



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Escuela Politécnica Superior de Linares

Trabajo Fin de Grado

Determinación de plastificantes en simulantes mediante HPLC-MS

Alumno: Ángel Vila Rodríguez

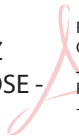
Tutor: Antonio J. Ortiz Hernández

Depto.: Química Inorgánica y Orgánica

Febrero, 2021

Firmado digitalmente por
VILA RODRIGUEZ ANGEL - 26257039D
Fecha: 08/02/2021
Con un certificado emitido por AC FNMT Usuarios

ORTIZ
HERNANDEZ
ANTONIO JOSE -
52550569P



Firmado digitalmente por
ORTIZ HERNANDEZ ANTONIO
JOSE - 52550569P
Fecha: 2021.02.02 10:11:41
+01'00'

ÍNDICE DEL CONTENIDO

1. RESUMEN	8
2. ABSTRACT	8
3. INTRODUCCIÓN	9
4. ANTECEDENTES	10
4.1. Materiales poliméricos en contacto con alimentos	10
4.1.1. Policloruro de vinilo (PVC)	10
4.1.2. Obtención del policloruro de vinilo	11
4.1.3. Films de policloruro de vinilo	12
4.2. Uso de aditivos en el policloruro de vinilo	13
4.3. Plastificantes	13
4.3.1. Teorías sobre la plastificación	13
4.3.2. Etapas que suceden en la plastificación	14
4.3.3. Tipos de plastificantes usados en policloruro de vinilo	15
4.4. Aceites vegetales como plastificantes de polímeros termoplásticos	17
4.4.1. Aceite de soja epoxidado (ESBO)	17
4.5. Compuestos en base éster como plastificantes de polímeros termoplásticos	19
4.5.1. Adipato de dioctilo (DOA)	19
4.6. Migración de plastificantes	21
4.6.1. Teorías del proceso de migración en PVC	22
4.7. Antecedentes al estudio de migración de ESBO y DOA desde materiales poliméricos hasta simulantes y alimentos	24
4.8. Cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas triple cuadrupolo	25
5. OBJETIVOS	27
6. EXPERIMENTAL	27
6.1. Reactivos utilizados	27
6.2. Fundamento y descripción del equipo utilizado	28
6.3. Metodología	32
6.3.1. Ensayo de migración	32
6.3.2. Preparación de las muestras	33
6.3.3. Rectas de calibrado	35
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
7.1. Fragmentos cargados de los plastificantes	37

7.2. Cromatografías obtenidas de las muestras realizadas	38
7.3. Análisis de los datos obtenidos en las cromatografías	46
8. CONCLUSIÓN	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Fórmulas de CVM y PVC	11
Figura 2: Reacción que tiene lugar en la polimerización por suspensión	11
Figura 3: Esquema sobre la reacción de epoxidación de aceites vegetales	17
Figura 4: Triglicérido de mayor presencia en ESBO	18
Figura 5: Migración de plastificantes DOA y DOP	20
Figura 6: Estructura del adipato de dioctilo	20
Figura 7: Modelo conceptual del triple cuádrupolo	26
Figura 8: Equipo baño termostático	29
Figura 9: Equipo LC-TQMS	30
Figura 10: Materia inicial para el ensayo de migración	33
Figura 11: Muestra preparada para el ensayo de migración	33
Figura 12: Cromatografía obtenida para la muestra 1	38
Figura 13: Cromatografía obtenida para la muestra 2	38
Figura 14: Cromatografía obtenida para la muestra 3	39
Figura 15: Cromatografía obtenida para la muestra 4	39
Figura 16: Cromatografía obtenida para la muestra 5	40
Figura 17: Cromatografía obtenida para la muestra 6	40
Figura 18: Cromatografía obtenida para la muestra 7	41
Figura 19: Cromatografía obtenida para la muestra 8	41
Figura 20: Cromatografía obtenida para la muestra 9	42
Figura 21: Cromatografía obtenida para la muestra 10	42
Figura 22: Recta de calibrado para ESBO	44
Figura 23: Recta de calibrado para adipato de dioctilo	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Contenido de ácidos grasos principales presentes en el aceite de soja	18
Tabla 2: Componentes presentes en el film	28
Tabla 3: Características técnicas de la balanza analítica utilizada	28
Tabla 4: Características técnicas del baño termostático utilizado	29
Tabla 5: Condiciones de operación del baño termostático	29
Tabla 6: Condiciones de operación y disolventes empleados en el equipo HPLC	31
Tabla 7: Gradiente de inyección utilizado en el equipo HPL	31
Tabla 8: Condiciones de operación del equipo LC-TQMS	31
Tabla 9: Cantidad de muestra tomada inicialmente	34
Tabla 10: Recta de calibrado para ESBO	35
Tabla 11: Recta de calibrado para el adipato de dioctilo	35
Tabla 12: Iones característicos del adipato de dioctilo	37
Tabla 13: Iones característicos del ESBO	37
Tabla 14: Áreas y tiempos de retención para los fragmentos cargados	43
Tabla 15: Áreas para los fragmentos cargados, patrones ESBO	44
Tabla 16: Áreas para los fragmentos cargados, patrones adipato de dioctilo	44
Tabla 17: Concentración de los plastificantes en las muestras	45
Tabla 18: Cantidades teóricas de plastificantes al simulante	47
Tabla 19: Porcentaje de migración de los plastificantes al simulante	48
Tabla 20: Migración de los plastificantes en diversos parámetros	48
Tabla 21: Pesos films PVC antes y después del ensayo	50
Tabla 22: Datos aportados por el estudio de migración de DOA en alimentos	51
Tabla 23: Proporción de migración de DOA a los simulantes estudiados	51

GLOSARIO DE ACRÓNIMOS

Abreviatura	Término
DBP	Ftalato de dibutilo
DOP	Éster de dioctilo
DNP	Dinitrofenol
DTDP	Desoxitimidina difosfato
DOTP	Tereftalato de dioctilo
DOA	Adipato de dioctilo
ESBO	Aceite de soja epoxidado
LME	Límite de migración específico
LC-TQMS	Cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas triple cuadrupolo
HPLC	Cromatografía líquida
MS-MS	Espectrometría de masas
ESI	Fuente de ionización tipo electrospray
APCI	Fuente de ionización química a presión atmosférica
AOVE	Aceite de oliva virgen extra
MeCN	Acetonitrilo

1. RESUMEN

El empleo de films de PVC es muy relevante en diversos ámbitos, uno de ellos tiene lugar en el ámbito doméstico donde mayoritariamente se destina a entrar en contacto con alimentos. El uso y producción de este tipo de material, se debe a las características y ventajas que proporciona mediante la adicción de aditivos. En un principio, el uso de ftalatos en este tipo de materiales fue muy común y extendido, aunque la supuesta migración de estos desde la matriz polimérica hacia el material en contacto, llevó a diversos estudios indagar sobre su exposición en humanos. Dichos estudios revelaron que la toxicidad que presentaban era notable, conllevando a numerosos problemas para la salud humana, por lo que la búsqueda de otro tipo de plastificantes que otorgaran unas propiedades similares en el producto acabado y, una toxicidad menor derivó en el uso de plastificantes de origen natural como el ESBO y de base de éster, como el adipato de dioctilo. Aunque la migración de ambos plastificantes está regulada, no se sabe con certeza si estos niveles de migración se dan en realidad.

El objeto de este estudio en referencia con los datos que maneja la norma UNE-EN-1186-2, será la determinación de ambos plastificantes de manera simultánea en las muestras de simulante utilizado, poniendo en marcha un método con el cual seamos capaces de sin un previo tratamiento de la muestra, conocer la migración que se produce. El análisis de las muestras se realizará empleando la cantidad mínima de muestra y, con el apoyo de la técnica de cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas triple cuadrupolo.

2. ABSTRACT

The use of PVC Clingfilm is outstanding in several fields; one of them takes place at home, where it is mostly used to be in contact with food. Its use and production is due to the characteristics and advantages that it gives by means of the addition of additives. At the starting point, the use of phthalates in this kind of materials was widespread, although their assumed migration from the polymeric matrix to the contact material led some research to investigate their exposure in humans. This research revealed that their grade of toxicity was prominent, leading to many problems for human health; because of this, the search for other kind of plasticisers, which gave similar properties and less toxicity to the finished product,

resulted into the use of plasticisers of natural origin such as ESBO and ether based or dioctyl adipate. Although the migration of both plasticisers is controlled, we do not certainly know if these levels of migration actually occur.

This research, in reference to the data from the rule UNE-EN-1186-2, is intended to determine both plasticisers simultaneously in the specimens of simulant which has been used, initiating a method to be able to know the migration which is produced without a prior treatment of the specimen. The analysis of the specimens will be done with the minimum quantity of it and with the support of the liquid chromatography attached to the triple quadrupole mass spectrometry.

3. INTRODUCCIÓN

Los materiales en contacto con alimentos, son todos aquellos materiales y artículos, destinados a entrar en contacto directo con estos, además de los materiales de envasado, también se puede incluir cubiertos, platos, máquinas de procesado, recipientes, etc.

Entre las funciones del envase, se encuentran la de contener el producto y mantener la calidad del mismo. Sin embargo, hay una característica muy importante y que se debe exigir a todos los envases, y es que no se produzcan interacciones con su contenido. [1]

De forma análoga, según el Reglamento (CE) nro. 1935/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, del 27 de octubre de 2004, sobre los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos y, modificado por el Reglamento (CE) nro. 596/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo del 18 de junio de 2009, en su Artículo 3, se muestran unos requisitos generales para los objetos orientados a este fin:

- No representar un peligro para la salud humana.
- No provocar una modificación, de la composición de los alimentos.
- No provocar una alteración, de las características organolépticas de éstos.
- El etiquetado, la publicidad y la presentación de los materiales u objetos, no deben inducir a error a los consumidores.

4. ANTECEDENTES

4.1. Materiales poliméricos en contacto con alimentos

Según la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, los materiales plásticos son compuestos orgánicos obtenidos por polimerización, policondensación, poliadición o algún otro proceso similar, a partir de moléculas de peso molecular inferior o por modificación química, de macromoléculas naturales. Pueden añadirse otras sustancias o materias, consideradas aditivos, a estos compuestos macromoleculares.

Estos productos están regulados a nivel nacional por el Real Decreto 847/2011, del 17 de junio, por el que se establece una lista de sustancias permitidas, para la fabricación de materiales poliméricos destinados a entrar en contacto con los alimentos.

4.1.1. Policloruro de vinilo (PVC)

El policloruro de vinilo es un material polimérico que se elabora mediante la adición repetida del cloruro de vinilo monómero (CVM). Forma parte de la familia de los termoplásticos, y es el plástico menos dependiente de recursos no renovables ya que, se obtiene de dos materias primas naturales, 57 % de cloruro de sodio y, 43 % de petróleo.

Es de los polímeros más estudiados y usados por el hombre, su empleo en tecnología y aplicaciones no ha tenido pausa, llegándose en nuestros días a una producción de 25 millones de toneladas. Esto se debe dado a su amplia utilidad y versatilidad en áreas diversas.

Su forma original, se presenta como un polvo blanco, amorfo y opaco. Cuyas propiedades, son:

- Resistencia mecánica.
- Resistencia considerable a la intemperie.
- Resistencia al agua y a los productos químicos.
- Aislamiento eléctrico.

