ultrasonidos generan, a su vez, vibraciones en el material objetivo. Los efectos químicos producidos por el US son derivados de la creación, expansión y destrucción de burbujas pequeñas que aparecen cuando un líquido se está irradiando por US. Este fenómeno, llamado cavitación, genera temperaturas altas y presiones en los puntos definidos dentro del líquido. La temperatura

de cavitación puede variar desde 1000 hasta 10000 K, más frecuentemente en el rango 4500-5500 K. [19]

- Resonancia magnético nuclear: es un fenómeno físico basado en las propiedades mecánico-cuánticas de los núcleos atómicos. Todos los núcleos que poseen un número impar de protones o neutrones tienen un momento magnético y un momento angular intrínseco, en otras palabras, tienen un espín semientero. La RMN aprovecha que los núcleos atómicos resuenan a una frecuencia directamente proporcional a la fuerza de un campo magnético ejercido, de acuerdo con la ecuación de la frecuencia de precesión de Larmor, para posteriormente perturbar este alineamiento con el uso de un campo magnético alterno, de orientación ortogonal.

- Infrarrojo: es un tipo de espectrometría de absorción que utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético. La espectrometría infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula, la distancia de enlace aumenta y los ángulos de enlace se mueven, obteniendo así una zona de flexión y otra de tensión. El infrarrojo corresponde con la región situada entre la luz visible y el microondas, aproximadamente se encuentra entre los 4000 cm^{-1} y los 400 cm^{-1} . [20]

- Infrarrojo cercano (NIR): El infrarrojo cercano corresponde con la región situada entre la luz visible y el infrarrojo medio, en este caso la región espectral se extendió desde los 9000 cm^{-1} hasta los 4000 cm^{-1} . Cuando una molécula se excita, sigue dando el mismo número de oscilaciones por segundo, pero con una mayor amplitud, es decir aumenta su energía vibracional. Esta amplitud va a ser directamente proporcional a la que se ha obtenido en el espectro infrarrojo (doble, triple, etc.) Con lo cual, es necesario saber cuáles son los picos obtenidos en el infrarrojo para después poder identificarlos en el NIR.

- Cromatografía líquida asociada a un masas triplecuadrupolo (HPLC-MS/MS-TQ) : La cromatografía líquida (LC) es un procedimiento que permite la separación, identificación y cuantificación, en cortos períodos de tiempo, de sustancias o grupos de sustancias, poco volátiles o térmicamente inestables, o que se transforman en sus derivados volátiles. Con el LC se pueden obtener tanto resultados cuantitativos como cualitativos. El análisis cuantitativo se basa en la medida de alturas y áreas de los picos cromatográficos que muestran la concentración de la sustancia a estudiar, en cambio el análisis cualitativo se basa en la identificación del analito en los tiempos de retención.

La espectrometría de masas (MS) utiliza el movimiento de iones en campos eléctricos y magnéticos para clasificarlos de acuerdo a su relación masa/carga (m/z). Las

sustancias químicas se identifican separando los iones gaseosos por la desviación que sufren. El espectrómetro requiere un trayecto de colisión libre para los iones y, por lo tanto, funciona al vacío o en condiciones casi de vacío.

El funcionamiento del triple cuadrupolo consiste en tres etapas:

- 1) El efluente previamente volatilizado e ionizado, pasa a través del primer cuadrupolo (Q1) donde se focaliza un ion en relación a su m/z .
- 2) Este ion (llamado ion precursor) es transferido a un segundo cuadrupolo (Q2) que se comporta como una célula de colisión donde interacciona con un gas de colisión y se fragmenta.
- 3) En un tercer cuadrupolo (Q3) se focaliza uno o varios de los iones producto proveniente de la fragmentación del ion precursor. [21]

4. OBJETIVOS.

- Caracterización de Aceite de Soja Epoxidado (ESBO) mediante técnicas espectroscópicas (IR, UV, MS y NMR)
- Determinación cualitativa de ESBO en simulantes usados en la norma (UNE-EN-1186-2)
- Búsqueda de un método cuantitativo para determinación de ESBO en simulantes.
- Búsqueda de un método sustitutivo al método oficial para extraer plastificantes de matrices poliméricas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1. Materiales y reactivos.

- Metanol (CH_3OH) al 99,9% de riqueza
Densidad = 0.792 kg/l
Peso molecular = 32.04 g/mol
- Acetonitrilo (CH_3CN) al 99.8% de riqueza
Densidad = 0.781 kg/l
Peso molecular = 41.05 g/mol
- Hexano HPLC (C_6H_{14}) al 95% de riqueza
Densidad = 0.663 kg/l
Peso molecular = 86.18 g/mol

- Hexano (C_6H_{14}) al 95% de riqueza
Densidad = 0.655 kg/l
Peso molecular = 86.18 g/mol
- Aceite de oliva virgen extra (Aceites Vado-Jaén)
- ESBO ($C_{57}H_{98}O_{12}$)
Densidad = 0.993 kg/l
Peso molecular = 974 g/mol
- Film de PVC (Flexia Films), cuya composición es:

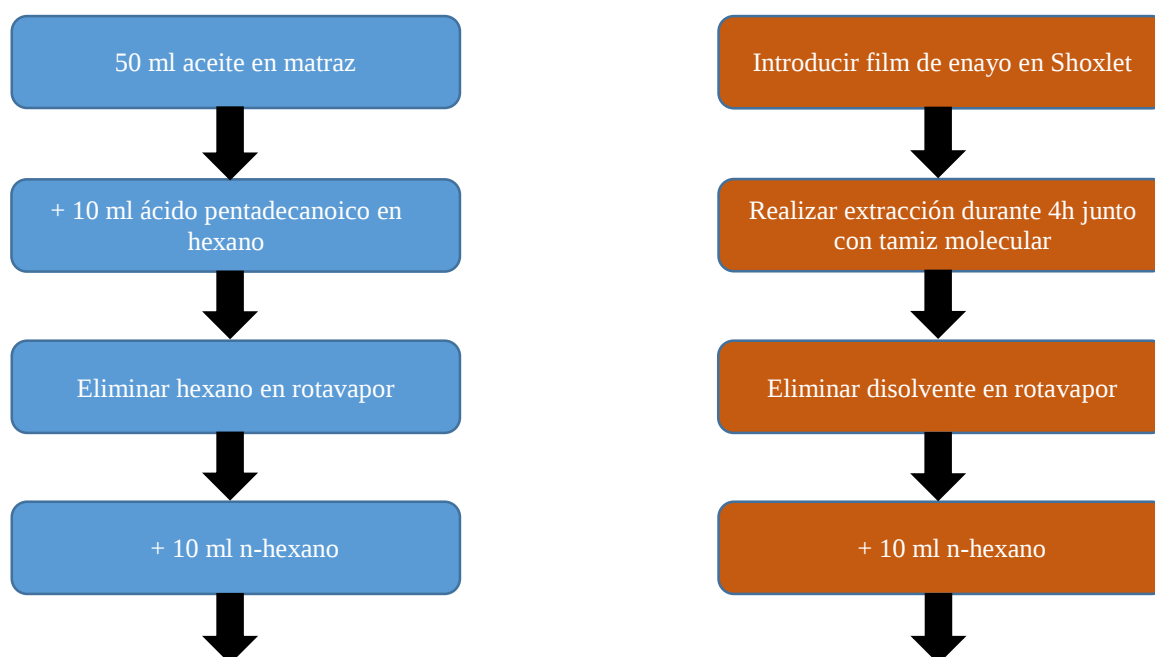
Porcentaje (%)	Tipo de material
72.2	PVC
1.2	Estabilizantes
7.2	ESBO
18	DOA
1.4	Lubricante

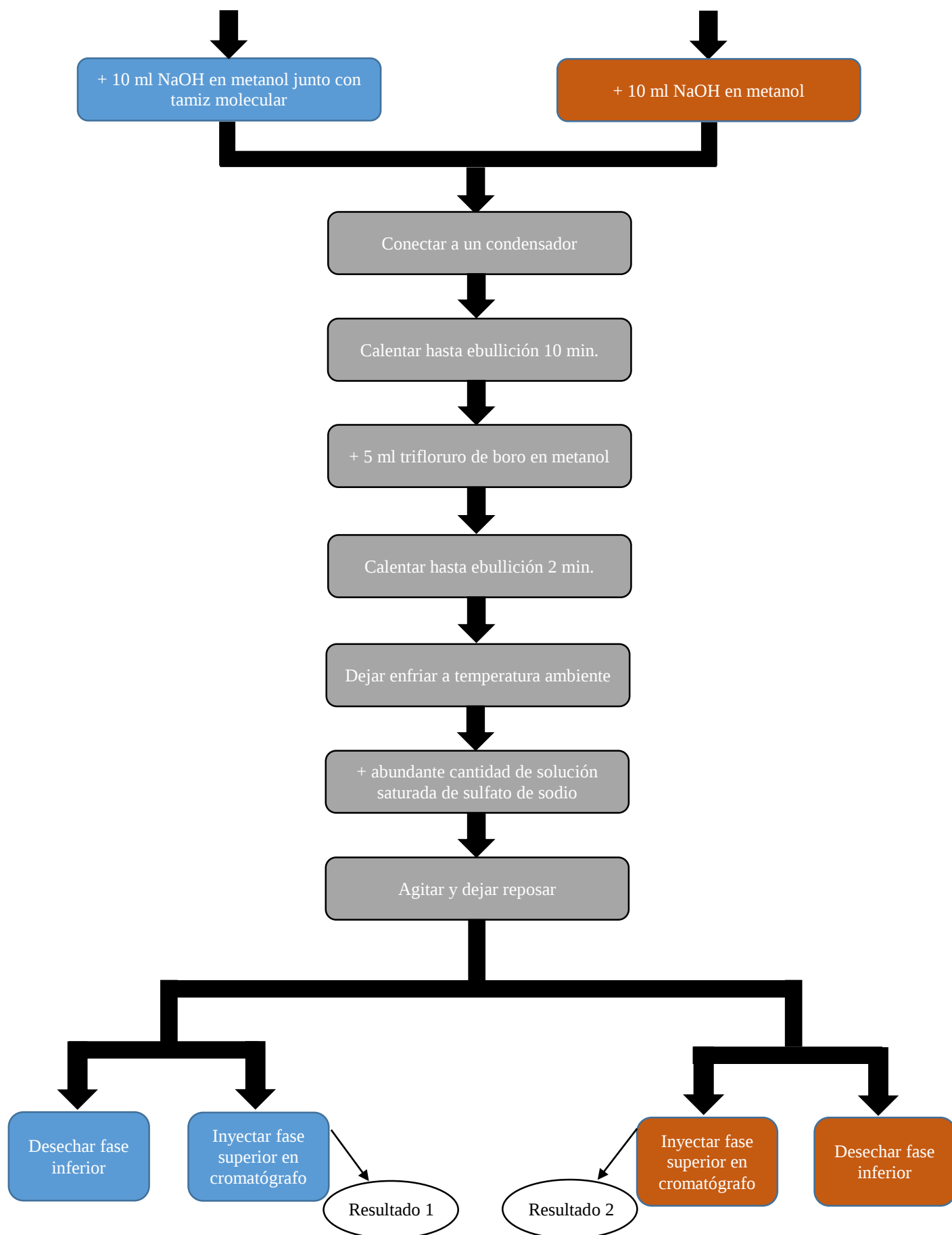
Tabla 4. Composición del Film.

