

Universidad de Santiago

Facultad de Farmacia

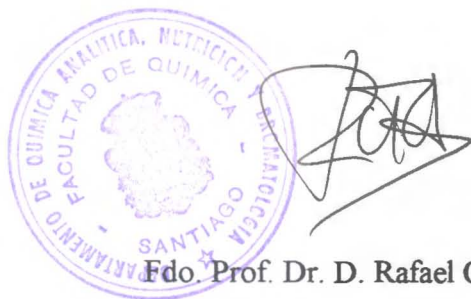
Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología
Área de Nutrición y Bromatología

**DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
BISFENOL A DIGLICIDIL ÉTER (BADGE) EN SIMULANTES ACUOSOS DE
ALIMENTOS**

**M^a Concepción Pérez Lamela
Santiago de Compostela
1995**

RAFAEL CELA TORRIJOS, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA, NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

INFORMA que Dña. M^a Concepción Pérez Lamela, Graduada en Farmacia, presenta el trabajo titulado "DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE BISFENOL A DIGLICIDIL ÉTER (BADGE) EN SIMULANTES ACUOSOS DE ALIMENTOS" realizado bajo la dirección del Dr. D. Jesús Simal Lozano y el Dr. D. Perfecto Paseiro Losada, en los laboratorios de Bromatología de la Facultad de Farmacia de Santiago de Compostela.



Fdo. Prof. Dr. D. Rafael Cela Torrijos

Santiago de Compostela, Mayo de 1995

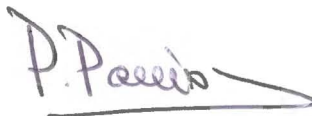
JESÚS SIMAL LOZANO, CATEDRÁTICO DE BROMATOLOGÍA, TOXICOLOGÍA
Y ANÁLISIS QUÍMICO APLICADO, Y PERFECTO PASEIRO LOSADA,
PROFESOR TITULAR DE LAS MISMAS DISCIPLINAS

AUTORIZAN a Dña. M^a Concepción Pérez Lamela a presentar la Tesis titulada "DESARROLLO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE BISFENOL A DIGLICIDIL ÉTER (BADGE) EN SIMULANTES ACUOSOS DE ALIMENTOS" para optar al Grado de Doctor, la cual ha sido realizada bajo su dirección en los laboratorios de Bromatología de la Facultad de Farmacia de Santiago de Compostela.

Y para que conste, se expide la presente en Santiago de Compostela, en Mayo de mil novecientos noventa y cinco.



Fdo. Prof. Dr. Jesús Simal Lozano



Fdo. Prof. Dr. Perfecto Paseiro Losada

A mis padres y a mis hermanos

AGRADECIMIENTOS:

Quiero agradecer a todas aquellas personas que de una u otra manera han colaborado ayudándome en la realización de este trabajo.

En primer lugar a los directores de esta Tesis: el Prof. Dr. **Jesús Simal Lozano** y el Prof. Dr. **Perfecto Paseiro Losada** por su constante ayuda y apoyo en mi formación científica.

Al Dr. **Jesús Simal Gándara**, Profesor Titular de la Universidad de Vigo, que siempre me ha aconsejado desinteresadamente, sugiriéndome ideas en todo momento y orientándome en el análisis e interpretación de los datos.

A **Fátima**, le agradezco enormemente que haya compartido conmigo los buenos y malos ratos pasados durante la realización de una gran parte de la Tesis.

A **GAIRESA**, empresa que nos ha proporcionado prácticamente la totalidad de las muestras sin las cuales no podría llevarse a cabo este trabajo, y fundamentalmente al Dr. **Senén Paz Abuín** y a su mujer **Merche**, por su asesoramiento en la descripción de algunos de estos productos.

A la **Consellería de Educación e Ordenación Universitaria** de la Xunta de Galicia por la concesión del proyecto XUGA20307B93, de las becas de Tercer ciclo durante el bienio 91-93 y de las becas predoctorales durante los años 93-95.

Al Dr. **Roland Franz** del Instituto Fraunhofer (Munich) y a Mr. **Rinus Rijk** del TNO-Zeist (Holanda) por invitarnos a colaborar en un proyecto de investigación de la Comunidad Económica Europea dentro del Programa Comunitario de I+D en el ámbito de Medidas y Ensayos.