Presenta una relativa inestabilidad al calor y la luz, pero puede evitarse mediante la adición de estabilizadores. [2]

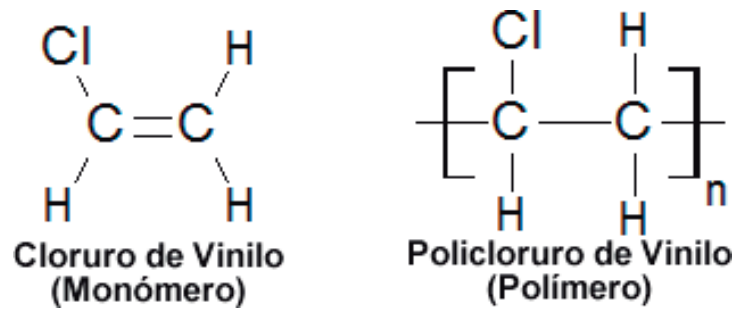


Figura 1: Fórmulas de CVM y PVC. Recuperado de <https://www.textoscientificos.com/polimeros/pvc>

4.1.2. Obtención del policloruro de vinilo

Los tipos de obtención del policloruro de vinilo en el ámbito industrial, se clasifican en tres tipos de polimerización:

- Polimerización por suspensión, es una técnica en la cual, las gotas de monómero son dispersadas en un medio, generalmente agua. Se le agrega un iniciador con un agente estabilizador, con el que se obtienen partículas de tamaño entre 0,1 y 1 μm mediante la utilización de autoclaves o agitadores muy revolucionados. [3]

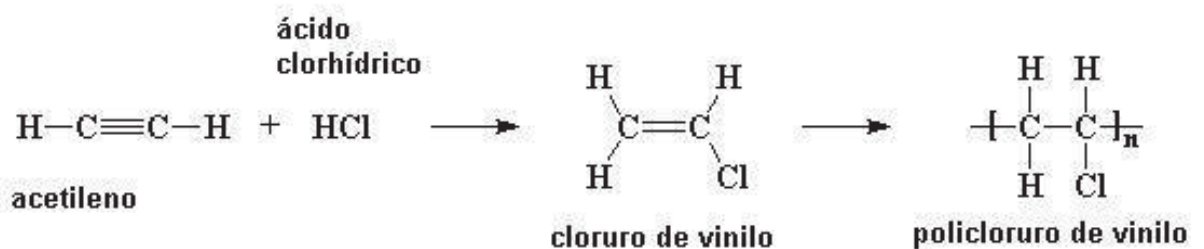


Figura 2: Reacción que tiene lugar en la polimerización por suspensión. Recuperado de <https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/06/pvc.html>

- Polimerización por emulsión, donde el monómero se dispersa en un medio acuoso con agitación fuerte. Tras esto, se añaden indicadores orgánicos y emulsionantes, para evitar que las partículas se apelmacen.

Las partículas en suspensión son relativamente grandes, entre 20 y 200 μm , y se pueden separar fácilmente del líquido por centrifugación, tamizado o filtrado. [3]

- c) Polimerización en masa, es una técnica simple donde solamente el monómero y el iniciador están presentes en el sistema. Se puede simplificar más dicha reacción, si esta es socorrida por efecto térmico o por radiación, donde solo tendrá lugar el monómero en el medio de reacción.

4.1.3. Films de policloruro de vinilo

Los films son físicamente películas de material plástico, que desde un punto de vista industrial son materiales con los que se puede trabajar de manera idónea debido a sus características mecánicas, facilidad de corte, maleabilidad, entre otras. Dentro de su abanico de trabajo en diversos ámbitos, el uso destinado al ámbito doméstico presenta especial importancia, ya que es un buen material para envolver cualquier recipiente o alimento para su conservación. A este material además de otros aditivos, que mejoren su comportamiento de manera física y química, también se le añaden otros para evitar condensaciones en el material o alimento que envuelven.

De manera general, los films destinados a envolver alimentos son de policloruro de vinilo por las características que ofrece, aunque la posible migración de productos químicos que se produce, ha hecho que el uso de este material no sea tan significativo, dando lugar a los films de polietileno.

La obtención de films de manera industrial se lleva a cabo mediante extrusoras por soplado o por extrusoras de capa plana, métodos que aprovechan al máximo las características del polímero sin perjudicar la calidad final.

Aunque aporte muchos beneficios debido a su uso, no todo de este material es bueno, ya que desde un punto de vista ecológico dicho material es contaminante tanto en su producción a nivel industrial, como en su descomposición. Su incineración o acumulación en vertederos no remedian los efectos negativos de su descomposición ya que, según la OMS, aunque estos materiales se degraden, compuestos químicos que contenían sus matrices perduran en suelos, sedimentos y alimentos, entre los 7 y 11 años.

4.2. Uso de aditivos en el policloruro de vinilo

Para obtener una gran variedad de propiedades en los productos que se requieran, el policloruro de vinilo se mezcla con aditivos.

Según la aplicación a que se destine, la composición de la mezcla de PVC puede variar considerablemente, debido a las diferentes cantidades de aditivos que se incorporan en el polímero, como:

- Estabilizantes.
- Lubricantes.
- Plastificantes.
- Pigmentos o pirorretardantes.

El uso de plastificantes y estabilizantes en cantidades bastante elevadas, constituye una característica específica de la elaboración del policloruro de vinilo, en comparación con otros tipos de plásticos. [2]

4.3. Plastificantes

Los plastificantes son sustancias poco o nada volátiles, que se añaden a un polímero con el que son compatibles, con objeto de mejorar su procesabilidad, flexibilidad y elasticidad.

Las principales condiciones que deben reunir los plastificantes, son las siguientes:

- Compatibilidad con el polímero.
- Resistencia a la evaporización y a la migración.
- Estabilidad ante la luz y la temperatura.
- Flexibilidad a baja temperatura.
- Baja inflamabilidad. [4]

4.3.1. Teorías sobre la plastificación

Existen diversas teorías que intentan explicar y dar conocimiento sobre el fenómeno de la plastificación. Las más antiguas teorías sobre esto, ya fueron formuladas entre los años 50 y 60. Estas son:

- a) Teoría de la lubricación de Kirkpatrick, la cual propone que el plastificante que se sitúa entre las moléculas de la resina actúa como lubricante. En ausencia de plastificante, las moléculas de resina sufren fricciones entre sí.
Esta teoría no explica aspectos generales de la plastificación.
- b) Teoría de gel propuesta por Doolittle, que considera que la estructura de los polímeros es de carácter tridimensional. Dicha red se mantiene gracias a interacciones temporales, por lo que la distancia de estas interacciones entre sí da lugar a polímeros rígidos o flexibles.
Según el tipo de plastificante, existen dos mecanismos donde el plastificante puede provocar la plastificación. El plastificante, produce el efecto de reducir el número de puntos de unión, aumentando la elasticidad del polímero.
- c) Por último, la teoría más ampliamente aceptada dentro de las teorías de plastificación, es la del volumen libre. Que considera que entre las moléculas tan sólo existe volumen libre, que permite la libertad de movimiento de estas. El volumen libre, aumenta con la temperatura o con cambios de movilidad provocados por cadenas y grupos terminales. [11]

4.3.2. Etapas que suceden en la plastificación

Según los autores Sears y Darby (1986), existen seis etapas durante el proceso de gelificación, los cuales son:

- a) En primer lugar, las moléculas de plastificante penetran rápidamente en la resina de forma irreversible.
- b) Se tiene lugar un periodo de inducción del plastificante hacia la superficie de la resina.

Estas dos primeras etapas concurren a temperatura ambiente.

- c) Se produce la absorción del plastificante, donde las partículas de la resina se hinchan, aunque el volumen global se ve disminuido ligeramente. Es un proceso de difusión con baja energía de activación.

Esta etapa puede ocurrir a temperatura ambiente también o a otra temperatura distinta.

- d) El proceso alcanza un punto con alta energía de activación, en el que el polímero, en nuestro caso el PVC, pierde su identidad a nivel de grano, y el

plastisol resultante, aunque fundido ya es capaz de desarrollar sus propiedades físicas.

Esta etapa se consigue solamente por calentamiento.

- e) Etapa ligada a la anterior, donde el compuesto que se encuentra aún en calentamiento se comporta como fluido fundido.
- f) En la última etapa, el polímero se encuentra en enfriamiento y por lo tanto se endurece, debido a la cristalización de ciertas partes. Se establecen fuerzas débiles y puentes de hidrógeno entre los segmentos del polímero, a través o no del plastificante.

4.3.3. Tipos de plastificantes usados en policloruro de vinilo

Existen muchas posibles clasificaciones para los plastificantes, según su naturaleza química (Titow, 1986):

- a) Ftalatos, son los plastificantes más importantes, producto de la reacción entre un alcohol de cadena saturada y el ácido ftálico.

Dentro de este tipo de plastificantes, podemos distinguir entre:

- Ftalatos de cadena corta, como el ftalato de dibutilo (DBP).
- Ftalatos de uso general, como el éster de dioctilo (DOP), dinitrofenol (DNP).
- Ftalatos lineales.
- Ftalatos de cadena larga, como la desoxitimidina difosfato (DTDP).
- Heterogéneos, como el tereftalato de dioctilo (DOTP). [4]

Su utilización como plastificantes, tanto en materiales plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos, como en otro tipo de materiales plásticos ha sido muy amplio. Probablemente una alta migración y su amplio uso, han llevado a cabo estudios de toxicidad en exposición en humanos. Dichos estudios revelaron que una exposición elevada de estos plastificantes, originan problemas hormonales en varones, dañando la calidad del semen y en muchos casos provocando infertilidad. En adolescentes dicha exposición se define en problemas endocrinos y ginecomastia, a parte de estos problemas, de forma general provocan resistencia a la insulina y obesidad.

Aunque quedan por definir estudios sobre los efectos en recién nacidos y los efectos que se producen a bajas concentraciones, la solución que se planteó fue el uso de otro tipo de plastificantes que otorguen resultados parecidos en el producto final, a los que ofrecen los ftalatos y que la toxicidad que generen por su exposición en humanos sea nula o lo menos nociva posible.

b) Plastificantes basados en diésteres alifáticos.

Estos conforman un grupo de plastificantes que se emplean como plastificantes secundarios. Proviene de la esterificación entre un ácido carboxílico y un alcohol saturado. [4]

c) Trimetilatos, son plastificantes principalmente primarios.

d) Fosfatos, son plastificantes que dependen en su totalidad de la naturaleza de los sustituyentes que los conforman.

Entre los cuales podemos encontrar:

- Adipatos, como el adipato de dioctilo (DOA).
- Azelatos.
- Sebacatos.
- Maleatos. [4]

e) Poliméricos, son poliésteres saturados cuya estructura molecular tienen una unidad que se repite y su peso molecular es mucho mayor, que del resto de los plastificantes. [4]

f) Otros.

- Plastificantes epoxidados, que provienen de la reacción de un perácido con un compuesto insaturado, que puede ser un aceite o un alquil éster de un ácido graso insaturado. Un ejemplo de este tipo, es el aceite de soja epoxidado (ESBO).
- Parafinas cloradas.
- Monoésteres, como el oleato de butilo.
- Glicol ésteres, como el dietilén glicol.
- Citratos. [4]

4.4. Aceites vegetales como plastificantes de polímeros termoplásticos

La utilización de aceites vegetales como plastificantes de polímeros es, sin duda su uso más extendido como aditivos. Éstos se pueden utilizar sin modificar, como el caso del aceite de ricino, o el de maíz. Pero, el uso más extendido de los aceites vegetales como plastificantes, se basa en una previa modificación química, y la epoxidación del doble enlace presente en ácidos grasos. [6]

La epoxidación de los aceites vegetales, se produce en un sistema en el que encontramos dos fases, una fase acuosa y otra orgánica. La idea sería la generación de un perácido en la fase acuosa, reacción del peróxido de hidrogeno y un ácido carboxílico. Y tras la formación del perácido, este se transferirá hacia la fase orgánica dando origen a la reacción de epoxidación.

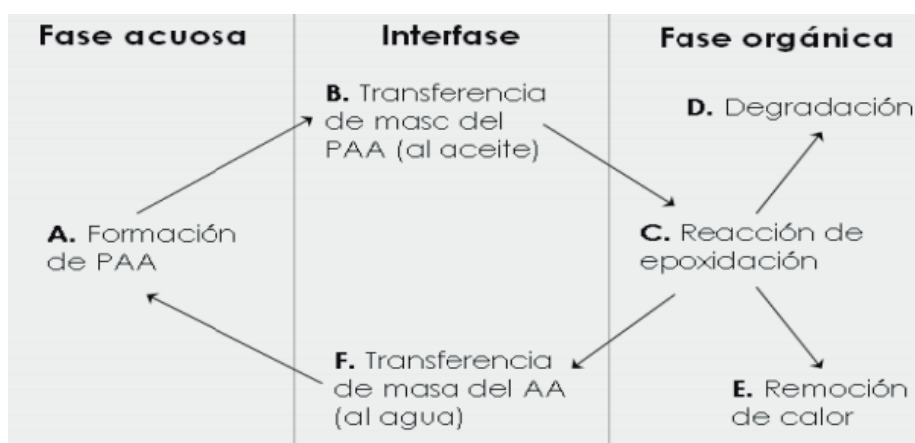


Figura 3: Esquema sobre la reacción de epoxidación de aceites vegetales (Rangarajan, 1995).