5.2. Métodos.

5.2.1. Normativa vigente (UNE-EN-1186-2).

El procedimiento propuesto por la norma se expone en el siguiente diagrama de bloques.





- Comparar resultados 1 y 2

5.2.2. Estudio de migración.

Para realizar el estudio de migración se parte del mismo procedimiento que dice la norma UNE-EN 1186-2 [18], realizando una serie de modificaciones.

En primer lugar, se cortan 5 trozos de film con una dimensión de 10 x10cm (1dm²). Esos trozos de film se pesan en una balanza y se mete cada uno en un bote, al cual se le ha añadido previamente 100 ml de aceite de oliva virgen extra. Cada trozo de film se dobla alrededor de una malla metálica antes de añadirlo al bote. Esto se hace para que el film no se pegue entre sí y además para aumentar la superficie que está en contacto con el aceite. A continuación, se coge otro bote vacío, al que se le añadirá solo los 100 ml de aceite. Este servirá como blanco.

Ya que se han preparado todos los botes (5+blanco), se llevan a un baño termostático, en el que hay agua a 40°C. Los botes permanecerán allí durante diez días. Pasado este tiempo, se sacan todos los botes, se sacan los cinco trozos de film que contenían dentro, se les quita la malla metálica y se extienden sobre papel de filtro. Hay que quitarles el aceite superficial colocando más papel de filtro encima de las muestras. Se repetirá este procedimiento tantas veces como sea necesario, hasta que el papel de filtro no quede impregnado de aceite.

Una vez que se han realizado todos los pasos, se volverán a pesar los diferentes trozos de film y tras esto se guardarán en botes vacíos para su posterior uso. Por lo que quedarán seis botes con aceite (5+blanco) por un lado, y cinco trozos de film por el otro.

5.2.3. Ultrasonidos.

Este procedimiento de extracción asistida por ultrasonidos surgió como alternativa al método oficial, que consiste en extraer el aceite absorbido por el film mediante el método Soxhlet. Utilizando el ultrasonidos se ha llegado al mismo resultado de una manera mucho más sencilla y rápida.

Mientras que con el Soxhlet había que estar durante cuatro horas esperando a que se realizara la extracción completa y añadiendo hexano continuamente, con el ultrasonidos solo bastan 20 minutos y una pequeña cantidad de hexano.

Para ello se ha utilizado un equipo SONOPLUS Ultrasonic Homogenizers HD 3200 que trabaja con una potencia máxima de 200W (siendo de 100W la utilizada durante todas las repeticiones del experimento) y a frecuencia constante de 20kHz. En primer lugar, se

hicieron diferentes pruebas con pequeños trozos de film, para averiguar si el ultrasonidos era capaz de extraer todo el plastificante (7.2% ESBO + 18% DOA) que contenía el film.

Se introdujo un trozo de film, previamente pesado en la balanza, en un vaso de precipitado y se le añadieron 30 ml de hexano. Esto estuvo sometido a ultrasonidos mediante 5 minutos. A continuación, se filtró y se depositó el hexano con el plastificante en un matraz redondo, que anteriormente había sido tarado. Este matraz se llevó al rotavapor para eliminar el disolvente, quedando así únicamente el plastificante extraído del film en el matraz redondo.

Este procedimiento se repitió varias veces, aumentando el tiempo que la muestra estaba sometida a ultrasonidos, hasta alcanzar la mayor extracción de plastificantes posible (25.2% aproximadamente).

Una vez conocido el tiempo necesario que debía estar la muestra expuesta a ultrasonidos, se repitió el mismo procedimiento, pero ahora los films utilizados fueron los cinco que previamente habían estado en contacto con aceite durante 10 días. En este caso lo que se pretendía extraer era el aceite que había sido absorbido por el film y no el plastificante como en el caso anterior.



Figura 3. Equipo de ultrasonidos.

5.2.4. Resonancia magnético nuclear.

Para la adquisición del espectro de resonancia de protón ^1H -NMR utilizamos un Equipo Bruker de 400 MHz. En este método lo que se hizo fue introducir en un tubo de resonancia entre 10-15 mg de aceite con plastificante y se le añadió cloroformo deuterado, utilizando tetra-metil-silano (TMS) como patrón interno. Esta solución se introduce en el

equipo, obteniendo el espectro pasados unos minutos. Para el procesado de datos utilizamos el programa ACD/labs para la transformación de la FID.

El equipo muestra la señal de todos los protones que hay en la muestra, en este caso mostrará tanto los del aceite como los del ESBO.

5.2.5. Infrarrojo.

El equipo utilizado es un IR-FT Nicolet 20, utilizando ventanas de KBr y un barrido entre 400 a 4000 cm^{-1} . En primer lugar, se hace el blanco (equipo vacío), es de decir, se hace un barrido del aire. A continuación, se hará un barrido de cada sustancia (ESBO, aceite con y sin plastificante). Una vez que se tengan los tres espectros, se podrán comparar entre sí.

Al ser todas sustancias líquidas, se mete una gota de una de las sustancias entre dos láminas de bromuro potásico, y estas láminas se introducen en el equipo. Una vez que se ha realizado el barrido, se sacan las láminas y se limpian muy bien con metanol antes de introducir la siguiente sustancia. Este proceso de limpiado es esencial para que no haya ningún error en la medida. Las sustancias se meten puras, sin necesidad de diluirlas o preparar disoluciones con ellas. Por este motivo, este es un método bastante rápido y sencillo.

5.2.6. Espectroscopía del infrarrojo cercano (NIR).

El equipo utilizado es un FT-NIR Antaris (MDS) de Nicolet, trabaja en la región de 12.000 a 3.800 cm^{-1} .

La puesta a punto de este método es más sencilla aún que la del infrarrojo, una vez que se han metido los datos de la región espectral que se va a barrer, lo siguiente que se hace es depositar una pequeña cantidad de la sustancia pura que deseamos medir (ESBO, aceite con y sin plastificante) en una *ventanita* que posee el equipo. Al igual que en el apartado anterior, no es necesario preparar ningún tipo de disolución ni dilución. Lo que sí es muy importante es limpiar minuciosamente la *ventanita* con metanol antes de depositar en ella la siguiente sustancia que se quiere medir, para que dicha sustancia siga lo más pura posible, y no haya ninguna alteración de la misma, provocando así algún error en la medida.

5.2.7. Cromatografía líquida asociada a un masas triplecuadrupolo (HPLC-MS/MS-TQ).

En primer lugar, hay que poner a punto el equipo. A las condiciones de operación se llegan a base de probar diferentes estados, y buscando los que son óptimos.

Flujo	8 µl/s
Temperatura columna	30 °C
Volumen inyección	10 µl
Volumen descarga	1000 µl
Velocidad descarga	100 µl/s
Unidades presión	bar
Estabilidad presión	10.00
Presión gas Q2	1.5
Modo operación	Baja presión (0-7000 PSI)
Presión mínima	0.00
Presión máxima	600.00

Tiempo (min)	A%	B%	C%	µl/min
0	0	100	0	400
5	0	100	0	400
Disolvente A	Agua 0.1% Fórmico			
Disolvente B	MeCN 0.1% Fórmico			
Disolvente C	Acetona 0.1% Fórmico			

Tabla 5. Condiciones operación HPLC-MS/MS-TQ

Una vez que se puso a punto el equipo, lo primero que se hizo fue preparar varias disoluciones de ESBO en acetonitrilo, con unas concentraciones de 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm y 1 ppm. Esto se hizo para saber si el equipo era capaz de detectar diferentes concentraciones de ESBO.