A **Ignacio José Rodríguez Pardo**, Jefe de Laboratorio y Asistencia Técnica del Centro de Inspección del Comercio Exterior dependiente de la Dirección General de Exportaciones, por su ayuda al proporcionarnos no sólo todos los envases con recubrimientos de resinas objeto de este estudio sino también la máquina selladora.

A todos los **profesores y compañeros** del Departamento y en especial a **Puri** (actualmente Profesora Titular de la Universidad de La Coruña) y a **Patricia**, por el apoyo que siempre me han proporcionado y por el cordial ambiente de trabajo.

Al Departamento de Microbiología y, en concreto, a **María** y a **Almudena** por permitirme utilizar el autoclave.

Y, sobre todo, a **mis padres** que siempre me han ayudado poniendo todos los medios a mi alcance y animándome constantemente durante la Licenciatura y los estudios de Doctorado.

TABLA DE CONTENIDO	Páginas
ÍNDICE	i
ABREVIATURAS.....	vi
EXPLICACIÓN DE ALGUNOS TÉRMINOS UTILIZADOS	ix
LISTA DE TABLAS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS	xvii
0.- PRÓLOGO	1
1.- INTRODUCCIÓN.....	5
1.1.- OBJETIVOS.....	6
1.2.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	6
1.2.1.- ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN DE RESINAS EPOXI	6
1.2.1.1.- MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS	7
1.2.1.2.- MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS.....	9
1.2.1.3.- MÉTODOS FÍSICOS.....	10
1.2.2.- DETERMINACIÓN DE LA MIGRACIÓN DESDE MATERIAS PLÁSTICAS 10	
1.2.2.1.- MIGRACIÓN DESDE RESINAS EPOXI	10
1.2.2.2.- MIGRACIÓN DESDE OTROS PLÁSTICOS	10
1.3.- IMPORTANCIA DEL ENVASE EN ALIMENTACIÓN.....	15
1.3.1.- MATERIALES UTILIZADOS	15
1.3.2.- FUNCIONES DE LOS ENVASES ALIMENTARIOS.....	16
1.3.3.- CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES DEL ENVASE.....	16
1.3.4.- CAMBIOS EN EL PANORAMA ACTUAL DEL ENVASADO	
ALIMENTARIO.....	17
1.3.4.1.- RAZONES QUE JUSTIFICAN ESTOS CAMBIOS.....	18
1.3.5.- INDUSTRIA DEL "PACKAGING"	18
1.3.5.1.- EMPRESAS QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO.....	19
1.3.5.2.- VENTAJAS DE LOS PLÁSTICOS	20
1.3.5.3.- INCONVENIENTES	21
1.4.- REPERCUSIÓN MEDIOAMBIENTAL DE LOS ENVASES PLÁSTICOS.....	21
1.4.1.- PRODUCTOS ECOLÓGICOS	21

I.4.2.- MEDIDAS PARA EVITAR CONTAMINACIONES AMBIENTALES	22	
I.4.3.- RECICLADO	23	
I.5.- CONSIDERACIONES LEGALES DE LOS MATERIALES PLÁSTICOS		
UTILIZADOS EN ENVASES ALIMENTARIOS	24	
I.5.1.- SITUACIÓN LEGAL COMUNITARIA	24	
I.5.1.1.- OBJETIVOS QUE SE PRETENDEN ALCANZAR	25	
I.5.1.2.- JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD DE UNA ARMONIZACIÓN LEGAL	25	
I.5.2.- DIRECTIVAS VIGENTES	26	
I.5.3.- PERSPECTIVAS FUTURAS	28	
I.6.- COMITÉ CIENTÍFICO PARA LA ALIMENTACIÓN: ÓRGANO CONSULTIVO DE LA UNIÓN EUROPEA.....		29
I.7.- ESTABLECIMIENTO DE LA LISTA POSITIVA		29
I.7.1.- NECESIDAD DE MATERIALES INERTES	30	
I.7.2.- ¿CÓMO SE ESTABLECE LA LISTA POSITIVA?	31	
I.7.3.- OBJETIVOS DEL ESTABLECIMIENTO DE LA LISTA POSITIVA.....	32	
I.7.4.- LISTAS DEL COMITÉ CIENTÍFICO PARA LA ALIMENTACIÓN.....	32	
I.7.4.1.- DESCRIPCIÓN DE LAS LISTAS	33	
I.7.5.- LISTAS POSITIVAS DE LA COMUNIDAD	35	
I.8.- SITUACIÓN LEGAL ESPAÑOLA		35
I.9.- COMENTARIOS A LA LEGISLACIÓN.....		36
I.10.- NIVEL DE REGULACIÓN Y LÍMITES DE MIGRACIÓN		36
I.11.- FENÓMENO DE MIGRACIÓN.....		38
I.11.1.- PARÁMETROS INDICADORES DE LA MIGRACIÓN	38	
I.11.2.- ENSAYOS DE MIGRACIÓN.....	39	
I.11.2.1- PROBLEMAS PRÁCTICOS DE REALIZACIÓN DEL ENSAYO.....	39	
I.11.2.2.- DATOS NECESARIOS EN UN TEST DE MIGRACIÓN	40	
I.11.3.- REGLAS BÁSICAS PARA REALIZAR LOS TEST DE MIGRACIÓN EN SIMULANTES DE ALIMENTOS	40	
I.11.3.1.- SIMULANTES DE ALIMENTOS.....	42	