4.4.1. Aceite de soja epoxidado (ESBO)

Como se ha podido conocer anteriormente, dicho compuesto proviene de la reacción de epoxidación que se le realiza al aceite de semilla de soja. Es una sustancia, que se utiliza como plastificante principalmente de policloruro de vinilo o como estabilizante de este.

El uso de esta semilla se debe, en una parte, en su producción agrícola, ya que se puede obtener un 20 % de aceite en general, por vaina producida.

Y otra fuente, de mayor peso en la elección de esta semilla, y consecuencia de que se utilice este tipo de aceite, se debe al perfil de ácidos grasos presente en dicho aceite. El aceite de soja posee un elevado contenido en ácidos grasos insaturados, principalmente, oleico y linoleico, que supone más del 75 % en peso de este tipo de aceite. [7]

Compuesto	Presencia en aceite de soja
Ácido palmítico (C16:0)	11
Ácido esteárico (C18:0)	4
Ácido oleico (C18:1)	23,4
Ácido linoleico (C18:2)	53,2
Ácido linolénico (C18:3)	7,8

Tabla 1: Contenido de ácidos grasos principales presentes en el aceite de soja (expresado en g ácido graso/100 g aceite). [6]

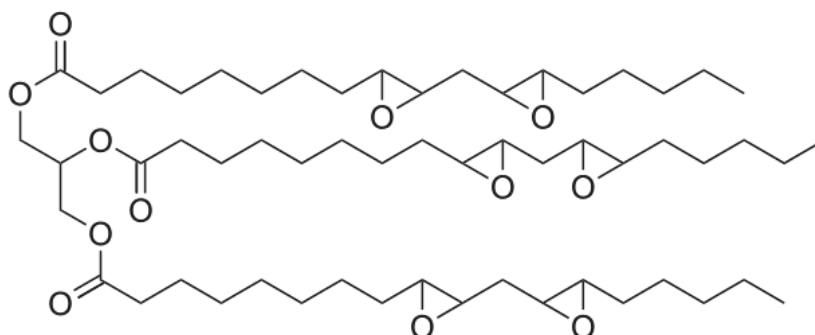


Figura 4: Triglicérido de mayor presencia en ESBO. [8]

El aceite de soja obtenido tras la epoxidación se presenta como un líquido viscoso, de color amarillo pálido, con un punto de ebullición de 150 °C y un punto de solidificación cercano 5 °C. [7]

Con respecto a su migración, según legislación, el límite de migración específico aplicable para la sustancia (LME) es de 60 mg/kg. El límite de migración específico de 30 mg/kg, cuando el PVC se utilice para sellar tarros de cristal que contengan preparados para lactantes y preparados de continuación o alimentos

elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad. [12]

4.5. Compuestos en base éster como plastificantes de polímeros termoplásticos

4.5.1. Adipato de dioctilo (DOA)

El adipato de dioctilo o adipato de 2-etilhexilo, es una sustancia mono constituyente resultante de la esterificación de 2-etilhexano con ácido adípico. Su función como plastificante primario, es dar muy buena flexibilidad a bajas temperaturas, debido a su bajo punto de congelación.

Es el más importante dentro del grupo de los adipatos. Ofreciendo unas propiedades, tales como:

- Resistencia a la intemperie.
- Puede ser mezclado con plastificantes primarios o poliméricos, para optimizar el coste en relación con el rendimiento que ofrezca.
- Es un producto muy poco volátil, lo que le hace ser resistente a la luz y al calor.
- Es un compuesto lipofílico y por lo tanto habrá que aplicarle un factor de reducción de grasas.
- Imparte bajas viscosidades.
- Es compatible con otros plásticos sintéticos.
- Ampliamente utilizado en aplicaciones en contacto con alimentos. [16]

En la adicción sobre materiales de PVC, ofrece mejores propiedades a bajas temperaturas en comparación con los ftalatos. Esta afirmación se sostiene, según un estudio realizado al adipato de dioctilo en comparación con el éster de dioctilo, teniendo como simulante aceite mineral y un 5 % de solución jabonosa. El resultado, en relación con los coeficientes de difusión, fue:

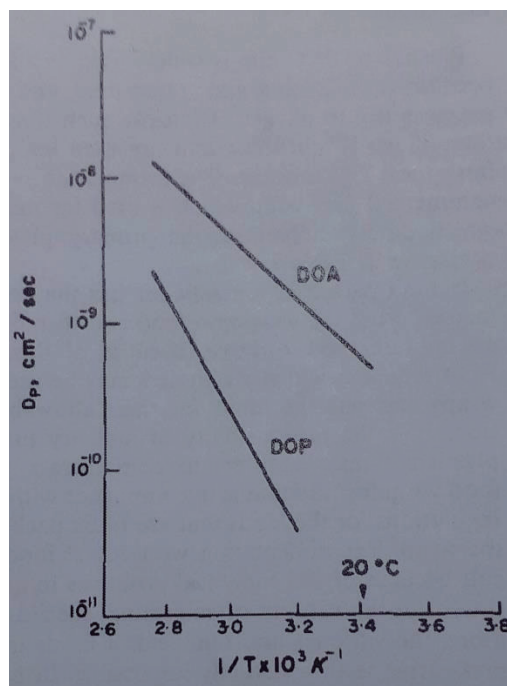


Figura 5: Migración de plastificantes DOA y DOP (Quackenbos, 1954).

Se puede observar, que el adipato de dioctilo con respecto al tiempo y a unos 20 °C, da una señal mejor tanto a escala, como en pendiente de linealidad. Siendo, su migración menor y a una velocidad menor que la del éster de dioctilo. [17]

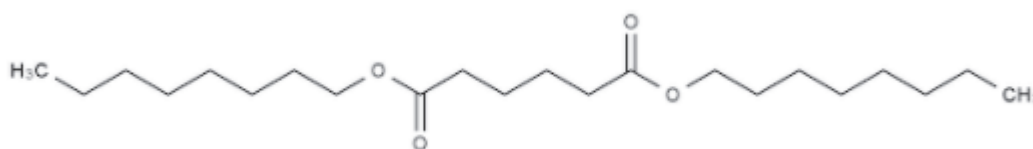


Figura 6: Estructura del adipato de dioctilo. Recuperado de <http://en.chembase.cn/>

Su uso como aditivo está definido en la legislación sobre los materiales y objetos plásticos en contacto con alimentos, teniendo un límite de migración específico de 18 mg/kg. Es permitido su uso en adhesivos, celofán, film de celulosa y como plastificante. [16]

4.6. Migración de plastificantes

Durante el proceso de conformación del polímero, cuando la pasta formada por el plastificante y la resina de este se gelifica, dicho plastificante queda permanentemente retenido. Su pérdida no sólo causaría cambios en las propiedades del producto final, sino que podría también tener un efecto indeseable en los materiales con los que se encuentra en contacto. [4]

Por lo tanto, uno de los requerimientos más importantes de los plastificantes es su permanencia en la matriz polimérica.

Hay tres modos específicos de pérdida de un plastificante desde una matriz plastificada (Titow, 1990):

- a) Volatilización, en el cual el plastificante se pierde desde la superficie hacia el aire.
- b) Extracción, en el cual el plastificante se pierde desde una superficie hacia un líquido en contacto.
- c) Migración, en el cual el plastificante se pierde por transferencia hacia un sólido o un semisólido, que se encuentra en contacto íntimo con la superficie del polímero plastificado. [4]

En el campo del envasado de productos alimentarios en particular, el término migración se refiere a la transferencia de sustancias, desde las paredes del envase hacia el producto que contiene o hacia el medio, debido a efectos de naturaleza físico-química. La fuente impulsora para que este proceso tenga lugar, es el gradiente de concentraciones de los distintos componentes químicos entre el material de envase y el alimento, así como la capacidad de difusión de dichas especies a través de la estructura tridimensional del polímero. La cantidad de sustancias que pueden migrar desde el envase al alimento, depende enormemente de:

- El tipo de alimento.
- La temperatura.
- El tiempo de contacto.

Aunque la situación ideal para evaluar la migración de un determinado material, consistiría en realizar los ensayos sobre el propio alimento muchas veces, no es posible al ser un procedimiento complejo, laborioso y disponer de matrices altamente complejas. Para solucionar estos problemas, se usan disoluciones, conocidas como simulantes alimentarios.

Para facilitar la elección del simulante, los alimentos se clasifican en:

- Sólidos secos.
- Líquidos neutros.
- Ácidos.
- Alcohólicos.
- Sustancias grasas. [5]

4.6.1. Teorías del proceso de migración en PVC

El proceso de migración o difusión de los plastificantes contenidos en el PVC hacia disolventes, alimentos y otros materiales con los que están en contacto, sucede en dos etapas. Una etapa que ocurre en el polímero, generalmente considerada como un proceso de difusión natural y luego, otra fase comúnmente más conocida, que se da en la superficie de contacto entre el polímero y el material. La difusión que ocurre en la segunda fase, además de los factores a tener en cuenta narrados en el punto anterior, también depende del estado físico en el que se encuentre el material en contacto con el polímero, es decir, si este es sólido y por tanto el contacto es inmóvil o por otro lado si el material es un fluido.

Para estudiar este fenómeno migratorio, se han narrado diversos modelos matemáticos que intentan dar explicación y respuesta. Estos son:

- a) El primer modelo, asume un contacto total con el polímero y que, la migración posible que se produzca, no satura el propio material en contacto. Dicho modelo sostiene

$$M_t = 2 \cdot C_{p_o} \cdot ((D_o \cdot t)/\pi)^{1/3}$$

donde:

- M_t es el plastificante que ha salido de la matriz polimérica, en un tiempo determinado.
- D_o es el coeficiente de difusión del plastificante en el polímero.
- C_{p_o} es la concentración inicial de plastificante. [17]

Este modelo, presenta varios problemas con respecto el valor que se pueda tener del coeficiente de difusión, pero puede ser una buena opción cuando el estudio en cuestión tenga una migración de plastificantes muy baja.

- b) El efecto de agitación, este modelo es una variación de la fórmula anteriormente descrita, teniendo en cuenta que el contacto entre ambas partes sea óptimo. La modificación que realiza es

$$M_t = 2 \cdot C_{p_o} \cdot ((D_o \cdot t)/\pi)^{1/3} \cdot [1 + (\sqrt{\pi/(2 \cdot Y)} \cdot (e^{Y^2} \cdot \operatorname{erfc} Y - 1))]$$

el parámetro Y, depende de la difusión del plastificante en el polímero y del parámetro de concentración de plastificante en el material, en un radio determinado. Suponiendo un equilibrio, los valores que describen dicho parámetro hacen de él un número ínfimo, por lo que la ecuación se simplifica adoptando la siguiente forma

$$M_t \approx k \cdot K \cdot C_{p_o} \cdot t$$

donde:

- K es el parámetro que representa la concentración de plastificante en el material, en un radio determinado.
 - k es un valor estándar que correlaciona la turbulencia del fluido en contacto con el material. [17]
- c) El último modelo, es otra variable a la ecuación que ofrece el primer modelo, pero este sostiene un contacto entre superficies no movibles y que, la migración sucede por difusión. La ecuación que describe este modelo es

$$M_t = 2 \cdot C_{p_o} \cdot ((D_o \cdot t)/\pi)^{1/3} \cdot (\alpha/(1 + \alpha))$$

El parámetro α , es un valor que depende de la difusión que ocurre en el contacto inmóvil. Cuando este parámetro obtiene valores grandes, el término se puede despreciar. La simplificación, que se llevaría a cabo es

$$M_t = 2 \cdot C_{p_o} \cdot K \cdot ((D_s \cdot t)/\pi)^{1/3}$$

donde:

- K es el coeficiente de partición de equilibrio.
- D_s es el coeficiente de difusión de plastificante en el material inmóvil. [17]

4.7. Antecedentes al estudio de migración de ESBO y DOA desde materiales poliméricos hasta simulantes y alimentos

El estudio referente a la migración de plastificantes en aceite de oliva virgen extra como simulante, desde una matriz polimérica no es nada nuevo. Un primer estudio sobre ello, ya evidenció que el procedimiento laborioso y obsoleto que establece la norma UNE-EN-1186-2 no era útil para determinar estas sustancias. Además de este estudio, se realizó otra investigación más reciente, sobre este tema en las mismas condiciones, donde se evaluaba la viabilidad de distintos procedimientos de medición directa en simulantes, como alternativa al método de cuantificación establecido por la norma, para así poder evaluar la migración total de ESBO. Con el objeto de ampliar y continuar el estudio sobre migración de plastificantes, surgió este proyecto en el que se plantea determinar y analizar cuantitativamente la migración de los plastificante ESBO y DOA, de forma directa, simultánea y sin ningún tipo de tratamiento previo de la muestra de simulante que, en este caso sigue siendo aceite de oliva virgen extra.