A continuación, se introdujo en el equipo una muestra de aceite con plastificante, sacada de aquellos botes que se habían utilizado en el estudio de migración (bote 1), y se vio

con claridad que los picos que se obtenían correspondían con los del ESBO, por lo que se confirmó que este método era eficaz para detectar ESBO en aceite de oliva.

El siguiente paso fue realizar una recta de calibrado, con el fin de poder cuantificar la cantidad de plastificante que contenía el aceite. Para ello era necesario calcular primero, de manera teórica, la concentración de ESBO que había en el aceite (bote 1).

$$\text{Peso del film} = 0.0940 \text{ g}$$

$$\rho_{\text{aceite}} = 0.9200 \text{ g/ml}$$

$$\text{Cantidad de ESBO en el film: } 7.2\% \text{ de } 0.0940 \text{ g} = 6.768 \text{ mg ESBO}$$

$$100 \text{ ml aceite} * \frac{0.9200 \text{ g aceite}}{1 \text{ ml aceite}} * \frac{1 \text{ kg aceite}}{1000 \text{ g aceite}} = 0.092 \text{ kg aceite}$$

$$[\text{ESBO}] = \frac{\text{mg ESBO}}{\text{kg aceite}} = \frac{6.768 \text{ mg ESBO}}{0.092 \text{ kg aceite}} = 73.56 \text{ ppm}$$

Una vez conocida dicha concentración (73.56 ppm ESBO), se prepararon cinco disoluciones en acetonitrilo con diferentes concentraciones de ESBO (20, 40, 60, 80 y 100 ppm respectivamente). A continuación, se cogió un mililitro de cada disolución y se le añadieron 20 microlitros de aceite sin plastificante (blanco). Por último, se centrifugan (Selecta x5000 rpm, 10 min) y el sobrenadante se concentra a 400 microlitros y se inyecta 10 µl. A continuación, se muestra un diagrama de bloques en el que se puede observar mejor la sencillez de este método.

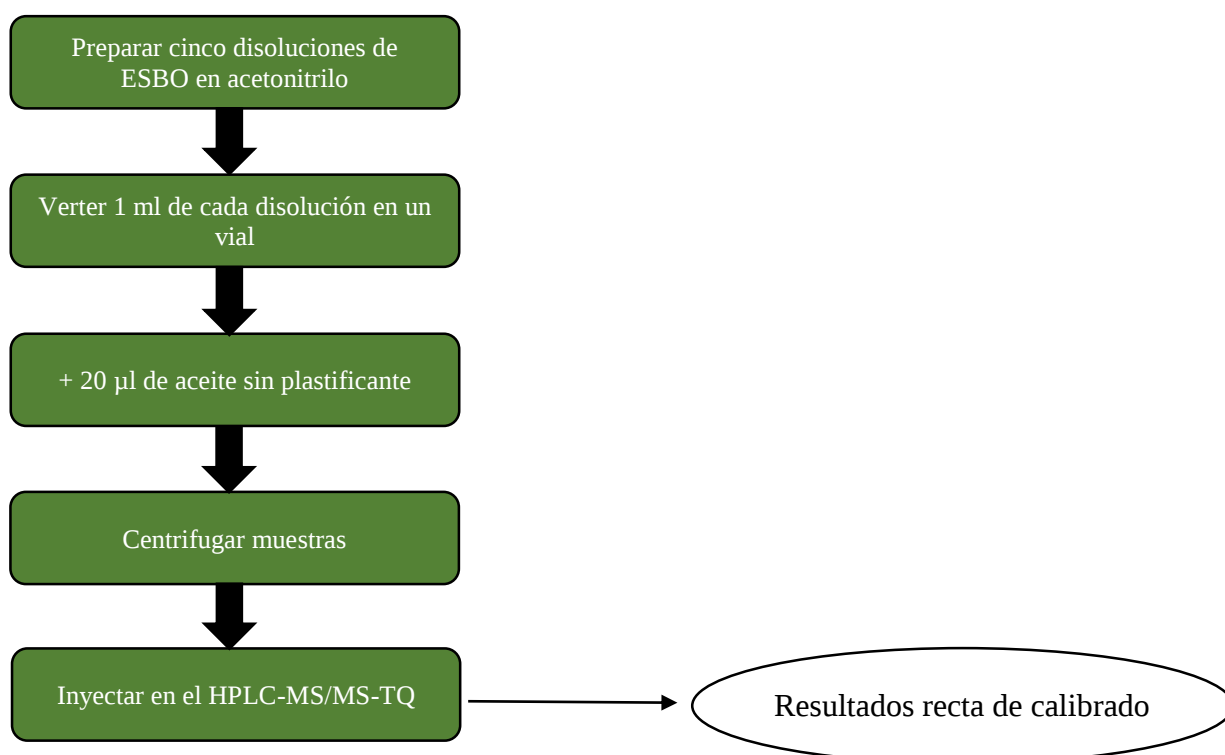




Figura 4. Equipo HPLC-MS/MS-TQ.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1. Migración y ultrasonidos.

A continuación, se recogen en la tabla 6 los pesos de los trozos de film antes de meterlos en aceite, así como una vez que han sido sacados y se les ha quitado el aceite superficial.

Número de muestra	Peso antes de introducirlo en aceite (g)	Peso tras quitar el exceso de aceite (g)
1	0.0955	0.1547
2	0.0920	0.1468
3	0.0870	0.1322
4	0.0990	0.1433
5	0.0994	0.1498

Tabla 6. Resultados estudio migración.

Como se puede observar, el peso del film después de estar metido en aceite y transcurridos los diez días del baño térmico, es mayor que el peso del mismo film antes de realizar ninguna operación.

Sin embargo, se puede apreciar claramente que no hay ninguna relación entre el peso inicial del film y su peso final. Además, si se calcula su desviación estándar se obtiene un valor de $\sigma=0.00757$, lo que indica que los pesos obtenidos pueden variar con facilidad.

Esto puede deberse a que el método para retirar el aceite superficial del film es muy impreciso, lo que da lugar a que se cometan grandes errores.

- Ultrasonidos

En el caso de la extracción asistida por ultrasonidos como ha sido mencionado anteriormente, las primeras pruebas que se hicieron fueron con un trozo de film sin alterar. Este fue sometido a ultrasonidos durante diferentes periodos de tiempo. Se comenzó en cinco minutos, y se fueron aumentando de cinco en cinco hasta llegar a veinte minutos, obteniendo los siguientes resultados.

- Film sometido a ultrasonidos durante cinco minutos.

$$\begin{array}{rcl}
 \text{Masa film} = 0.2613 \text{ g} & & \text{Peso matraz vacío} = 32.9656 \text{ g} \\
 + & & \text{Peso matraz con plastificantes} = 32.9863 \text{ g} \\
 30 \text{ ml hexano} & \left. \vphantom{\begin{array}{r} 0.2613 \\ + \\ 30 \end{array}} \right\} 5 \text{ minutos} &
 \end{array}$$

Haciendo la diferencia de pesos del matraz con plastificantes y el vacío, se obtiene una masa de plastificantes de 0.0207 g que, comparándola con la masa inicial del film, corresponde a un 7.92%. Este es el porcentaje de plastificantes que ha sido extraído. Si hacemos los mismos cálculos para todos los tiempos obtendremos los siguientes resultados. (Tabla 7)

Tiempo (min)	Peso film (g)	Hexano (ml)	Peso matraz vacío (g)	Peso matraz plastificantes (g)	Peso plastificantes (g)	Porcentaje plastificantes (%)
5	0.2613	30	32.9656	32.9863	0.0207	7.92
10	0.1875	30	32.9656	32.9951	0.0295	15.73
15	0.3190	30	32.9656	33.0279	0.0623	19.53
20	0.3351	30	32.9656	33.0488	0.0832	24.82

Tabla 7. Resultados extracción de plastificantes con ultrasonidos.

Como se puede comprobar, a medida que aumenta el tiempo de exposición de ultrasonidos, aumenta también la cantidad de plastificantes extraídos del film. Teniendo en cuenta que el film contiene un 25.2% de plastificantes, se consigue llegar casi a la extracción total de los mismos (98.5%) a los veinte minutos. Esto servirá para saber cuánto

tiempo han de estar expuestos a ultrasonidos los films que contienen aceite, para que se consiga la mayor extracción de la grasa.

Según la norma, cuando el film estuvo en contacto con el aceite y sometido al baño térmico, lo que tuvo lugar fue una migración del plastificante contenido en el film al aceite, ocupando este los huecos en los que había ESBO y del DOA. Por lo tanto, si ahora se someten esos cinco trozos de film a ultrasonidos y se extrae todo el aceite que contienen, debería de extraerse también un 25.2% de aceite aproximadamente.

Se repitió el mismo procedimiento explicado anteriormente con los cinco trozos de film a los que ya se les habían retirado el aceite superficial. Todos estuvieron sometidos a ultrasonidos durante 20 minutos. Los resultados se muestran en la tabla 8.

Muestra	Peso film (g)	Hexano (ml)	Peso matraz vacío (g)	Peso matraz plastificantes (g)	Peso plastificantes (g)	Porcentaje plastificantes (%)
1	0.0955	30	32.9656	33.0023	0.0367	38.43
2	0.0920	30	32.9656	33.0015	0.0359	39.02
3	0.0870	30	32.9656	32.0047	0.0391	44.94
4	0.0990	30	32.9656	33.0106	0.0450	45.45
5	0.0994	30	32.9656	33.0102	0.0446	44.87

Tabla 8. Resultados extracción de aceite con ultrasonidos.

Si bien, los resultados no son los esperados. El film absorbe mucha más cantidad de aceite que plastificantes contiene.