I.11.3.2.- CONDICIONES DEL TEST (TIEMPOS Y TEMPERATURAS).....	43
I.11.3.3.- CUBETAS O CÉLULAS PARA LOS TEST DE MIGRACIÓN.....	44
I.11.4.- EXCEPCIONES A LAS CONDICIONES NORMALES DE TEST.....	44
I.12.- DATOS TOXICOLÓGICOS.....	45
I.12.1.- CRITERIOS TOXICOLÓGICOS.....	46
I.12.2.- TEST TOXICOLÓGICOS REQUERIDOS.....	47
I.13.- ESTUDIOS DE HIDRÓLISIS.....	49
I.13.1.- PREPARACIÓN DE SIMULANTES.....	49
I.13.1.1.- LÍQUIDO SIMULANTE DE SALIVA.....	49
I.13.1.2.- LÍQUIDO SIMULANTE DEL FLUIDO GÁSTRICO.....	49
I.13.1.3.- LÍQUIDO SIMULANTE DEL FLUIDO INTESTINAL.....	49
I.13.2.- PROCEDIMIENTO.....	49
II.- PARTE EXPERIMENTAL.....	50
II.1.- DETERMINACIÓN DE BADGE EN SIMULANTES ACUOSOS DE ALIMENTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.....	51
II.1.1.- FUNDAMENTO.....	51
II.1.2.- MÉTODO EN MODO ISOCRÁTICO.....	51
II.1.2.1.- REACTIVOS.....	51
II.1.2.2.- INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES.....	53
II.1.2.3.- MUESTRA.....	53
II.1.2.4.- PROCEDIMIENTO.....	54
II.1.2.5.- CONFIRMACIÓN.....	54
II.1.3.- MÉTODO EN MODO GRADIENTE.....	55
II.2.- DETERMINACIÓN DE LA MIGRACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	56
II.2.1.- FUNDAMENTO.....	56
II.2.2.- MÉTODO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.....	56
II.2.2.1.- REACTIVOS E INSTRUMENTACIÓN.....	56
II.2.2.2.- CONDICIONES DE ENSAYO.....	57
II.2.2.3.- MUESTRAS: MATERIALES POLIMÉRICOS USADOS.....	57
II.2.2.4.- PROCEDIMIENTO.....	59

II.3. - DETERMINACIÓN DE BADGE MEDIANTE ESPECTROFLUORIMETRÍA.....	59
II.3.1. - FUNDAMENTO	59
II.3.2. - MÉTODO ESPECTROFLUORIMÉTRICO.....	59
II.3.2.1. - REACTIVOS	59
II.3.2.2. - INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES.....	60
II.3.2.3. - PATRONES DE BADGE.....	60
II.3.2.4. - PROCEDIMIENTO	61
II.4. - DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE HIDRÓLISIS DEL BADGE MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.....	61
II.4.1. - FUNDAMENTO	61
II.4.2. - MÉTODO EN MODO GRADIENTE	61
II.1.2.1. - REACTIVOS	61
II.1.2.2. - INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES.....	61
II.1.2.3. - PATRONES DE BADGE.....	61
II.1.2.4. - PROCEDIMIENTO	62
II.5. - DETERMINACIÓN DE LA FLUORESCENCIA RELATIVA DEL BADGE Y DE SUS PRODUCTOS DE HIDRÓLISIS	64
II.5.1. - FUNDAMENTO	64
II.5.2. - MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN.....	64
II.5.2.1. - REACTIVOS	64
II.5.2.2. - INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES.....	64
II.5.2.3. - PATRONES DE BADGE.....	64
II.5.2.4. - PROCEDIMIENTO	64
II.6. - DETERMINACIÓN DE NIVELES RESIDUALES DE SOLVENTES EN RESINAS EPOXI ELABORADAS CON ENDURECEDORES MANNICH	66
II.6.1. - FUNDAMENTO	66
II.6.2. - MÉTODO GAS-CROMATOGRÁFICO	67
II.6.2.1. - REACTIVOS	67
II.6.2.2. - INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES.....	67
II.6.2.3. - MUESTRA	68
II.6.2.4. - PROCEDIMIENTO	68
III. - RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	70