El empleo de la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas triple cuadrupolo para analizar dichas muestras, es una opción innovadora y distinta a otros métodos que se han empleado en diversos estudios sobre este tema. La elección de esta metodología, se debe en parte a la limitada bibliografía que se tiene sobre el uso de esta para el estudio de migración de plastificantes, aunque como única referencia se tiene el estudio de migración de ESBO sobre patés, realizado por la Universidad de Zaragoza.

4.8. Cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas triple cuadrupolo

a) La cromatografía líquida (HPLC), es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria no polar, columna, y una fase móvil. Donde:

- La fase estacionaria es sílica, que se ha tratado.
- La fase móvil actúa de portador de la muestra.

La muestra es inyectada en la fase móvil. Los componentes de la solución emigran de acuerdo a las interacciones no-covalentes de los compuestos con la columna. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra.

La utilización de los diferentes detectores, dependerá de la naturaleza de los compuestos a determinar.

El equipo de la cromatografía líquida, lo componen:

- Depósito de la fase móvil.
- Bomba, la cual se encarga de succionar la fase móvil, genera el caudal. Tiene una gran capacidad para trabajar a altas presiones.
- Sistema de inyección, se encarga de introducir la muestra sin tener que parar el flujo. Son automáticos y de volumen variable, poseen una jeringa capaz de tomar volúmenes exactos.
- Columna.
- Detector. [9]

b) La espectrometría de masas (MS-MS), es una técnica de química analítica que ayuda a identificar la cantidad y tipo de compuestos químicos, presentes en una muestra midiendo la relación masa/carga y, la abundancia de iones en fase gaseosa.

Un espectro de masas, es un gráfico de la señal del ion en función de relación masa/carga. A partir de los espectros, se utilizan la masa del ion molecular y los fragmentos, para determinar la composición elemental, es decir, ionizar los compuestos químicos para generar moléculas cargadas y medir su relación masa/carga.

Los espectrómetros de masas constan de:

- Un sistema de introducción de la muestra, diseñado para una mínima pérdida de vacío. La muestra, se puede introducir directamente al espectrómetro de masas con una jeringa o a través de otro equipo cromatográfico acoplado.

- Una fuente de ionización.
- Analizador para la separación de iones.
- Sistema detector y registrador.

La combinación de ambas técnicas, da lugar a una poderosa técnica analítica que proporciona información cualitativa y cuantitativa, proporcionando:

- Gran selectividad.
- Sensibilidad.
- Precisión.

Cuando a esta técnica se le acopla un analizador de masas triple cuadrupolo, los analitos después de la ionización entran en él.

El analizador está formado por dos cuadrupolos y una celda de colisión (Q1, Q2, Q3), cuya combinación aporta varios modos de funcionamiento, que darán información diferente. [10]

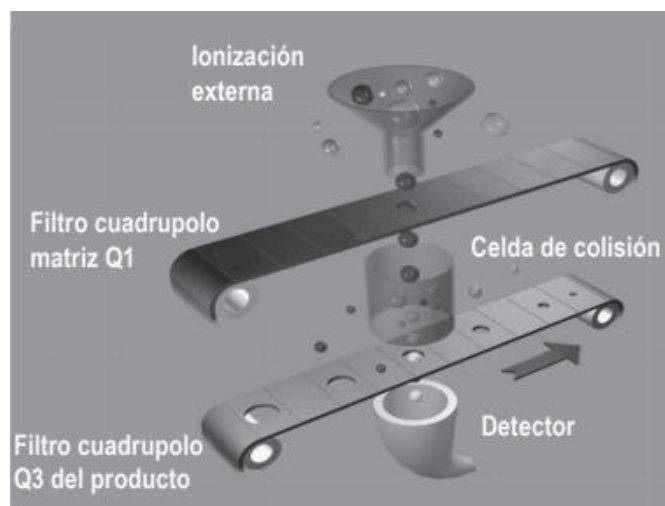


Figura 7: Modelo conceptual del triple cuadrupolo. Recuperado de https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/public/5991-5857_Agilent_MS_Theory_ES.pdf

La configuración común, es:

- Q1, se utiliza como filtro para la relación masa/carga específica.
- Q2, se utiliza como celda de colisión para fragmentar el ion y, generar iones producto.
- Q3, configurado para la relación masa/carga específica. Configuraciones como:

- MRM, los iones precursores con una relación masa/carga única, pasan a la celda de colisión. Los fragmentos iónicos se generan mediante la colisión con moléculas de nitrógeno y, Q3 se configura para una relación masa/carga única. Método muy sensible y se utiliza para realizar cuantificaciones.
- Modo de barrido, donde Q3 escanea secuencialmente permitiendo el paso por el detector cada vez. Se genera un espectro de ion del producto. Este modo de funcionamiento es menos sensible, que el modo MRM. [10]

5. OBJETIVOS

- a) Estudio de la adecuación de la norma UNE-EN-1186-2 al Reglamento (UE) N° 10/2011.
- b) Puesta a punto de un método analítico para cuantificar aceite de soja epoxidado en matrices lipídicas.
- c) Determinación simultánea de plastificantes en PVC mediante LC-TQMS.

6. EXPERIMENTAL

6.1. Reactivos utilizados

- a) Aceite de oliva virgen extra (AOVE Auchan):

- Densidad = 0,916 kg/L

- b) Film de PVC (Flexia Films), las características del producto utilizado, son:

- Anchura = 290-450 mm
- Largo = 200-600 m
- Grosor = 7-10 micras

Los compuestos químicos que forman parte del producto, son:

Compuesto	Presencia en el film (%)
PVC	72,2
ESBO	7,2
DOA	18,0
Estabilizantes	1,2
Lubricantes	1,4

Tabla 2: Componentes presentes en el film.

c) Aceite de soja epoxidado ($C_{57}H_{98}O_{12}$), cuyas características son:

- Peso molecular = 0,974 kg/mol
- Densidad = 0,993 kg/L

d) Adipato de dioctilo ($C_{22}H_{42}O_4$), cuyas características son:

- Peso molecular = 0,371 kg/mol

e) Acetonitrilo grado HPLC (99,9 % riqueza, CH_3CN), de características:

- Peso molecular = 0,041 kg/mol
- Densidad = 0,781 kg/L

6.2. Descripción del equipo utilizado

a) Balanza analítica.

El equipo utilizado para realizar los distintos pesos en este estudio, ha sido una balanza analítica Talent, de la marca Sartorius, cuyas especificaciones técnicas, son:

Legibilidad (g)	0,0001
Capacidad (g)	220
Tamaño de platillo (mm)	Ø 90
Repetibilidad (g)	0,0001
Linealidad (g)	0,0002
Respuesta de medida (s)	2,5

Tabla 3: Características técnicas de la balanza analítica utilizada. [13]

a) Baño termostático.

Equipo de laboratorio que consiste en un recipiente, cuya función es albergar cualquier tipo de líquido teniendo en cuenta su naturaleza química, a una cierta temperatura. En nuestro caso, dicho líquido es agua.

El equipo utilizado es un baño Unitronic Vaivén, de la marca Selecta, de características:

Capacidad (L)	27
Alto/ancho/fondo útil del baño (cm)	18/48/29
Alto/ancho/fondo de la cubeta móvil (cm)	17/35/24
Alto/ancho/fondo exterior (cm)	30/74/41
Consumo (W)	1500

Tabla 4: Características técnicas del baño termostático utilizado.



Figura 8: Equipo baño termostático.

Las condiciones de operación con las que se ha trabajado, son:

Temperatura (°C)	40
Agitación (U/min)	20
Tiempo (días)	10

Tabla 5: Condiciones de operación del baño termostático.

b) Cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas triple cuadrupolo (LC-TQMS).

El equipo con el que se trabaja es un espectrómetro de masas Thermo, modelo TSQ Quantum Access Max unido a un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) Accela, de la misma marca. Éste consta de dos analizadores de iones tipo cuadrupolo y una celda de colisión.

Hay dos fuentes de iones disponibles, un tipo electrospray (ESI) y otra de ionización química a presión atmosférica (APCI). El rango de masas del analizador es de hasta 3000 uma.

El equipo admite muestras provenientes del HPLC o alternativamente de una bomba, de jeringa instalada sobre el propio espectrómetro. El HPLC, consta de un automuestreador con capacidad para automatizar la inyección de hasta 100 muestras. El software Xcalibur, permite controlar los dos instrumentos (espectrómetro y cromatógrafo) de manera simultánea, así como el tratamiento posterior de los datos obtenidos.

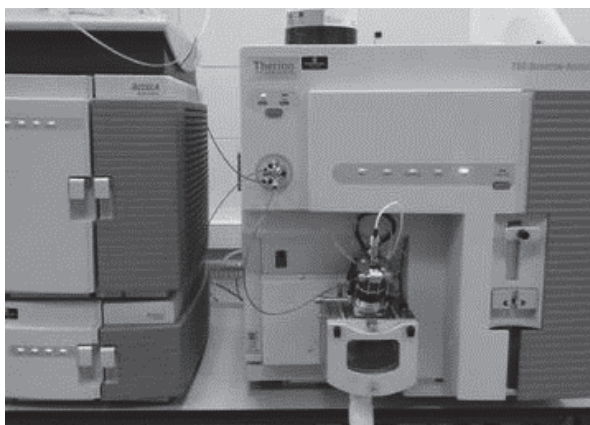


Figura 9: Equipo LC-TQMS.

Las condiciones de operación y disolventes que se han utilizado en el equipo HPLC, son:

Volumen de inyección (μL)	10
Volumen de descarga (μL/s)	1000
Temperatura columna (°C)	30
Modo operación (baja presión, psi)	0-7000
Presión mínima (bar)	0
Presión máxima (bar)	600
Disolvente A	Agua
	0,1 % fórmico
Disolvente B	MeCN
	0,1 % fórmico
Disolvente C	Acetona
	0,1 % fórmico

Tabla 6: Condiciones de operación y disolventes empleados en el equipo HPLC.

El gradiente de inyección que se ha utilizado también, es:

Inyección	Tiempo (min)	Disolvente A	Disolvente B	Disolvente C	Volumen (μL/min)
0	0,00	10,0	90,0	0,0	400,00
1	1,00	0,0	100,0	0,0	
2	4,00	0,0	100,0	0,0	
3	4,10	10,0	90,0	0,0	
4	7,00	10,0	90,0	0,0	

Tabla 7: Gradiente de inyección utilizado en el equipo HPLC.

Las condiciones de operación para el equipo LC-TQMS:

Flujo (μL/s)	8
Temperatura columna (°C)	30
Volumen inyección (μL)	10
Volumen descarga (μL)	1000
Velocidad descarga (μL/s)	100
Estabilidad presión (bar)	10
Presión gas Q2 (bar)	1,5
Modo operación (baja presión, psi)	0-7000
Presión mínima (bar)	0
Presión máxima (bar)	600

Tabla 8: Condiciones de operación del equipo LC-TQMS.

6.3. Metodología

6.3.1. Ensayo de migración

Los pasos seguidos para el ensayo de migración de plastificantes, conforme a la norma UNE-EN 1186-2, donde la muestra que se ha utilizado es film de policloruro de vinilo y, el simulante utilizado es aceite de oliva, son:

- a) Preparar inicialmente las muestras de film, en nuestro caso se han realizado 10 muestras, de superficie aproximada de 1 dm². Análogamente, se preparan 10 trozos de malla metálica, de rejilla pequeña y alambre fino, con un leve sobredimensionado para evitar reducciones de superficie, ya sea por adherencia con las paredes del recipiente que lo contiene o por el solapamiento entre sus vértices y, que nos va a permitir una mejor interacción entre muestra y simulante.
- b) Tras el primer paso, se enrolla la malla sobre el film, y se introduce en un recipiente al que previamente se le han introducido, 100 mL del simulante utilizado. Prevenir que el recipiente este bien cerrado, para evitar fugas o el vertido en su totalidad.
- c) Una vez realizado los dos pasos anteriores con las 10 muestras, más una extra que solo será simulante. Se introducen todas en un baño termostático, de agua a 40 °C y agitación constante. El tiempo de ensayo son 10 días de modo ininterrumpido.
- d) Pasado este tiempo se retiran las muestras del baño y, se retira la malla metálica con el film del recipiente. Estos se pasarán a otro recipiente, en este caso vacío, por lo que se debe retirar todo el aceite posible del film.
- e) Por último, se guardarán las muestras para su posterior uso, y los recipientes vacíos con los films por otro lado.