6.2. Resonancia magnético nuclear.

Como se ha dicho en el apartado 5.2.3, el equipo va a mostrar todos los protones que hay en la muestra.

La concentración de ESBO que había en la muestra era muy pequeña, por lo que, al introducir la muestra en el equipo, en el resultado que se obtuvo no se apreciaba el protón que contenía el ESBO, esa señal se confundía con un ruido. Lo que se hizo fue acumular scan, es decir, hacer repetidos espectros, lo cuales el equipo va sumando, consiguiendo así que la intensidad del protón del ESBO aumente.

Pasadas cuatro horas, el resultado de la suma de todos los espectros realizados fue el siguiente. (Figura 5)

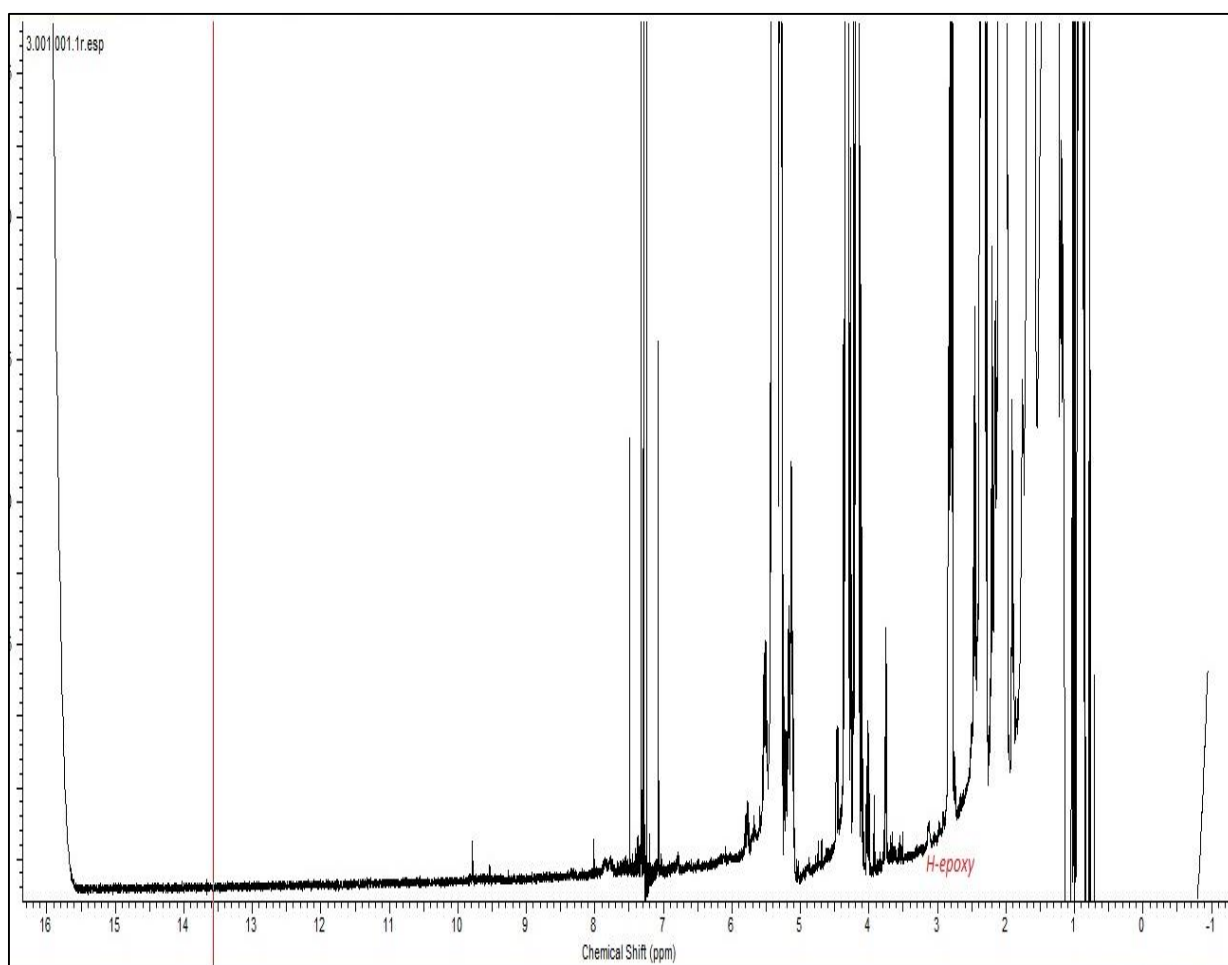


Figura 5. Espectro resonancia magnético nuclear de ESBO

Se puede ver con claridad que el pico que hace referencia al protón del epóxido que contiene el ESBO (3.1 ppm aproximadamente), es muy pequeño, acumulando scans durante 4 horas (Figura 5), podemos ver que no es suficiente para hacer una cuantificación directa mediante NMR por lo que este método para determinar ESBO no es económicamente viable.

6.3. Espectroscopía infrarroja y NIR.

Los resultados obtenidos de los tres espectros realizados fueron los siguientes. (Figura 6,7 y 8)

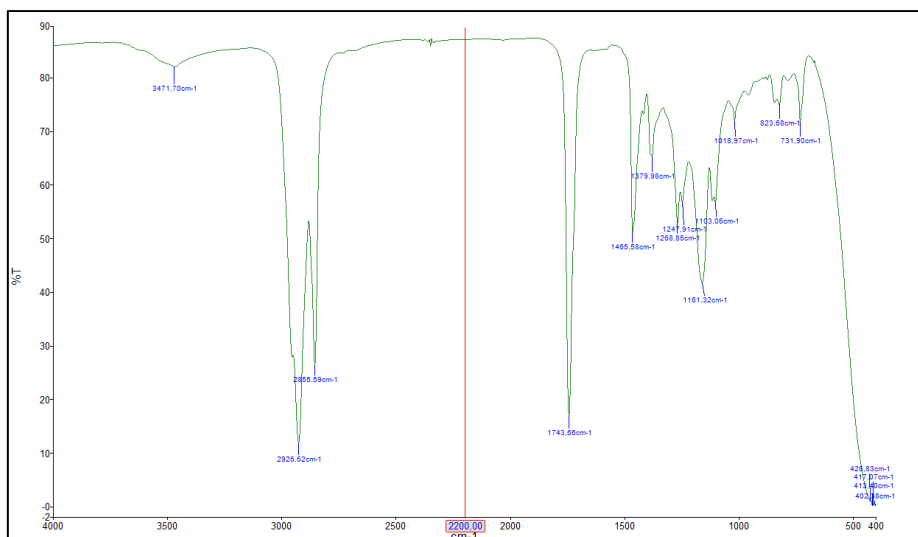


Figura 6. Espectro infrarrojo ESBO.

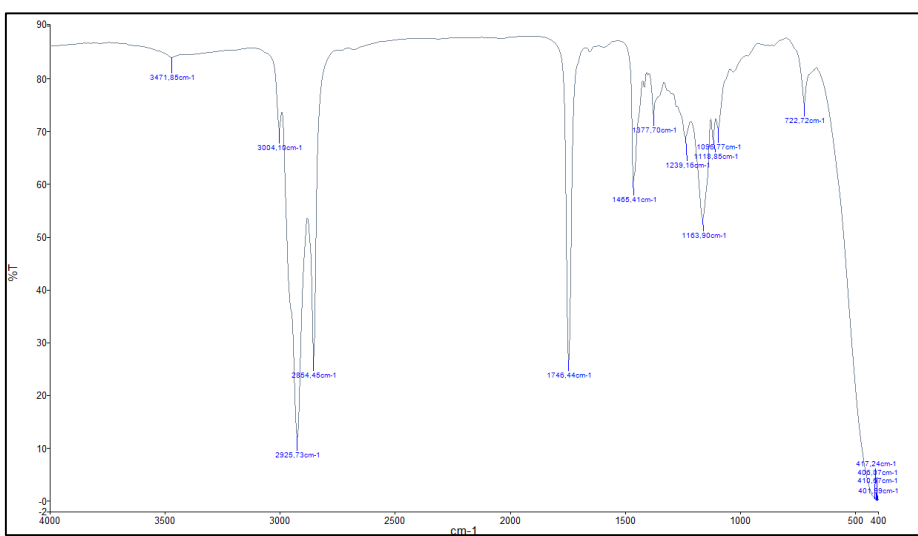


Figura 7. Espectro infrarrojo aceite con plastificante.

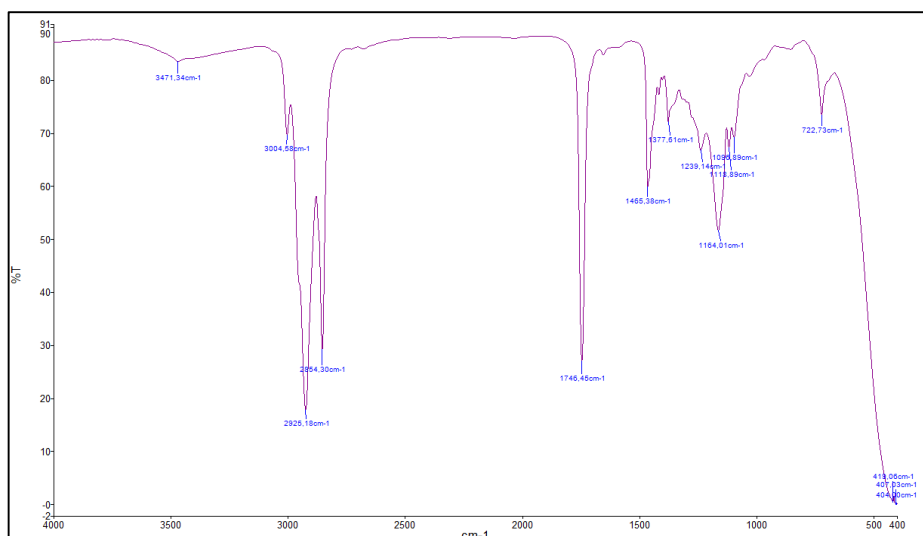


Figura 8. Espectro infrarrojo aceite sin plastificante.