III.1.- DETERMINACIÓN DE BADGE EN SIMULANTES ACUOSOS DE ALIMENTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN	71
III.1.1.- CALIBRACIÓN	71
III.1.2.- PRECISIÓN INTRALABORATORIO	72
III.1.3.- CONFIRMACIÓN	73
III.1.4.- ESTABILIDAD DE LAS SOLUCIONES PATRÓN	74
III.2.- DETERMINACIÓN DE LA MIGRACIÓN DE LAS MUESTRAS	74
III.2.1.- MIGRACIÓN DEL POLÍMERO (TRAS 10 DÍAS A 40°C).....	74
III.2.2.- MIGRACIÓN DE LA SOLUCIÓN SOBRECARGADA (10 DÍAS A 40°C).....	74
III.2.3.- SIMULANTE SOBRECARGADO Y POSTERIORMENTE ALMACE- NADO 10 DÍAS A 40 °C	75
III.3.- DETERMINACIÓN DE BADGE MEDIANTE ESPECTROFLUORIMETRÍA	75
III.3.1.- CALIBRACIÓN	75
III.4.- CINÉTICA DE HIDRÓLISIS DEL BADGE.....	76
III.5.- FLUORESCENCIA RELATIVA DEL BADGE Y DE SUS PRODUCTOS DE HIDRÓLISIS	77
III.6.- DETERMINACIÓN DE NIVELES RESIDUALES DE SOLVENTES DE RESINAS EPOXI ELABORADAS CON ENDURECEDORES DE MANNICH.....	78
III.6.1.- CALIBRACIÓN Y PRECISIÓN DE LA MEDIDA.....	78
III.6.2.- MUESTRAS	78
IV.- CONCLUSIONES.....	79
V.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
TABLAS	110
FIGURAS.....	140
APÉNDICE DE ECUACIONES	179
RESUMEN.....	180

ABREVIATURAS

- A:** Área
- ACS:** American Chemical Society
- ADI:** Admissible Daily Intake (ingesta diaria admisible)
- AOAC:** Association of Official Analytical Chemists
- ASTM:** American Society for Testing Materials
- A_{FL}:** Áreas de intensidad de fluorescencia
- A_{UV}:** Áreas de absorbancia ultravioleta
- BADGE:** Bisfenol A diglicidil éter
- BCR:** Bureau Communautaire de Référence (Oficina Comunitaria de Referencia)
- BOE:** Boletín Oficial del Estado
- C:** Concentración
- CAS:** Chemical Abstracts Service
- CEE:** Comunidad Económica Europea
- CEN:** Comité europeo de normalización
- CGC:** Capillary Gas Chromatography (cromatografía de gases con columna capilar)
- DO:** Diario Oficial
- ec.:** ecuación
- EPA:** Environmental Protection Agency (Agencia de protección para el medioambiente)
- et al.:** et alii (y otros)
- FAO/WHO:** Food and Agriculture Organization / World Health Organization (Organización para la Agricultura y Alimentación / Organización Mundial de la Salud)
- FDA:** Food and Drug Administration (Administración para la alimentación y los medicamentos)
- FID:** Flame Ionization Detector (Detector de ionización de llama)
- Fig(s).:** figura(s)
- FL:** Fluorescencia
- FLS:** Food Liquid Simulant (Líquido simulante de alimentos)
- FT-IR:** Fourier Transformer-Infrared Spectroscopy (Espectroscopía de Infrarrojo-Transformada de Fourier)
- GAIRESA:** Gallega de Impermeabilizantes y Recubrimientos Especiales, Sociedad Anónima