En total se tienen 11 muestras de aceite con el ensayo realizado, y 10 muestras de film.



Figura 10: Materia inicial para el ensayo de migración.



Figura 11: Muestra preparada para el ensayo de migración.

6.3.2. Preparación de las muestras

Antes de poder realizar el análisis cuantitativo y simultáneo de los plastificantes, las muestras se han preparado en una concentración de 1 ppm. Para ello, inicialmente se anota el peso que supondría una gota de cada muestra de simulante.

Muestra	Cant. muestra (g)
1	0,0177
2	0,0173
3	0,0178
4	0,0210
5	0,0175
6	0,0178
7	0,0170
8	0,0220
9	0,0220
10	0,0150

Tabla 9: Cantidad de muestra tomada inicialmente.

Suponiendo un peso medio de 0,0180 g, los pasos que se han llevado a cabo para poder llegar a la concentración elegida, han sido:

a) Llevar el peso de la muestra tomada a unos 100 mL de disolvente.

$$\frac{0,0180 \text{ g muestra promedio}}{100 \text{ mL disolvente}} = 0,18 \frac{\text{mg muestra}}{\text{mL disolvente}}$$

b) Por último, tomando 1 mL de la anterior disolución, se lleva a otros 100 mL de disolvente.

$$\frac{0,18 \text{ mg muestra}}{100 \text{ mL disolvente}} = 0,0018 \frac{\text{mg muestra}}{\text{mL disolvente}} = 1,8 \text{ ppm} = 1800 \text{ ppb}$$

Para saber que disolvente utilizar, se debe conocer la afinidad de polaridades entre disolvente con el que se realiza las concentraciones, y:

- La columna del instrumento con la que se trabaja.
- El método de inyección.

El disolvente elegido para realizar el estudio de las muestras es acetonitrilo grado HPLC, disolvente polar.

Importante resaltar que, tras realizar cada disolución se requiere de una homogeneización de la mezcla.

6.3.3. Rectas de calibrado

Como se ha mencionado anteriormente, los procesos que tienen lugar en un espectro de masas, son de naturaleza química.

Las moléculas ionizadas del analito se disgregan en una variedad de fragmentos ionizados que constituyen el espectro de masas. Generalmente, el espectro de masas de cada compuesto es único y puede ser usado para caracterizar el compuesto en cuestión. Obtenidos estos iones, se separan según su relación masa y carga, y finalmente se detectan.

Con la introducción de la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas triple cuadrupolo, se dan a conocer los fragmentos principales que definen a cada componente, y con la ayuda de las rectas de calibrado, poder de forma simultánea cuantificarlos.

Para este estudio, se realizan dos rectas de calibrado sin patrón interno.

Compuesto	Concentración de la muestra (ppb)
Aceite de soja epoxidado (ESBO)	10000
	1000
	100
	10
	1

Tabla 10: Recta de calibrado para ESBO.

Compuesto	Concentración de la muestra (ppb)
Adipato de dioctilo (DOA)	10000
	1000
	100
	10
	1

Tabla 11: Recta de calibrado para el adipato de dioctilo.

Partiendo de la disolución madre, de concentración 1000 ppm. Los cálculos que se han realizado para realizar las disoluciones, son:

a) Para la disolución de 10 ppm:

- Se toma 1 mL de la disolución madre y la llevamos a 100 mL de disolvente.

$$\frac{1 \text{ mg muestra}}{100 \text{ mL disolvente}} = 0,01 \frac{\text{mg muestra}}{\text{mL disolvente}} = 10 \text{ ppm}$$

b) Para la disolución de 100 ppb:

- Partiendo de la disolución anterior de 10 ppm, se toma 1 mL y se diluye en 100 mL de disolvente.

$$\frac{0,01 \text{ mg muestra}}{100 \text{ mL disolvente}} = 0,0001 \frac{\text{mg muestra}}{\text{mL disolvente}} = 100 \text{ ppb}$$

c) Para la disolución de 10 ppb:

- Se toma inicialmente 1 mL de la disolución madre y se lleva a 10 mL de disolvente.
- De esta última, se toma 1 mL y se diluye en otros 100 mL de disolvente.

$$\frac{0,1 \text{ mg muestra}}{100 \text{ mL disolvente}} = 0,001 \frac{\text{mg muestra}}{\text{mL disolvente}}$$

- Por último, se vuelve a diluir en 100 mL de disolvente, 1 mL de la anterior disolución.

$$\frac{0,001 \text{ mg muestra}}{100 \text{ mL disolvente}} = 0,00001 \frac{\text{mg compuesto}}{\text{mL disolvente}} = 10 \text{ ppb}$$

d) Para la disolución de 1 ppb:

- Partimos de la disolución de 100 ppb, se toma 1 mL y diluimos en 100 mL de disolvente.

$$\frac{0,0001 \text{ mg muestra}}{100 \text{ mL disolvente}} = 0,000001 \frac{\text{mg compuesto}}{\text{mL disolvente}} = 1 \text{ ppb}$$

Para la preparación de la disolución de 1 ppm, se toman las mismas pautas que se han tomado en la preparación de las disoluciones de las muestras anteriores.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Fragmentos cargados de los plastificantes

Los fragmentos ionizados que forman un espectro de masas, al ser una especie de huella química como se ha mencionado anteriormente, es importante conocerlos.

Los fragmentos cargados para el adipato de dioctilo, son:

Fragmento cargado (m/z)	Coll. energy (V)
128,95	16
259,03	5
101,23	27
146,97	6

Tabla 12: Iones característicos del adipato de dioctilo.

Los fragmentos cargados para el aceite de soja epoxidado, son:

Fragmento cargado (m/z)	Coll. energy (V)
295,25	32
335,00	27
645,32	25
685,30	30

Tabla 13: Iones característicos del ESBO.

7.2. Cromatografías obtenidas de las muestras realizadas

A continuación, se exponen las cromatografías obtenidas para las muestras de estudio de determinación cuantitativa y cualitativa, de los plastificantes de ESBO y DOA:

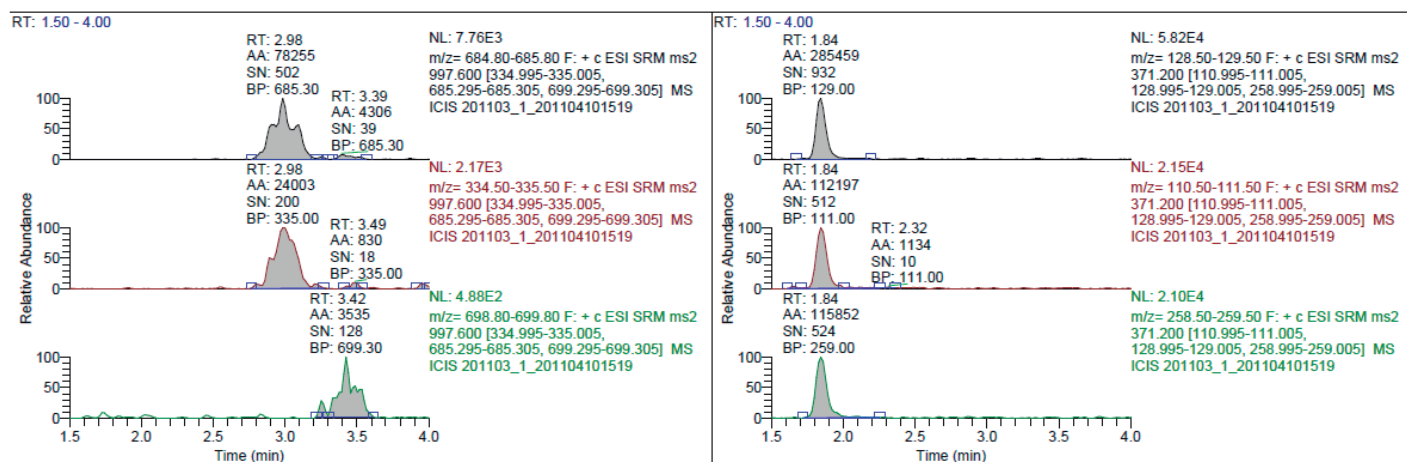


Figura 12: Cromatografía obtenida para la muestra 1.

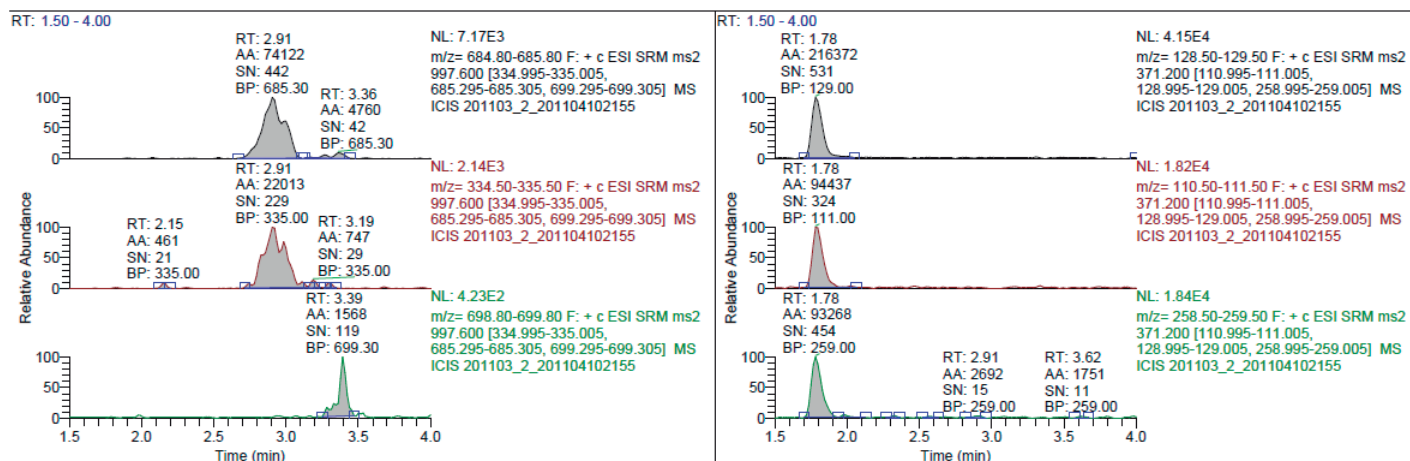


Figura 13: Cromatografía obtenida para la muestra 2.

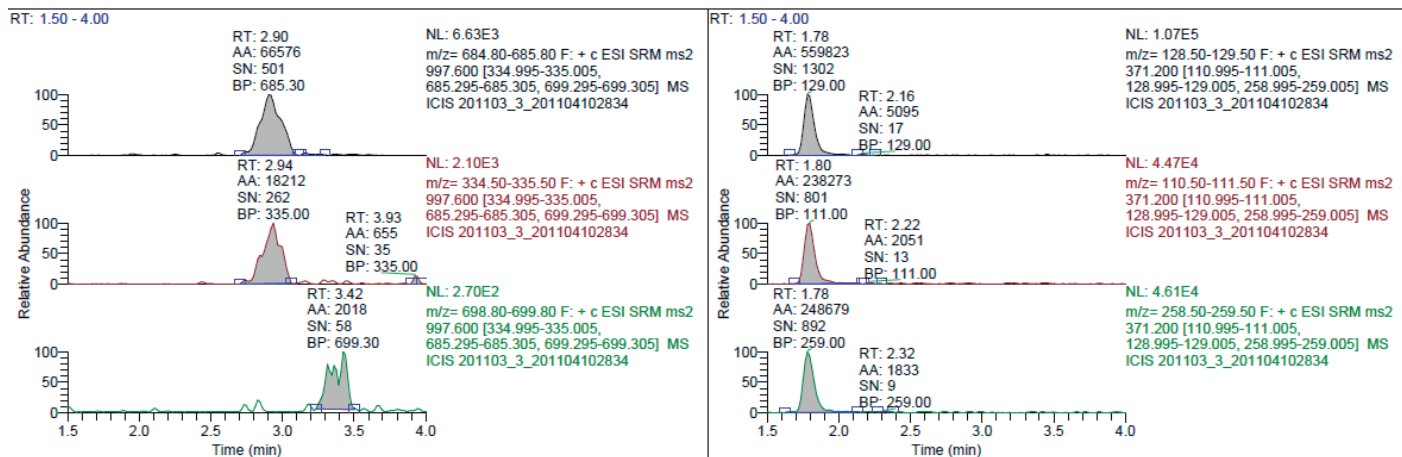


Figura 14: Cromatografía obtenida para la muestra 3.