El ESBO presenta una banda debida al epóxido a $823,68\text{ cm}^{-1}$.

Para detectar ESBO en el aceite de oliva, se debería de ver un pico característico de este espectro (figura 5), en el espectro del aceite con plastificante (Figura 6).

Comparando los tres espectros, a simple vista, ya se puede ver que son muy similares entre sí. Pero para tener una visión algo más exacta, se representaron los tres espectros a la vez. (Figura 9)

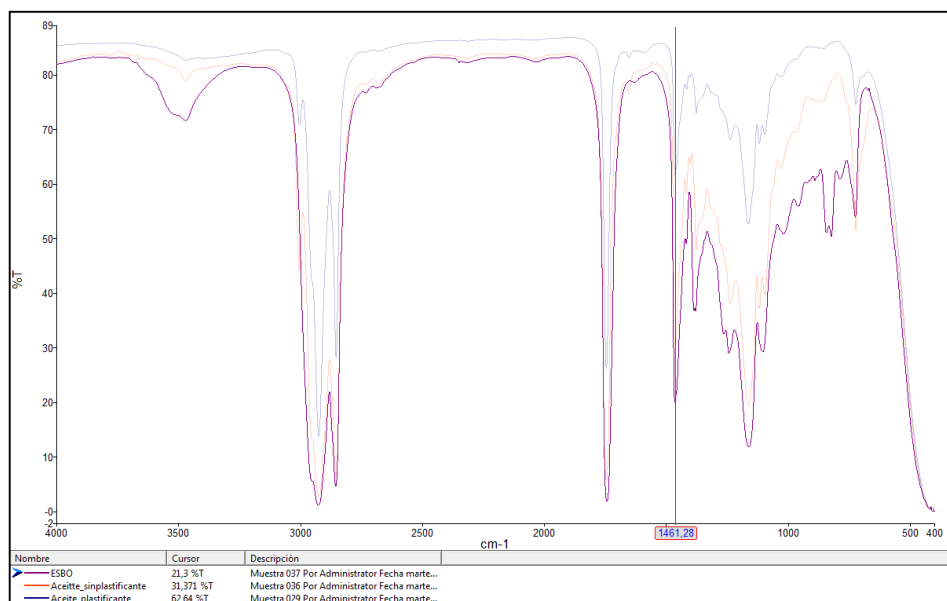


Figura 9. Comparación de espectros (ESBO, aceite con y sin plastificante).

Como se puede ver, la afirmación que se había hecho era correcta. No se aprecia una clara diferencia entre los picos que se obtienen de cada sustancia. Por lo tanto, este método tampoco sirve para determinar y cuantificar ESBO.

- Infrarrojo cercano (NIR).

El inconveniente del NIR es que la intensidad de este equipo con respecto a la obtenida en la señal del infrarrojo es mucho menor, ya que la cantidad de moléculas que aumentan su energía vibracional es muy pequeña.

Lo bueno de esta técnica es que, si es cuantitativa, al contrario que el infrarrojo. Por lo tanto, estos dos métodos van unidos, por una parte, es necesario hacer el infrarrojo para obtener los picos característicos de cada sustancia, para más tarde en el NIR, ver si se puede identificar alguna proporcionalidad entre ese espectro y los anteriores, para así poder cuantificar ESBO.

Otro inconveniente de este procedimiento, es que se necesita calibrar muy bien las muestras para obtener un resultado correcto sin error.

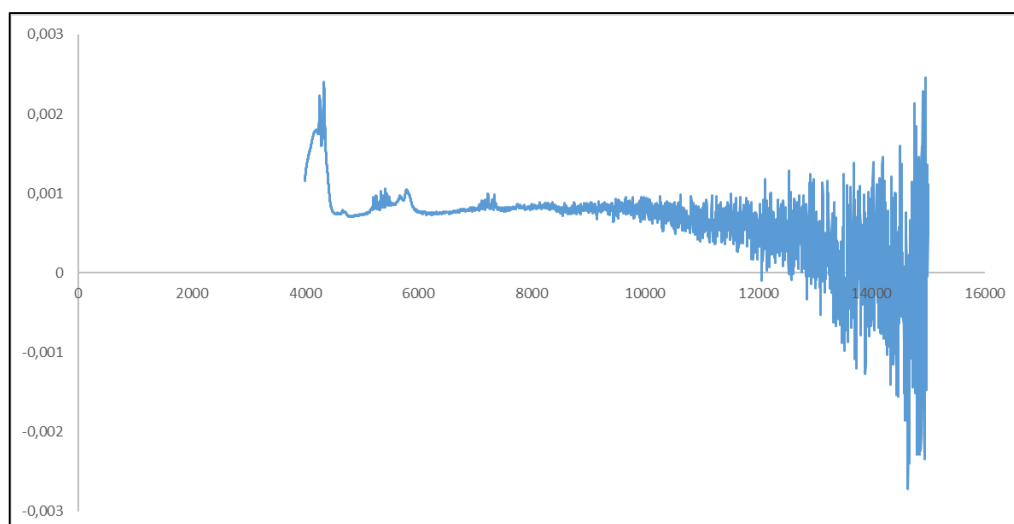


Figura 10. Espectro NIR aceite con plastificante.

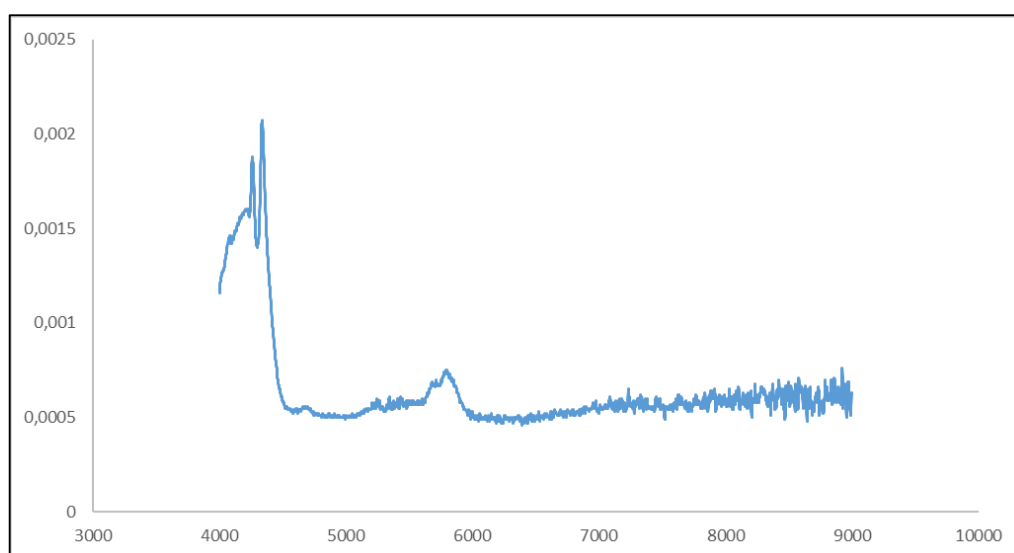


Figura 11. Espectro NIR ESBO.

Como se ha dicho en el apartado del infrarrojo, la banda que se observa a 823.68cm^{-1} corresponde a la producida por el epóxido del ESBO. Por lo tanto, en el espectro del NIR deberíamos de encontrar múltiplos de esta banda. En este caso la banda que se observa es del orden de 5720 cm^{-1} aproximadamente, pero su señal es muy pequeña.

6.4. HPLC-MS/MS-TQ

Como se ha mencionado anteriormente, se introdujeron muestras de ESBO con diferentes concentraciones, obteniendo en ellas los mismos picos. (Figura 12)