- GC:** Gas Chromatography (Cromatografía de gases)
- GPC:** Gel Permeation Chromatography (Cromatografía de gel permeación)
- hab:** habitante
- i. e.:** id est (esto es)
- INT:** Intensidad
- IS:** Internal Standard (estándar interno)
- ISO:** International Standardization Organization (Organización internacional de estandarización)
- JECFA:** Joint Expert Committee on Food Additives (Unión del Comité de Expertos en aditivos alimentarios)
- LME:** Límite de migración específico
- LMG:** Límite de migración global
- M:** Molaridad
- MAFF:** Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Ministerio inglés de Agricultura, Pesca y Alimentación)
- MS:** Mass Spectrometry (espectrometría de masas)
- m-XDA:** *m*-Xylylenediamine (1,3-Bencenodimetanamina)
- NOAEL:** No Observable Adverse Effects Level (Nivel de efectos adversos no observables)
- P:** Precisión
- PH:** Producto(s) de Hidrólisis
- ppm:** partes por millón
- ptas.:** pesetas
- QM:** "Quantity Maximum" (cantidad o nivel residual)
- r:** repetibilidad
- R:** Coeficiente de correlación
- Rp:** Respuesta
- Rec.:** Recuperación
- Ref:** Referencia
- RD:** Real Decreto
- RMN:** Resonancia Magnética Nuclear
- RP-HPLC:** Reverse phase High Performance Liquid Chromatography
(cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa)
- RTS:** Reglamentación Técnico-Sanitaria
- SCF:** Scientific Committee for Food (Comité científico para la Alimentación)
- SD:** Standard Deviation (desviación estándar)
- Sr:** Error estándar de los estimados
- Sum:** Sumatorio

t-ADI: Admissible Daily Intake temporary (ingesta diaria admisible temporal)
TDI: Tolerable Daily Intake (ingesta diaria tolerable)
THF: Tetrahidrofurano
TLC: Thin Layer Chromatography (cromatografía en capa fina)
UE: Unión Europea
UHT: Ultra High Temperature
uma: unidad de masa atómica
UV: ultravioleta
 λ_{ex} : longitud de onda de excitación
 λ_{em} : longitud de onda de emisión

ABREVIATURAS DE MONÓMEROS DE PLÁSTICOS (establecidas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada):

ABS: acrilonitrilo/butadieno/styrene(estireno)
ASA: acrilonitrilo/styrene/acrilato
EPS: Expanded Polystyrene (poliestireno expandido)
PAN: poliacrilonitrilo
PE: polietileno
PETP: poli(tereftalato de etileno)
PP: polipropileno
PS: polystyrene
PVC: poli(cloruro de vinilo)
PVDC: poli(cloruro de vinilideno)

No se incluyen las abreviaturas del Sistema Métrico Internacional (ver Decreto 25 de Abril 1974, nº 1257/74, publicado en el BOE del 8 de Mayo de 1974, nº 110).

EXPLICACIÓN DE ALGUNOS TÉRMINOS UTILIZADOS:

Para comprender mejor algunos contenidos expuestos en esta memoria, creemos conveniente aclarar el significado asignado a ciertos términos que aparecen citados varias veces en el texto.

1.-IMPUREZAS Y MEZCLAS

Aunque la Directiva 92/128/CEE no define estos dos términos, podemos apuntar algunas ideas generales para evitar malentendidos en su utilización. Las principales diferencias entre impurezas y constituyentes de mezclas se resumen en la Tabla 1.

Impurezas: Se entiende que son impurezas (o aditivos involuntarios) aquellas sustancias extrañas incorporadas a los alimentos a causa de su producción, elaboración tecnológica, envasado y distribución. Según el Código Alimentario Español las impurezas se clasifican en los siguientes grupos:

- a) Sustancias químicas extrañas cuya presencia no está permitida.
- b) Sustancias químicas residuales procedentes de tratamientos autorizados
- c) Semillas y otras partículas comestibles, de igual o distinta naturaleza a la del alimento que las contenga.
- d) materias inertes, semillas extrañas y otras partículas no comestibles.
- e) Materias cuya presencia prejuzgue un deficiente estado higiénico sanitario.

La Directiva 90/128/CEE especifica claramente en el Anexo II punto 3 que las impurezas de las sustancias autorizadas no deberían figurar en la lista positiva y, por lo tanto no se les exige una autorización específica.

-Si las impurezas están en la lista positiva, es responsabilidad del fabricante que estas impurezas deben cumplir con los requisitos de LME u otras restricciones indicadas en esta Directiva.