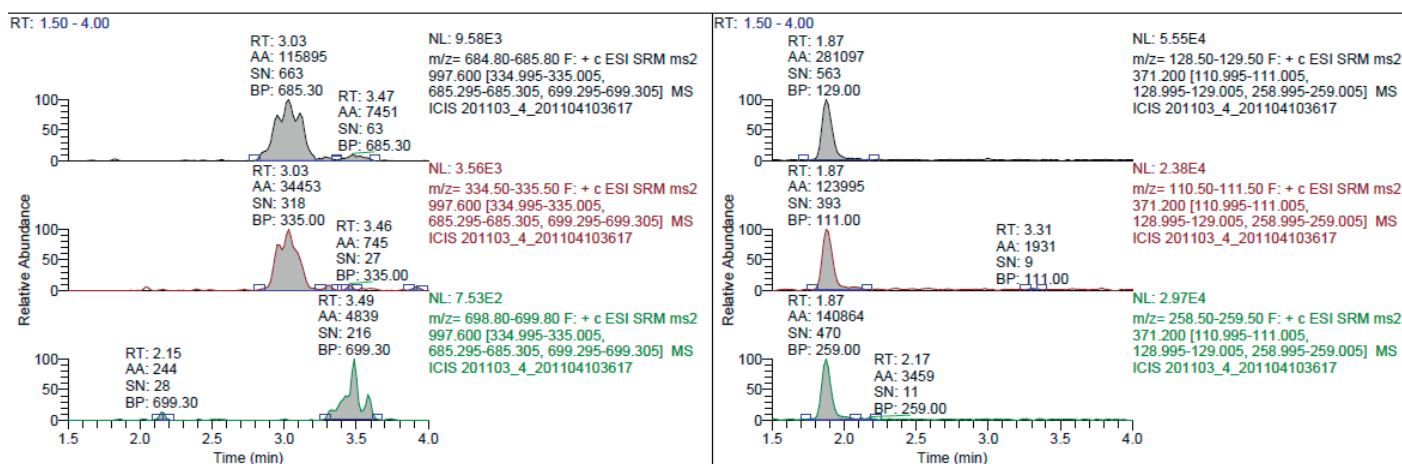


Figura 15: Cromatografía obtenida para la muestra 4.

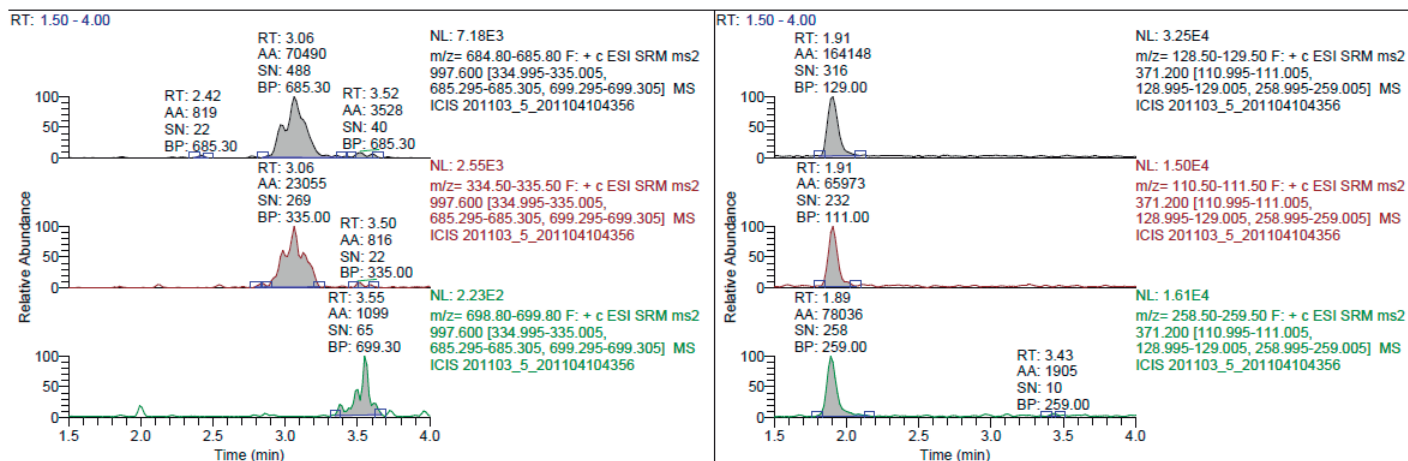


Figura 16: Cromatografía obtenida para la muestra 5.

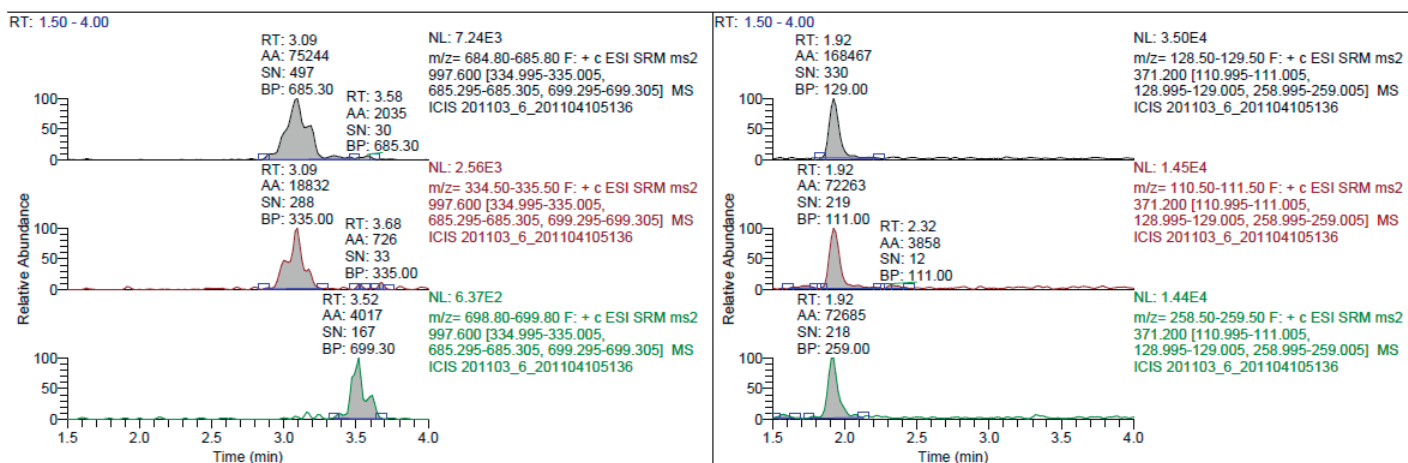


Figura 17: Cromatografía obtenida para la muestra 6.

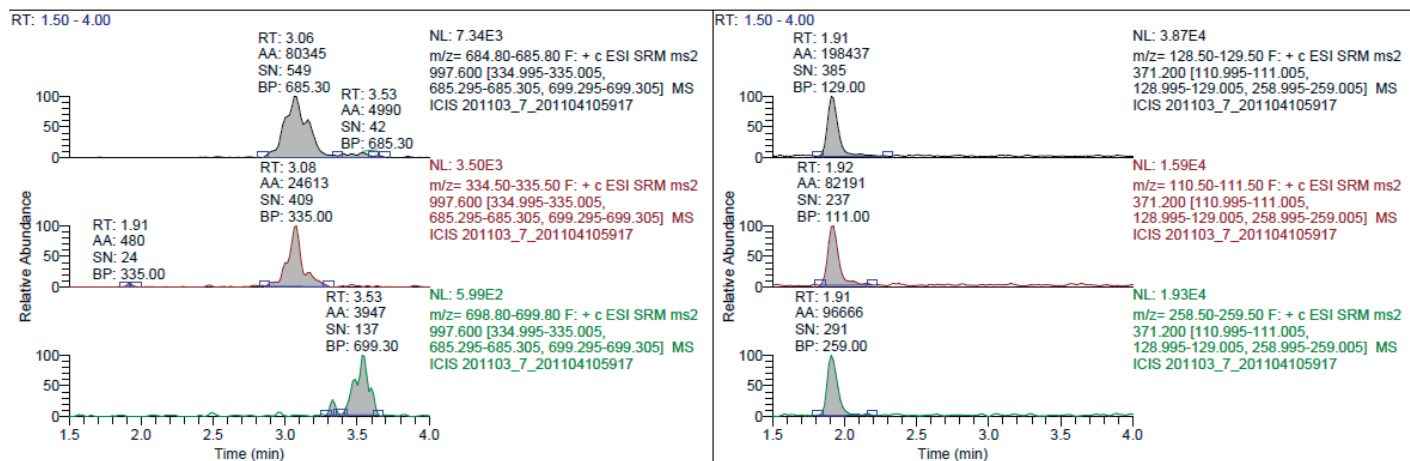


Figura 18: Cromatografía obtenida para la muestra 7.

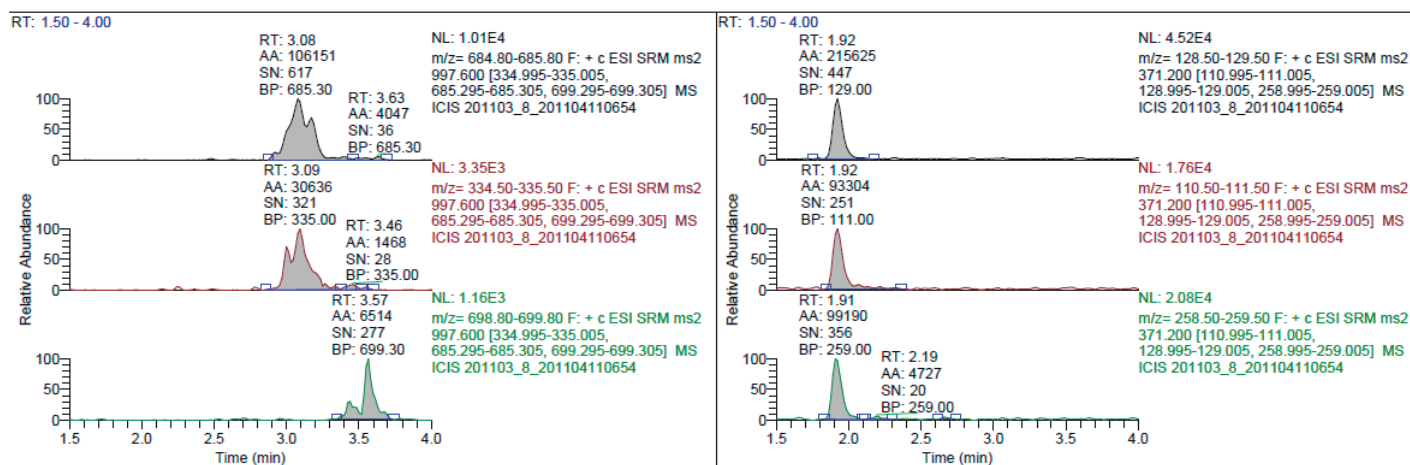


Figura 19: Cromatografía obtenida para la muestra 8.