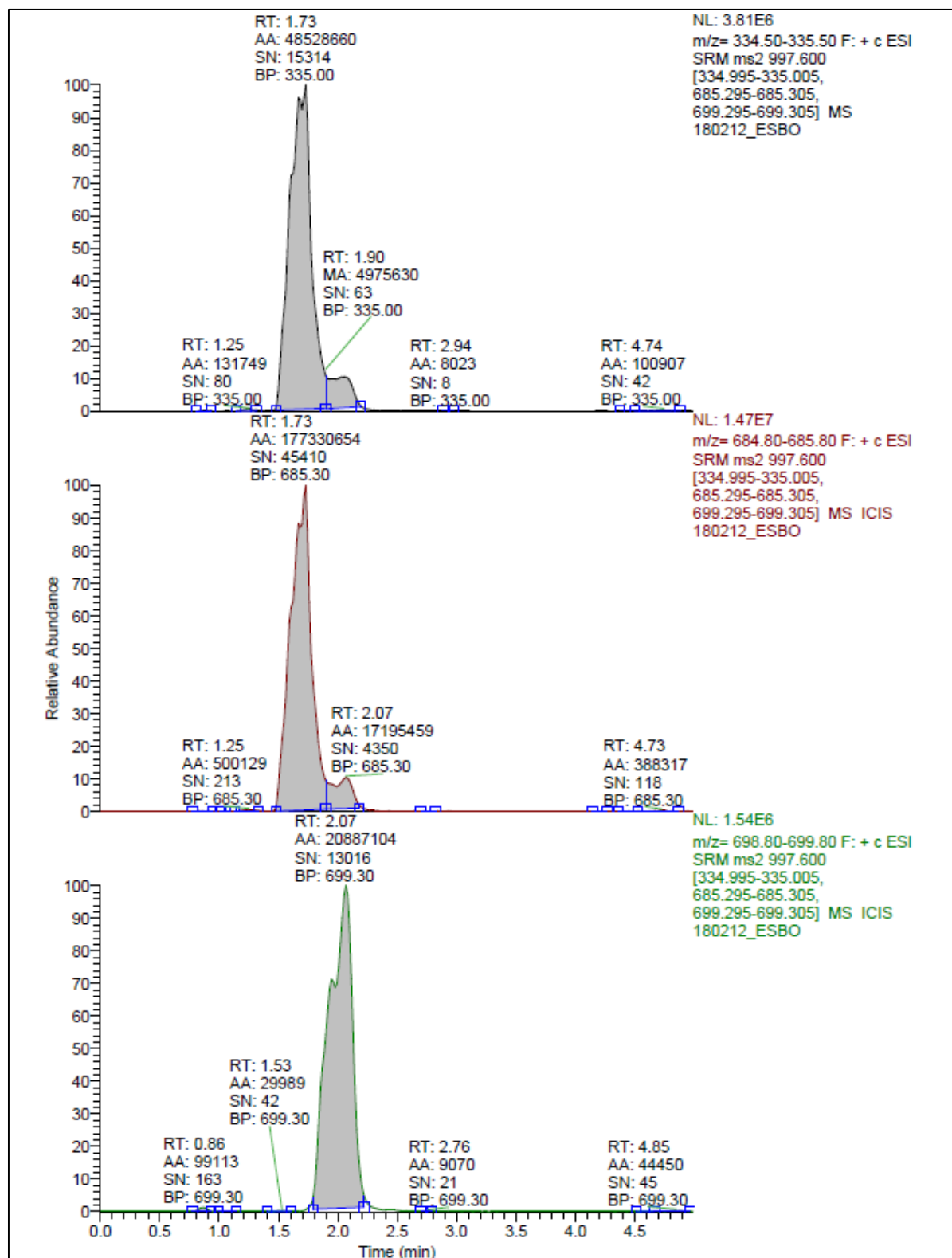


Figura 12. Diagrama ESBO 10 ppm.

A continuación, se introdujo la muestra de aceite más plastificante. (Figura 13)

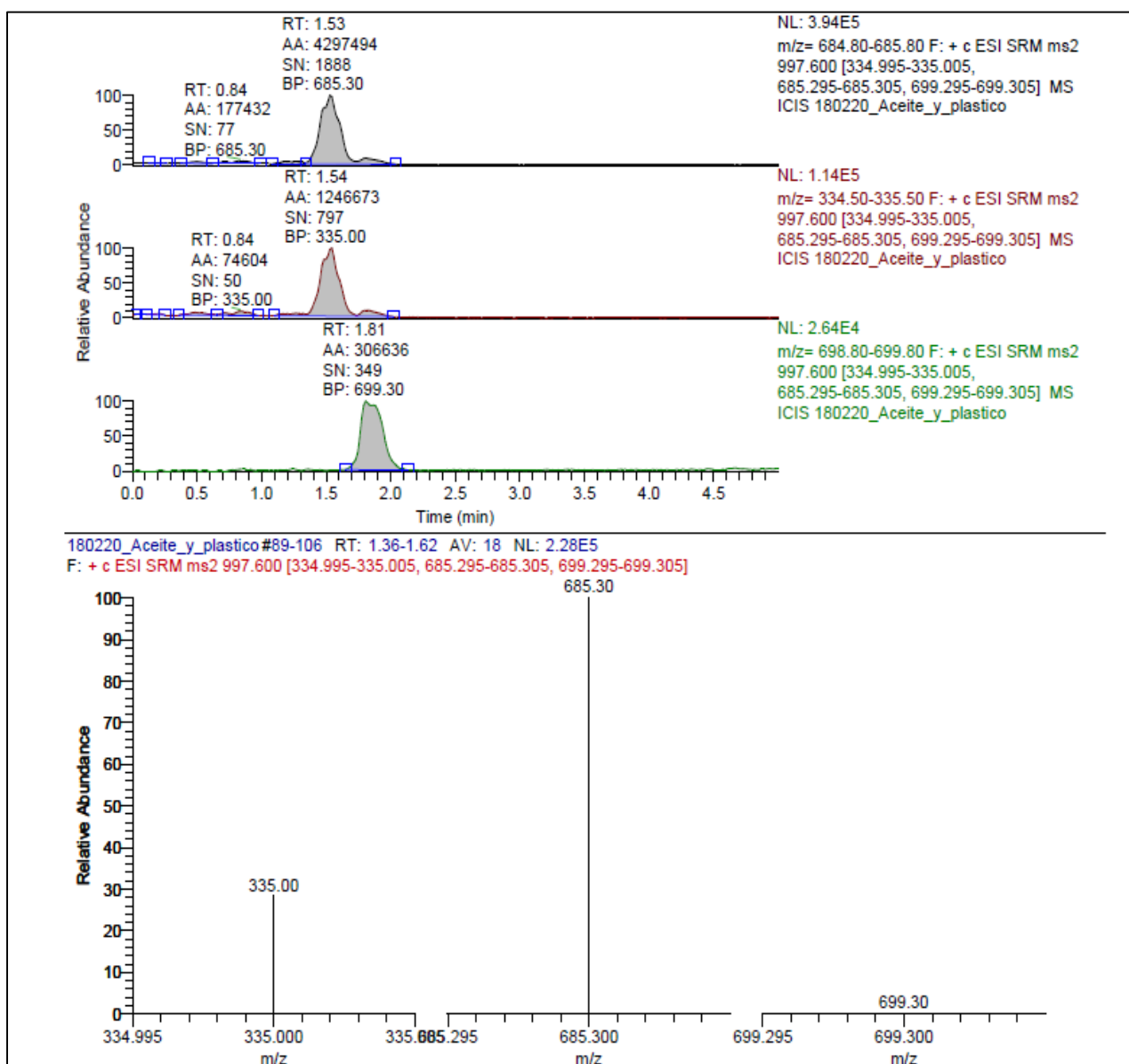


Figura 13. Diagrama aceite más plastificante.

Como se aprecia en la imagen, los picos del ESBO se observan también en la muestra de aceite más plastificante, por lo que se demuestra que este método es válido para determinar ESBO. Ahora sólo queda poder cuantificarlo y para ello es necesario realizar la recta de calibrado.

- Recta de calibrado.

Una vez preparadas las cinco disoluciones mencionadas anteriormente (20, 40, 60, 80 y 100 ppm de ESBO respectivamente), se introducen en el equipo obteniendo los siguientes diagramas. (Figuras 14, 15, 16, 17 y 18)

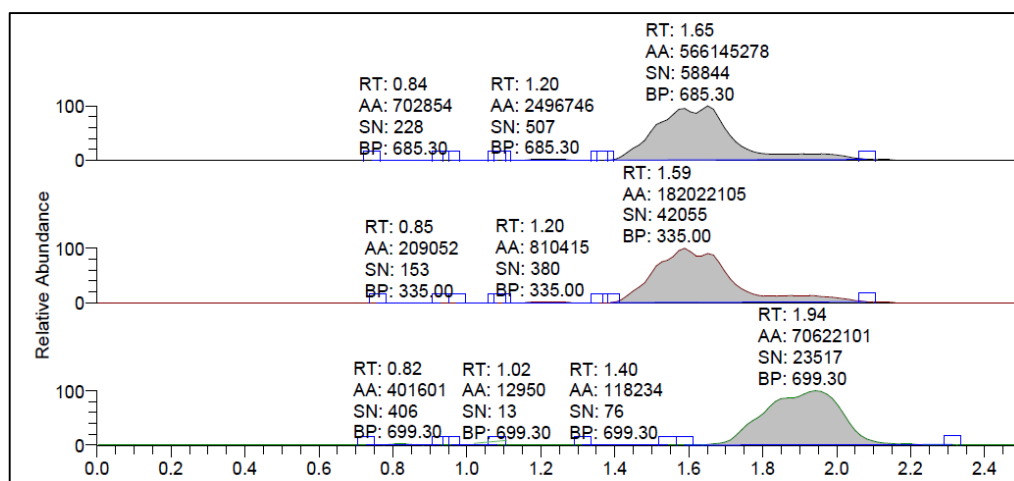


Figura 14. Diagrama ESBO 20 ppm.

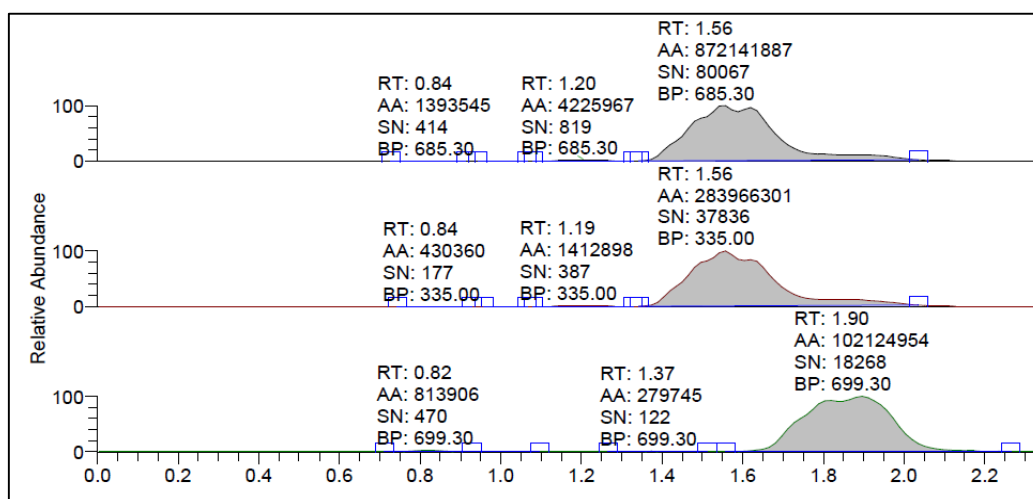


Figura 15. Diagrama ESBO 40 ppm.