-Si las impurezas no están en la lista positiva, será también responsabilidad del fabricante asegurar que del producto terminado no se transferirán al alimento en cantidades que puedan poner en peligro la salud humana o bien provoquen un cambio inaceptable en la composición del producto alimenticio o un deterioro en sus características organolépticas.

Si es necesario, el SCF podrá decidir el imponer algunas restricciones a la presencia de impurezas.

Mezclas: Con este término se define una combinación física de sustancias donde cada constituyente mantiene su identidad química. Las mezclas en las que se producen reacciones químicas entre sus componentes no se engloban en este concepto.

Es importante tener una idea clara acerca de las mezclas para ayudar a la industria a predecir el número de test que exigirá el SCF para evaluar una mezcla. Algunas cuestiones derivadas de las mezclas son las siguientes:

-Si una mezcla A+B+C donde A, B y C son los componentes individuales de la mezcla -natural o sintética- figura en las listas positivas de la Comunidad, ¿automáticamente se autoriza el uso de sus componentes por separado? La respuesta es negativa porque la toxicidad de una sustancia depende de la dosis ingerida por los animales de experimentación en el test de toxicidad. Además los datos obtenidos de un cierto porcentaje de sustancia no siempre pueden extrapolarse al 100% de la sustancia.

-Si los componentes de una mezcla figuran en las listas individualmente, ¿se autorizan todas sus mezclas? La respuesta en este caso es positiva. (Commission of the European Communities. Practical Guide 1993).

2.-"PACKAGING"

"Packaging" significa tanto envase como embalaje, pero no distingue entre ambos términos. Hay que diferenciar el término 'envase' (aquello que está en contacto directo con el alimento) de 'embalaje' (otros envoltorios adicionales) ya que la palabra inglesa "packaging" engloba ambos conceptos y en ocasiones se presta a confusión.

En inglés cuando se quiera precisar se usaría "inner packaging" o "first packaging" si nos referimos al envase y "outer packaging" o "second packaging" en el caso de embalaje. Sin estas especificaciones al decir "packaging" en inglés no sabremos si estamos hablando del envase (protección del producto fraccionable para su venta por unidades o al detalle en el comercio al por menor), o del embalaje (protección del producto para su distribución a lo largo de toda la cadena logística) (Sicre Canut 1992).

3.-MATERIA PLÁSTICA

Según la Directiva 90/128/CEE se entenderá por **materia plástica** el compuesto macromolecular orgánico obtenido por polimerización, policondensación, poliadición u otro procedimiento similar a partir de moléculas de peso molecular inferior o por modificación de macromoléculas naturales. Se considerarán asimismo materias plásticas

las siliconas y otros compuestos macromoleculares similares. A dicho compuesto macromolecular podrán añadirse otras sustancias o materias; sin embargo no se considerarán "materias plásticas":

1º.-Las películas de celulosa regenerada, barnizadas y no barnizadas, incluidas en la Directiva 83/229/CEE, modificada por la Directiva 86/388/CEE.

2º.-Los elastómeros y cauchos naturales y sintéticos.

3º.-Los papeles y cartones, modificados o no por añadido de materia plástica.

4º.-Los revestimientos de superficie obtenidos a partir de:

-ceras de parafina, incluidas las ceras de parafina sintética y/o ceras microcristalinas,

-mezclas de ceras mencionadas en el primer guion, entre sí y/o con materias plásticas.

5º.-Las resinas de intercambio iónico.

4.-MONÓMERO Y OTRAS SUSTANCIAS DE PARTIDA

Con las expresiones **monómero** y **otras sustancias de partida** nos referimos a toda sustancia utilizada en la fabricación de una macromolécula que constituye la unidad repetitiva de una cadena polimérica o de una matriz polimérica de cualquier compuesto empleado en la manufactura de un plástico destinado a entrar en contacto con alimentos. También se engloban en esta definición aquellos compuestos químicos utilizados para modificar la estructura de macromoléculas o polímeros ya sean sintéticos o naturales. Monómero es el término empleado para las materias termoplásticas y sustancias de partida o materias base para las resinas termoendurecidas (Derache 1990).

5.-POLÍMEROS

Los **polímeros** son aquellos materiales obtenidos por síntesis o por modificación de otros naturales, cuya característica esencial es la de estar constituidos por sustancias macromoleculares. A su vez podemos distinguir entre:

-homopolímeros, que son aquellos constituidos por macromoléculas en las que se repite un sólo tipo de unidad monomérica y

-copolímeros aquellos en los que se repiten dos o más tipos de unidades monoméricas.