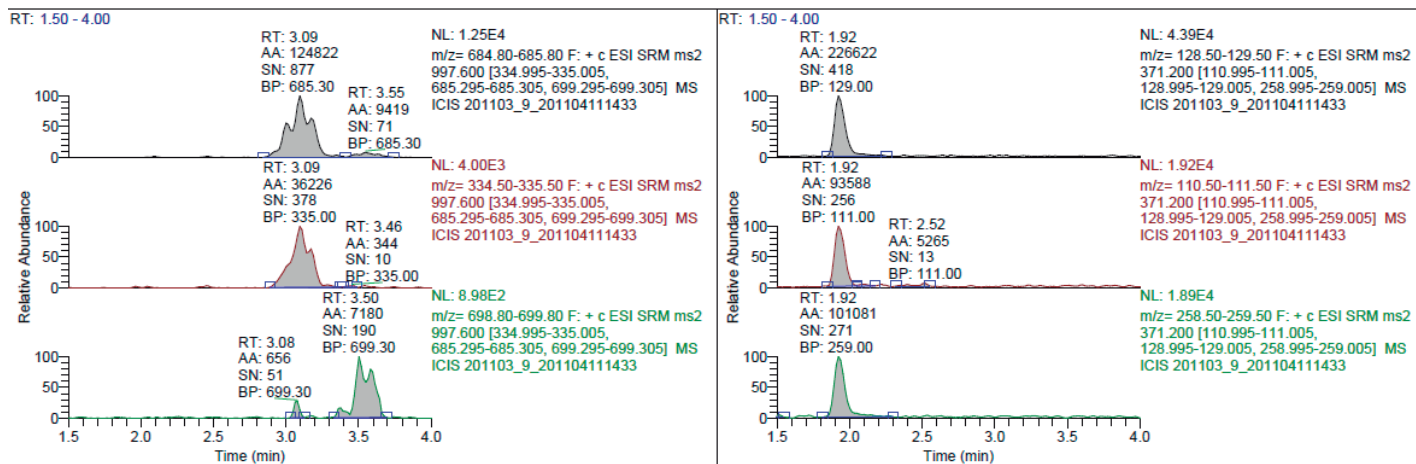


Figura 20: Cromatografía obtenida para la muestra 9.

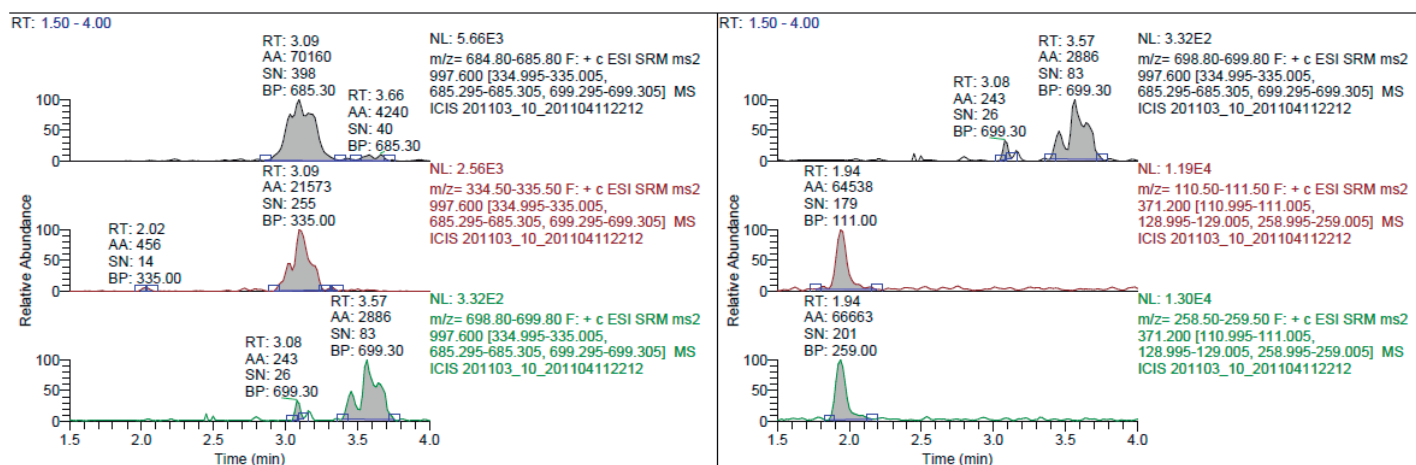


Figura 21: Cromatografía obtenida para la muestra 10.

Una vez obtenidos los cromatogramas de las muestras del ensayo de migración, se selecciona un fragmento para cuantificar, llamado ion target, y otro generalmente el segundo fragmento más abundante, para cualificar el plastificante en la muestra.

Para el aceite de soja epoxidado, tenemos:

- Ion target para dicho compuesto, 685,3.
- Fragmento para cualificar el compuesto, 335.

Para el caso del adipato de dioctilo:

- Ion target para dicho compuesto, 129.
- Fragmento para cualificar el compuesto, 259.

Se recoge el valor del área del fragmento, que se muestra en el cromatograma.

Muestra	Área pico ESBO	Tiempos de retención para ESBO (min)	Área pico DOA	Tiempos de retención para DOA (min)
1	78255	2,98	285459	1,84
2	74122	2,91	216372	1,78
3	66576	2,90	559823	1,78
4	115895	3,03	281097	1,87
5	70490	3,06	164148	1,91
6	75244	3,09	168467	1,92
7	80345	3,06	198437	1,91
8	106151	3,08	215625	1,92
9	124822	3,09	226622	1,92
10	70160	3,09	0	0

Tabla 14: Áreas y tiempos de retención para los fragmentos cargados.

El valor de dichas áreas, en los cromatogramas referentes a los patrones que componen las rectas de calibrado, son:

Patrón de ESBO (ppb)	Área pico ESBO
100000	65819127
1000	16155391
100	3708530
10	2940036
1	308221

Tabla 15: Áreas para los fragmentos cargados, patrones ESBO.

Patrón de ESBO (ppb)	Área pico DOA
100000	30029844
1000	4840414
100	701304
10	535854
1	571013

Tabla 16: Áreas para los fragmentos cargados, patrones adipato de dioctilo.

Realizamos las rectas de calibrado sin patrón interno, lo que significa que se realizan dos rectas, una para cada plastificante.

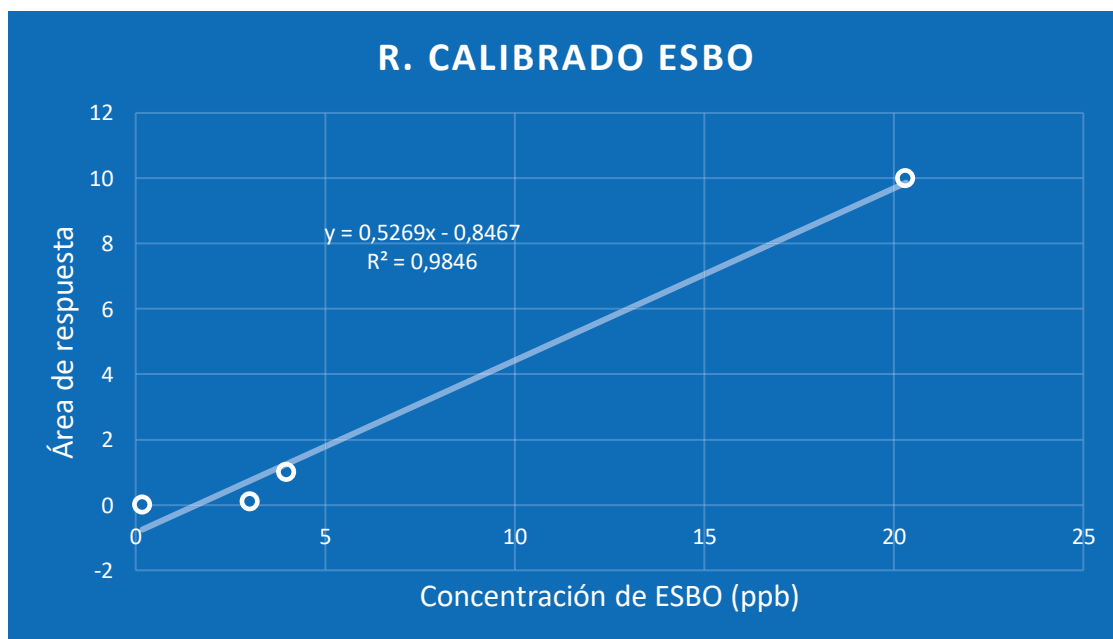


Figura 22: Recta de calibrado realizada para ESBO.

R. CALIBRADO PARA DOA

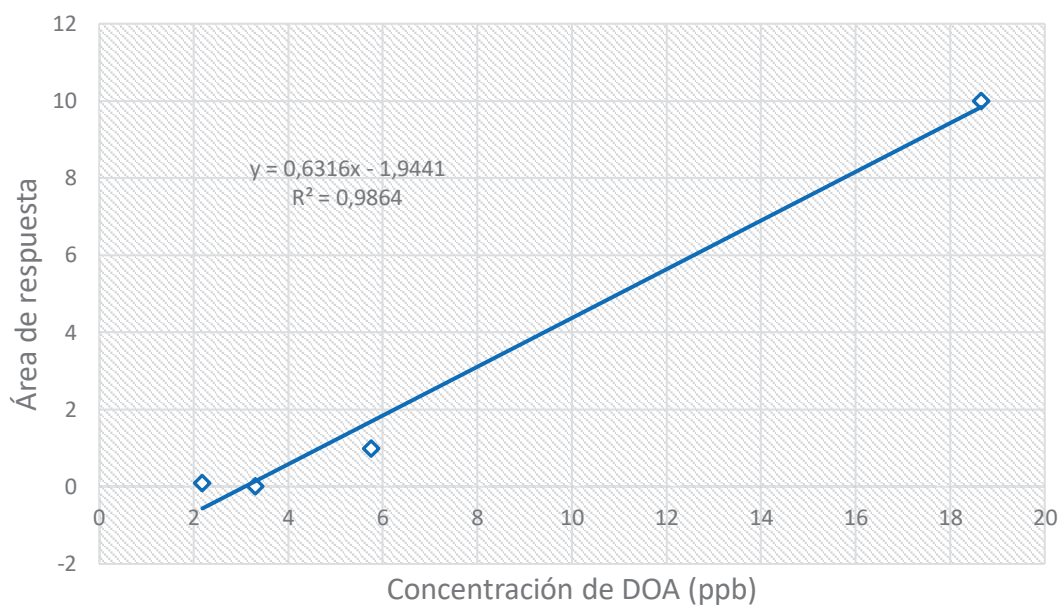


Figura 23: Recta de calibrado realizada para adipato de dioctilo.

Aunque el coeficiente de determinación ajustado, aportado en ambas rectas de calibrado no es muy bueno, nos aportan estos valores de concentración, para ambos plastificantes:

Muestra	Concentración ESBO (ppb)	Concentración DOA (ppb)
1	1,766	6,785
2	1,758	5,888
3	1,743	10,348
4	1,843	6,728
5	1,750	5,210
6	1,760	5,266
7	1,771	5,655
8	1,823	5,878
9	1,861	6,021
10	1,750	3,078

Tabla 17: Concentración de los plastificantes en las muestras.

Concentración de ESBO (ppb) = $1,783 \pm 0,041$

Concentración de DOA (ppb) = $6,086 \pm 1,727$

7.3. Análisis de los datos obtenidos en las cromatografías

Tras el conocimiento de los resultados obtenidos por cromatografía y, con la ayuda de las rectas patrón, se observó una diferencia significativa con los resultados que se manejan de manera teórica. Los datos teóricos se obtienen de la siguiente manera:

a) En primer lugar, se calculan las cantidades de ESBO y DOA presentes en el film:

Peso promedio de muestra de film = 0,1010 g

% característico de aceite de soja epoxidado en el film = 7,2

% característico de adipato de dioctilo en el film = 18

Con ambos datos, se calculan:

$$\text{Cantidad ESBO} = \frac{7,2}{100} \cdot 0,1010 \text{ g film} = 0,007272 \text{ g}$$

$$\text{Cantidad DOA} = \frac{18}{100} \cdot 0,1010 \text{ g film} = 0,01818 \text{ g}$$

b) En segundo lugar, se dan a conocer las concentraciones que encontraríamos en la muestra de simulante:

$$7,272 \text{ mg ESBO} \cdot \frac{1}{0,1 \text{ L disolvente}} = 72,72 \frac{\text{mg ESBO}}{\text{L disolvente}} = 72,72 \text{ ppm ESBO}$$

$$18,18 \text{ mg DOA} \cdot \frac{1}{0,1 \text{ L disolvente}} = 181,80 \frac{\text{mg DOA}}{\text{L disolvente}} = 181,80 \text{ ppm DOA}$$

c) Se realiza una disolución, para esta se toma una gota de simulante cuyos valores se recogen en la Tabla 9 y, se diluye en 100 mL de disolvente.