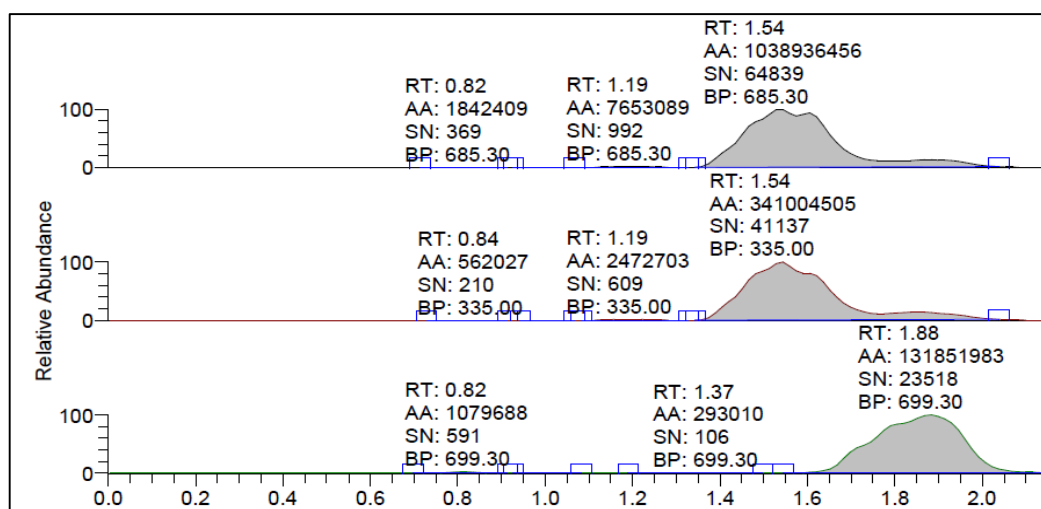


Figura 16. Diagrama ESBO 60 ppm.

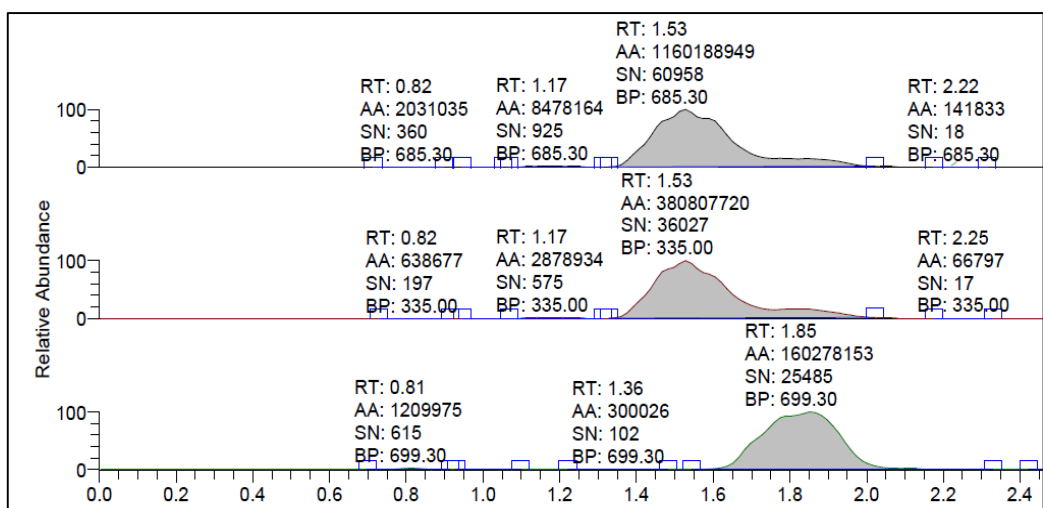


Figura 17. Diagrama ESBO 80 ppm.

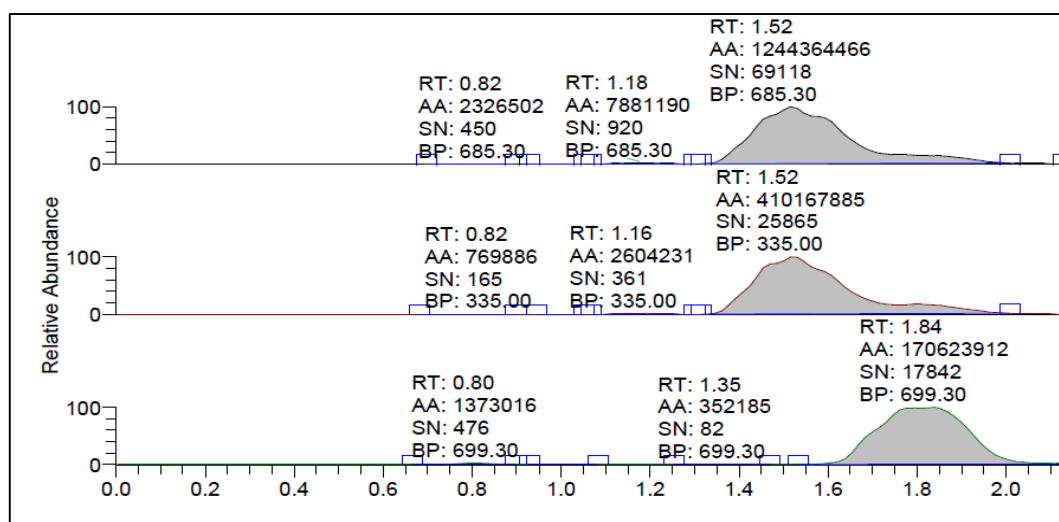


Figura 18. Diagrama ESBO 100 ppm.

Los resultados que se recogen en la siguiente tabla resumen. (Tabla 9)

	20 ppm ESBO		40 ppm ESBO		60 ppm ESBO		80 ppm ESBO		100 ppm ESBO	
PICOS	Tiempo retención	Área	Tiempo retención	Área	Tiempo retención	Área	Tiempo retención	Área	Tiempo retención	Área
335,00	0,85	209052	0,84	430360	0,84	562027	0,82	638677	0,82	769886
	1,20	810415	1,19	1412898	1,19	2472703	1,17	2878934	1,16	2604231
	1,59	182022105	1,56	283966301	1,54	341004505	1,53	380807720	1,52	410167885
685,30	0,84	702854	0,84	1393545	0,82	1842409	0,82	2031035	0,82	2326502
	1,20	2496746	1,20	4225967	1,19	7653089	1,17	8478164	1,18	7881190
	1,65	566145278	1,56	872141887	1,54	1038936456	1,53	1160188949	1,52	1244364466
699,30	0,82	401601	0,82	813906	0,82	1079688	0,81	1209975	0,80	1373016
	1,40	118234	1,37	279745	1,37	293010	1,36	300026	1,35	352185
	1,94	70622101	1,90	102124954	1,88	131851983	1,85	160278153	1,84	170623912

Tabla 9. Resultados recta de calibrado.

Si bien, en cada diagrama observamos tres picos o iones (335.0, 685.3 y 699.3). El ion mayoritario, como se puede observar en la figura 13, es 685.3, por lo que los cálculos posteriores que se necesiten hacer, se tienen que hacer con respecto a los datos obtenidos en ese pico.

Por el contrario, los otros dos iones son secundarios, pero a su vez son imprescindibles para poder realizar todas las rectas de calibrado. Estas rectas son necesarias para poder cuantificar la cantidad de ESBO que contiene el aceite, por lo que estos dos iones también pueden llamarse cualificadores.