El SCF divide los polímeros en dos categorías: la primera englobaría a los polímeros y sus mezclas usados como sustancias de partida y la segunda abarcaría todos los aditivos poliméricos. La razón de esta clasificación estriba en que los aditivos poliméricos no tienen el mismo grado de polimerización que los polímeros de la primera categoría.

De acuerdo con el SCF los polímeros empleados como aditivos con una distribución de peso molecular mayor de 1000 daltons

-son toxicológicamente aceptables y clasificados en la lista 3, con la indicación de "polímero" y sin necesidad de una evaluación individual específica, siempre que su(s) sustancia(s) de partida esté(n) en las listas 1, 2, 3 ó 4.

-si su(s) sustancia(s) de partida o monómeros figura(n) en las listas 6, 7, 8, 9 o W se requerirá una evaluación individual. Más adelante explicaremos en qué consisten estas listas.

Aquellos otros polímeros cuya distribución de peso molecular sea menor o igual a 1000 daltons requerirán una evaluación detallada de su toxicidad (Commission of the European Communities. Practical Guide 1993.)

La diferenciación en estas categorías se basa fundamentalmente en tres características:

1º.-La absorción por el tracto gastrointestinal es prácticamente despreciable cuando el peso molecular excede de 1000 daltons.

2º.-La migración desde los materiales plásticos es muy baja para sustancias de peso molecular muy alto.

3º.-La purificación de aditivos poliméricos y la separación de monómeros residuales son a menudo más fáciles para los compuestos de peso molecular más bajo.

6.-REVESTIMIENTOS O RECUBRIMIENTOS

En inglés las palabras **recubrimiento** o **revestimiento** se traducen globalmente como "**coatings**". Están elaborados a base de pinturas, lacas y barnices: son los productos orgánicos aplicados sobre un sustrato en forma de película continua, de tal manera que constituyen una barrera funcional entre el alimento y el sustrato. Pueden ser

aplicados en forma de soluciones, dispersiones, polvos o preparaciones sin disolventes. Estos recubrimientos, a su vez, se clasifican en:

-Polímeros termoplásticos, cuando la película resultante se forma por simple evaporación del disolvente o por un proceso térmico.

-Polímeros o resinas reticulables, las propiedades finales de estos revestimientos se consiguen tras una serie de reacciones de reticulación química.

7.-"SNACKS O SNACKING" Y "FAST FOOD"

"Snacks o Snacking": alimentos que se adquieren ya preparados, muchos de los cuales están disponibles en máquinas automáticas (bolsitas de patatas fritas, cacahuets salados, sandwiches, pastelillos, chocolatinas, golosinas, bombones,...).

"Fast food": Literalmente significa comida rápida, rápida de hacer y rápida de conseguir, engloba alimentos semi o totalmente preparados que sólo necesitan un proceso previo opcional de calentamiento antes de ser consumidos (pollos fritos, pizzas congeladas, sandwiches, hamburguesas, perritos calientes,...) Normalmente no se consumen en el sitio donde se adquieren.

Ambos conceptos suelen identificarse con la expresión española de "comida basura".

LISTA DE TABLAS	Págs
TABLA 1: Diferencias principales entre impurezas y constituyentes de mezclas.....	111
TABLA 2: Materiales de envasado consumidos a nivel mundial.....	111
TABLA 3: Evolución del consumo de plásticos en España.....	111
TABLA 4: Consumo del envase-embalaje flexible en España por parte de los tres sectores principales.....	112
TABLA 5: Resumen de las Reglamentaciones nacionales en algunos países europeos.....	112
TABLA 6: Situación de los monómeros y aditivos evaluados por el Comité Científico para la Alimentación (SCF) hasta 1993.....	113
TABLA 7: Descripción de las listas del Comité Científico para la Alimentación (SCF)....	114
TABLA 8: Situaciones en las que el consumidor puede estar expuesto a sustancias que no figuran como tales en la lista positiva.....	115
TABLA 9: Lista de simulantes de alimentos propuestos por la legislación Comunitaria...	116
TABLA 10: Condiciones de tiempos y temperaturas para los ensayos de migración.....	117
TABLA 11: Condiciones de tiempos y temperaturas para los ensayos de migración en simulantes oleosos.....	118
TABLA 12: Estudios toxicológicos para las sustancias incluidas en las listas 6 a 9.....	119
TABLA 13a: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en agua destilada por HPLC (Método Corto).....	120
TABLA 13b: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en ácido acético 3% (p/v) por HPLC (Método Corto).....	121