Densidad AOVE = 0,916 kg/L

Peso promedio de la gota de muestra de simulante = 0,0180 g

- Se calcula el contenido de cada plastificante en la gota de simulante:

$$0,0180 \text{ g simulante} \cdot 0,007272 \text{ g ESBO} \cdot \frac{1}{91,6 \text{ g simulante}} = 0,00000143 \text{ g ESBO}$$

$$0,0180 \text{ g simulante} \cdot 0,01818 \text{ g DOA} \cdot \frac{1}{91,6 \text{ g simulante}} = 0,00000357 \text{ g DOA}$$

- Se calcula su concentración al diluirlos en 100 mL de disolvente:

$$0,00143 \text{ mg ESBO} \cdot \frac{1}{0,1 \text{ L disolvente}} = 0,0143 \frac{\text{mg ESBO}}{\text{L disolvente}} = 0,0143 \text{ ppm} = 14,30 \text{ ppb}$$

$$0,00357 \text{ mg DOA} \cdot \frac{1}{0,1 \text{ L disolvente}} = 0,0357 \frac{\text{mg DOA}}{\text{L disolvente}} = 0,0357 \text{ ppm} = 35,72 \text{ ppb}$$

Cant. ESBO en el film (g)	0,007272
Cant. DOA en el film (g)	0,01818
ESBO en el simulante (ppm)	72,72
DOA en el simulante (ppm)	181,80
ESBO en la disolución (ppb)	14,30
DOA en la disolución (ppb)	35,72

Tabla 18: Cantidades teóricas de plastificantes en el simulante.

Los cálculos para conocer la cantidad de plastificante, en porcentaje y en otras variables, presentes en el simulante, se han realizado teniendo en cuenta una migración total del plastificante hacia el simulante como indica la norma, dicha suposición no expresa cantidades de migración, por lo tanto, no conocemos con exactitud la migración real que sucede, aun así, según valores teóricos tenemos:

Muestra	% ESBO presente en el simulante respecto el teórico contenido en el film	% DOA presente en el simulante respecto el teórico contenido en el film
1	11,85	18,21
2	12,16	16,29
3	13,11	31,14
4	11,24	16,42
5	12,49	14,87
6	12,84	15,36
7	12,27	15,67
8	10,68	13,78
9	10,78	13,96
10	15,12	0

Tabla 19: Porcentaje de migración de los plastificantes al simulante.

% ESBO presente en el simulante respecto al teórico = $12,25 \pm 1,23$

% DOA presente en el simulante respecto al teórico = $15,57 \pm 1,35$

Muestra	Migración ESBO (mg/dm ²)	Migración ESBO (mg/g film)	Migración DOA (mg/dm ²)	Migración DOA (mg/g film)
1	0,9140	51,634	3,511	198,380
2	0,9310	53,805	3,118	180,207
3	0,8970	50,391	5,325	299,166
4	0,8039	38,281	2,935	139,747
5	0,9160	52,343	2,727	155,832
6	0,9057	50,882	2,710	152,243
7	0,9543	56,133	3,047	179,238
8	0,7590	34,501	2,447	111,245
9	0,7749	35,221	2,507	113,951
10	1,0687	71,244	0	0

Tabla 20: Migración de los plastificantes en diversos parámetros.

Migración ESBO (mg/dm²) = $0,8925 \pm 0,0878$

Migración ESBO (mg/g film) = $49,444 \pm 10,514$

Migración ESBO (mg/dm²) = $2,875 \pm 0,329$

Migración ESBO (mg/g film) = $153,855 \pm 29,442$

Indagando sobre las posibles causas, inconvenientes/interferencias, que puedan explicar o sean la razón de que este estudio no ofrezca unos resultados acordes con lo que sugiere la norma, podemos suponer:

- a) El efecto matriz, que se define como una disminución o aumento de la respuesta instrumental del analito, debido a la presencia de otros componentes. En otras palabras, para la misma concentración de analito, el análisis de una muestra real o de una disolución estándar del analito puro, no proporciona la misma respuesta instrumental. [14]

En nuestro caso, hay que tener en cuenta el número de interferencias que puede acarrear una simple gota de aceite, con todos los compuestos que tenga por naturaleza, más esa migración no solo ya de plastificantes provenientes del film si no otro tipo de aditivos, lubricantes, y demás compuestos, que no permitan que el instrumento, como se ha mencionado ya, ofrezca una buena respuesta.

En cuanto a observaciones que se pueden tener sobre este efecto, tenemos:

- Los componentes materiales que dan lugar a efecto matriz, a menudo permanecen sin detectar y/o sin identificar.
- Dichos efectos son causados por diferentes procesos, cuya eliminación puede ser complicada o imposible. [15]

Como dicha eliminación no siempre es imposible, este efecto puede corregirse de varios modos:

- Una posibilidad sería construir siempre la recta de calibrado tomando una muestra parecida a la muestra problema, pero libre del analito a determinar, un blanco de muestra, y añadirle cantidades conocidas del analito para formar soluciones patrón. Sin embargo, esta aproximación resulta, en numerosos casos, impracticable. [14]
- La mejor alternativa, para evitar el efecto matriz es utilizar la técnica de las adiciones estándar (Miller, 2000).

Esta técnica, consiste en la adición de cantidades conocidas del analito, de menor a mayor para una mejor lectura de la respuesta que ofrece el instrumento. La cuantificación del analito se realiza por la recta de calibrado. El mayor inconveniente de esta técnica, es que se necesita construir una recta de adiciones estándar para cada muestra que queramos analizar, lo cual es un volumen de trabajo mayor. [14]

b) Otra hipótesis, sería suponer que la migración de estos plastificantes no es total, al contrario de lo que sostiene la norma. Y esto es, porque dicha norma no añade información sobre migración, por la dificultad de cuantificar este fenómeno.

En la siguiente tabla, se recoge la pesada que se ha realizado a los films, antes y después del procedimiento inicial.

Muestra	Peso inicial (g)	Peso final (g)
1	0,1071	0,1544
2	0,1063	0,1240
3	0,0950	0,1016
4	0,0993	0,1166
5	0,1019	0,1061
6	0,0980	0,1084
7	0,1080	0,1227
8	0,0987	0,1019
9	0,0998	0,1066
10	0,0982	0,1004

Tabla 21: Pesos films PVC antes y después del ensayo.

La pesada del film tras el ensayo, se realizó eliminando de forma física la mayor cantidad de aceite que había sobre su superficie. Esto significa en líneas generales, que este aumento de peso se debe al aceite que queda dentro de la matriz del film y que, según la norma, el hueco que llena el aceite es el hueco que deja el plastificante cuando migra. Pero al no tener una evidencia cuantitativa de esto, puede ser que no migre todo el plastificante y que, el aceite ocupe ciertos huecos de plastificantes que sí que migran y el hueco de aire que hay entre las moléculas de film.

De acuerdo con esta segunda hipótesis, un estudio sobre migración de adipato de dioctilo en diferentes simulantes y en diferentes solventes, prueba que dicha migración de este plastificante no se realiza de manera total, si no que esta es parcial en los diferentes simulantes y solventes estudiados e imparcial entre cada uno de ellos. Siendo esto, recogido en la siguiente tabla:

Simulante	Contenido en grasa (%)	Migración de DOA (mg/dm ²)	Migración de DOA (mg/g film)
Grasa de ternera	79	29	36
Alitas de pollo	36	19	20
Carne de ternera	22	12	14
Filete de pescado	0,14	2,40	2,90
Carne magra de ternera	4,40	1,40	1,80
Manzanas	0,53	0,22	0,30
Zanahorias	0,25	0,044	0,06

Tabla 22: Datos aportados por el estudio de migración de DOA en alimentos. [17]

El ensayo que se realizó para ese estudio, fue exponer los alimentos al film, de 1 dm² de área, durante 7 días a una temperatura de 4 °C. El film contenía 240 mg DOA/g film.

La migración supondría:

Simulante	Proporción de migración (%)
Grasa de ternera	15
Alitas de pollo	8,33
Carne de ternera	5,83
Filete de pescado	1,21
Carne magra de ternera	0,75
Manzanas	0,13
Zanahorias	0,03

Tabla 23: Proporción de migración de DOA a los simulantes estudiados. [17]

Dicho estudio, avanza más en el estudio de migración variando los solventes que se ponían en contacto con los alimentos y el film, en el que se refleja una mayor y menor afinidad entre unos solventes y la migración y, como la agitación es un factor que siempre ayuda a obtener unos valores de migración mayores. [17]

8. CONCLUSIÓN

Según los datos obtenidos, podemos concluir que por primera vez se ha conseguido determinar la presencia de plastificantes en simulantes, mediante el empleo de la técnica de ESI-LC-MS-MS. Desarrollando así un método que permite detectar simultáneamente DOA y ESBO sin un tratamiento previo de la muestra de simulante.

Aunque, con estas condiciones y con el procedimiento puesto a punto, no podemos corroborar con certeza la utilidad de éste para la determinación cuantitativa de los plastificantes, ESBO y DOA en aceite de oliva virgen extra.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2020). Materiales en contacto con los alimentos. Recuperado de <https://www.aesan.gob.es/>
2. Comisión de las Comunidades Europeas (2000). Libro verde: Cuestiones medioambientales relacionadas con el PVC. Recuperado de <https://eur-lex.europa.eu/>
3. Edgar, E. Enfoque pedagógico para el PVC. Primer Congreso Nacional de la industria del Plástico Caucho y Ramas Afines. 1999.
4. García, S. Migración de plastificantes de PVC. Universidad de Alicante. 2006.
5. D.H. Watson, M.N. Meah. Migración de sustancias químicas desde el envase al alimento. Acribia, Zaragoza. 1995.
6. Bueno, C. Bio-compuestos termoplásticos basados en aceites vegetales. Estudio de su aplicabilidad al envasado de alimentos. Universidad de Alicante. 2012.
7. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to the use of Epoxidised soybean oil in food contact materials. EFSA Journal, 64(7): 1-17. 2004.
8. S. J. Park, F. L. Jin, J. R. Lee. Thermal and mechanical properties of tetrafunctional epoxy resin toughened with epoxidized soybean oil. Materials Science and Engineering A, 374:10-114. 2004.
9. Universidad Complutense de Madrid (2013). Cromatografía líquida (HPLC). Recuperado de <https://www.ucm.es/>
10. Agilent (2016). Espectrometría de masas. Fundamentos y teoría. Recuperado de <https://www.agilent.com/>
11. O'Brien, Peter. Procedures for Comparing Samples with Multiple Endpoints. International Biometric Society. 1984.
12. Unión Europea. Reglamento 10/2011, de 14 de enero de 2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos, y sus posteriores modificaciones. Diario oficial de la Unión Europea, 15 de enero de 2011, núm 12, pp. 1-89.
13. Sartorius. Catálogo completo: Mecatrónica para el laboratorio. Recuperado de <http://psfiltracion.com/>
14. Boqué, Ricard. "La selectividad en análisis químico". Universidad Rovira i Virgili, Tarragona.
15. Cuadros, L., Gámiz, L., Carraco, A., Ruiz, C. (2013). Glosario de términos analíticos. Grupo Regional Andaluz de la Sociedad Española de Química Analítica.

16. Traquisa (2019). Ficha técnica DOA. Recuperado de <https://www.traquisa.com/>
17. Till, D. E., Reid, R. C, Schwartz, P., Sidman, K. R., Valentine, J. R., Whelan, R. H. (1982). Plasticizer migration from polyvinyl chloride film to solvents and foods. Food Chem. Toxic, Great Britain. Vol. 20, pp 95 to 104.
18. Linarejos, R. (2018). Determinación de ESBO en simulantes. Universidad de Jaén, Jaén.
19. Guinea-García, M. (2018). Modificación en el proceso de extrusión de una línea de producción de Flexia film, S.A. Universidad de Jaén, Jaén.
20. Coltro et al. Migration of conventional and new plasticizers from PVC films into food simulants: A comparative study. Chemistry Technical High School Conselheiro Antonio Prado, Brasil. 2014.
21. Trujillo, C., Domeño, C., Aznar, M. (2016). Análisis de la migración de ESBO del envase al alimento. Universidad de Zaragoza, Zaragoza.