En cada recta se va a representar el área frente a la concentración de ESBO. Teniendo en cuenta que hay tres iones con tres tiempos de retención diferentes cada uno, se podrán realizar un total de nueve rectas de calibrado. Un ejemplo de recta sería el siguiente. (Figura 19)

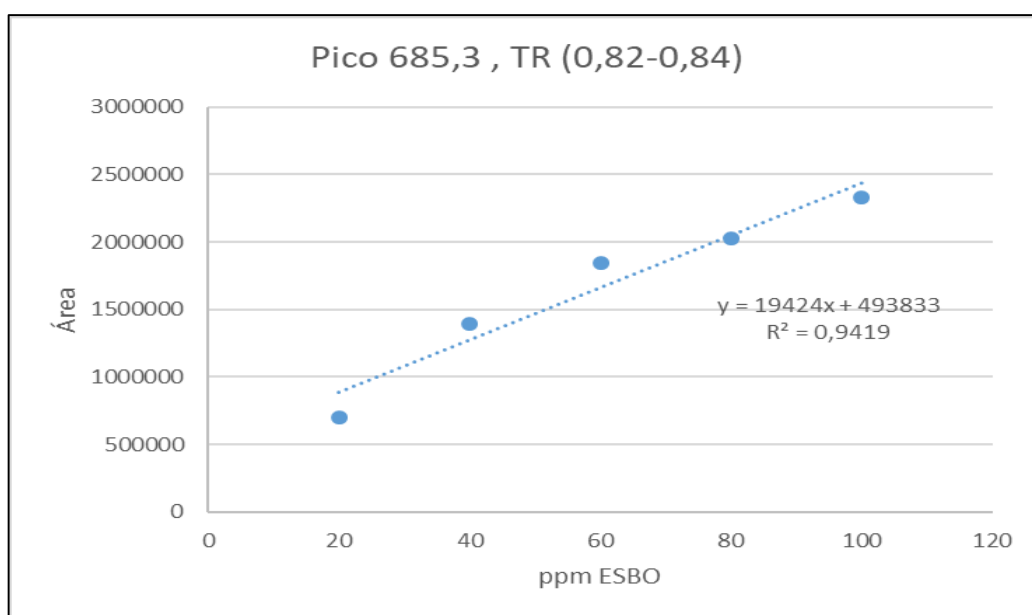


Figura 19. Recta calibrado ion 685.3 tiempo retención 0.82-0.84

Todas las demás se construyen de la misma manera, llegando así a obtener las diferentes ecuaciones que se recogen en la siguiente tabla. (Tabla 10)

RECTAS DE CALIBRADO			
Picos	Tiempo retención	Ecuación rectas	R ²
335	0,82-0,85	$y = 6649,9x + 123005$	0,9666
	1,16-1,20	$y = 25268x + 519736$	0,8200
	1,52-1,59	$y = 3E+06x + 2E+08$	0,9384
685,3	0,82-0,84	$y = 19424x + 493833$	0,9419
	1,18-1,20	$y = 75105x + 2E+06$	0,8138
	1,52-1,65	$y = 8E+06x + 5E+08$	0,9368
699,3	0,80-0,82	$y = 11694x + 273968$	0,9443
	1,35-1,40	$y = 2440,9x + 122185$	0,7613
	1,84-1,94	$y = 1E+06x + 5E+07$	0,9756

Tabla 10. Resumen rectas de calibrado.

Una vez que se tienen todas las rectas de calibrado, se puede calcular de manera experimental la concentración de ESBO que hay en el aceite, y comprobar si corresponde con la calculada en el apartado 5.2.6 (73.56 ppm) de manera teórica.

Para ello, se utilizan los datos del aceite más plastificantes (Figura 13). Como ya se ha dicho, se van a utilizar los datos correspondientes al ion mayoritario (685.3) y a un tiempo de retención de 1.53. Para estas condiciones se obtiene un área de 4297494. Con esta área se entra en la recta de calibrado correspondiente y se calcula la concentración de ESBO.

$$y = 8 * 10^6 x + 5 * 10^8$$

$$4297494 = 8 * 10^6 x + 5 * 10^8$$

$$x = -61.963 \text{ ppm}$$

Como se ve, el resultado obtenido no corresponde con el esperado. Esto puede deberse a que hay que afinar este método, en cuanto a las disoluciones preparadas para hacer la rectas de calibrado. Se hizo una aproximación, sin tener conocimiento alguno de los resultados que se iban a obtener. Y aunque los coeficientes de regresión de las rectas son bastante buenos, es necesario realizar algunos cambios para que se pueda conseguir poder cuantificar ESBO.

También puede deberse a que la norma esté equivocada, y no sea verdad que migre al aceite el 7.2% de ESBO que contiene el film. Pero para saber cuál es el error y llegar a afinar el procedimiento, es necesario hacer más trabajo experimental.

7. CONCLUSIONES.

- Proponemos un sistema alternativo a la cuantificación indirecta de plastificantes en simulantes descrita por la norma (UNE-EN-1186-2).
- Entre los inconvenientes del método normalizado, es de destacar el error generado al eliminar el exceso de aceite que contiene el film, ya que es muy aleatorio y está sometido a percepción sensorial de la presencia/ausencia de manchas en el papel de filtro.
- La introducción de la extracción asistida por ultrasonidos, presenta una serie de ventajas con respecto al método normalizado (extracción líquido-líquido en continuo mediante un Soxhlet), como son el porcentaje de extracción de plastificantes, el tiempo necesario para ello y la facilidad del procedimiento.
- Aunque se sigue cometiendo el error mencionado anteriormente, con esta técnica, se llegó a la conclusión de que la cantidad de aceite que absorbe el film no es proporcional a la cantidad de plastificantes que hay en él, como afirma la norma.
- El método de resonancia magnético nuclear es sencillo, pero económicamente inviable, debido a la cantidad de espectros que se necesitan hacer. Quizás si la concentración de ESBO de la muestra fuese mayor, el equipo si sería capaz de determinarlo sin necesidad de acumular scan.
- Las técnicas del infrarrojo y el NIR son también bastante sencillas y rápidas. El inconveniente es que, aunque se confirma la presencia de ESBO, gracias a la banda de su epóxido, el resto de las señales del triglicérido se solapan y además la calibración del NIR para cuantitativo requiere la realización constante para cubrir el rango de concentraciones necesarias.
- Tras probar diferentes técnicas nulas, proponemos la técnica, (HPLC-MS/MS-TQ) como la óptima para determinar y cuantificar la concentración de plastificante ESBO en films de PVC.
- La puesta a punto de un procedimiento basado en el uso de HPLC-MS/MS-TQ sería el último paso para correlacionar el cálculo de migraciones globales con nuestro procedimiento y el normalizado.

- Con este método que hemos mencionado y que hay que terminar de poner a punto, se podría confirmar o desmentir las sospechas que han surgido de si la norma está o no equivocada, como ya ha sido comprobado en relación a la migración del plastificante.
- Se puede concluir con un resultado muy satisfactorio. El objetivo principal de este trabajo fin de grado, que era determinar ESBO en simulantes se ha cumplido. Además, hemos sido capaces de encontrar un procedimiento para cuantificarlo, del cual no había conocimiento hasta ahora. Y por último hemos demostrado la falsedad de lo expuesto en una normativa que sigue vigente a día de hoy.

8. BIBLIOGRAFÍA.

1. <http://www.ub.edu/cmematerials/es/content/policloruro-de-vinilo>. Universitat de Barcelona.
2. Garrido, L., Ibarra, L., Marco, C. “Ciencia y Tecnología de los materiales poliméricos”. Volumen II. Madrid: Instituto de la ciencia y tecnología de polímeros (CSIC), 2004.
3. Suman, M., La Tegola, S., Catellani, D., Bersellini, U. “Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry Method for the Determination of Epoxidized Soybean Oil in Food Products” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Parma (Italia), 2005.
4. Bueno, C. “Bio-compuestos termoplásticos basados en aceites vegetales. Estudio de su aplicabilidad al envasado de alimentos”. Alicante: Universidad de Alicante, 2012.
5. Navia, P., Ayala, A., Villada, H. “Interacciones empaque-alimento: migración” Colombia: Revista Ingenierías Universidad de Medellín, 2013/2014
6. L. Reinas et al., “Migration of two antioxidants from packaging into a solid food and into Tenax”, *Food Control*, vol 28, n.º 2, pp. 333-337, 2012.
7. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación, ICONTEC. NTC 4606. Plásticos. Determinación de la migración de los plastificantes. Colombia: ICONTEC, 1999.
8. Kim, H., Gilbert, S., Johnson, J. “Determination of potential migrants from rubber gaskets of commercial aerosol valves used in food packaging”, *Journal of Food Science*, vol. 54, n.º 2, pp. 465- 467, 1989.
9. Soyabean oil, epoxidated. Interfat naturals Oils. Barcelona, 2014

10. REGLAMENTO (UE) No 10/2011 DE LA COMISIÓN de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. Diario oficial de la Unión Europea.
11. Wypych, G. Handbook of plasticizers. ChemTec, Toronto, Canadá, (2004).
12. The British Industrial Biological Research Association Industrial (BIBRA). Toxicity profile: epoxidised soy Bean oil. UK. (1997)
13. Simoneau, C., Fantoni, L. European survey of contamination of homogenized baby food by epoxidized soybean oil migration from plasticized PVC gaskets. Food Additives and Contaminants, 20(4): 1087-1096. (2003)
14. Unión Europea. Directiva 2006/141, de 22 de diciembre de 2006, relativa a los preparados para lactantes y preparados de continuación y por la que se modifica la Directiva 1999/21/CE. Diario oficial de la Unión Europea, 30 de diciembre de 2006, núm. 401, pp. 1-33.
15. Bruera, Suárez. “El PVC (Policloruro de vinilo)”. UCA: Universidad Católica Argentina. Facultad de Química e Ingeniería “Fray Rogelio Bacon”.
16. <http://archivo-es.greenpeace.org/espana/es/Trabajamos-en/Parar-la-contaminacin/lasticos/Datos-sobre-la-produccion-de-plasticos/>
17. <https://www.molinstincts.com/chemical-formula/ESBO-cfml-CT1095498512.html>
18. AENOR. Materiales y artículos en contacto con productos alimenticios. Plásticos. Parte 2: Métodos de ensayo para la migración global en aceite de oliva por inmersión total. UNE-EN-1186-2. Madrid: AENOR, 2002.
19. Kharisov, B., Ortiz, U. “Uso del ultrasonido en procesos químicos”. UNAL: Universidad Nacional de Colombia. Septiembre-Diciembre 1999.
20. https://www.espectrometria.com/espectrometra_infrarroja

21. Giménez, A., Moragues, F., Hernández, P., “Desarrollo y validación de un método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia con detección por espectrometría de masas para la determinación de antiinflamatorios no esteroideos en leche y tejido muscular de origen animal”. Universidad Politécnica de Valencia. Septiembre 2012.