TABLA 13c: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en etanol 15% (v/v) por HPLC (Método Corto).....	122
TABLA 14: Confirmación del BADGE mediante la relación A_F/A_{UV}	123
TABLA 15a: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en agua destilada por HPLC (Método Largo)	124
TABLA 15b: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en ácido acético 3% (p/v) por HPLC (Método Largo).....	125
TABLA 15c: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en etanol 15% (v/v) por HPLC (Método Largo)	126
TABLA 16a: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en agua destilada por espectrofluorimetría	127
TABLA 16b: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en etanol 15% (v/v) por espectrofluorimetría	128
TABLA 17: Intensidades relativas de fluorescencia ó respuestas (en porcentaje) del BADGE y de sus productos de hidrólisis (PH) en los tres simulantes acuosos de alimentos.....	129
TABLA 18: Parámetros de las rectas de calibrado del fenol, formol y alcohol bencílico ..	129
TABLA 19: Resultados de la Precisión Intra-laboratorio (Repetibilidad) del BADGE por HPLC	130
TABLA 20: Resultados de la migración específica del polímero después de 10 días a 40°C	131
TABLA 21: Sobrecarga con BADGE de la solución de migración después de 10 días a 40°C	132
TABLA 22: Resultados de la migración del simulante sobrecargado con BADGE y sometido posteriormente durante 10 días a 40°C	133

TABLA 23a: Intensidades de fluorescencia y desviaciones estándar del BADGE por espectrofluorimetría en agua destilada	134
TABLA 23b: Intensidades de fluorescencia y desviaciones estándar del BADGE por espectrofluorimetría en etanol 15%(v/v)	135
TABLA 24: Vida media del BADGE.....	136
TABLA 25: Constantes de velocidad del proceso de hidrólisis del BADGE a 40°C en los tres simulantes acuosos de alimentos	136
TABLA 26: Niveles residuales de fenol, formol y alcohol bencílico en formulaciones Mannich.....	137
TABLA 27: Migración de BADGE desde las formulaciones poliméricas tipo 1, 2 y 3	138
TABLA 28: Parámetros analíticos principales de las rectas de calibrado del BADGE por HPLC	139

LISTA DE FIGURAS	Págs
Fig. 1: Símbolo que acompaña a materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios.....	141
Fig. 2: Estructura de la industria del envasado alimentario	142
Fig. 3: Cubetas desarrolladas para realizar los ensayos de migración: (a) cubeta tipo reactor con cierre esmerilado adaptado (b) pesafiltros con tapa de vidrio esmerilada.....	143
Fig. 4: Fórmula química del BADGE ($n = 0$) y de sus productos de hidrólisis: (a) BADGE, (b) 1 ^{er} producto de hidrólisis, (c) 2 ^o producto de hidrólisis.....	144
Fig. 5: Reacción química entre bisfenol A y epiclorhidrina para dar BADGE	145
Fig. 6a: Recta de calibrado del BADGE en agua destilada por HPLC (Método Corto)....	146
Fig. 6b: Recta de calibrado del BADGE en ácido acético 3% (p/v) por HPLC (Método Corto).....	147
Fig. 6c: Recta de calibrado del BADGE en etanol 15% (v/v) por HPLC (Método Corto) 148	
Fig. 7a: Recta de calibrado del BADGE en agua destilada por HPLC (Método Largo) ...	149
Fig. 7b: Recta de calibrado del BADGE en ácido acético 3% (p/v) por HPLC (Método Largo).....	150
Fig. 7c: Recta de calibrado del BADGE en etanol 15% (v/v) por HPLC (Método Largo) 151	
Fig. 8: Espectros de fluorescencia de excitación (A) y de emisión (B) de 40 $\mu\text{g} / \text{L}$ de BADGE en acetonitrilo:agua (65:35) (v/v) obtenidos con un espectrofluorímetro convencional.....	152
Fig. 9: Espectros de fluorescencia de excitación (A y B) y de emisión (C y D) de 1 mg de BADGE / L de agua destilada obtenidos por HPLC parando el flujo al tiempo de retención del BADGE. Los espectros A y C son los blancos respectivos de B y D.....	153

Fig. 10: Cromatograma de BADGE (20 µg / L en agua destilada) obtenido por HPLC-MS utilizando el Método Largo.....	154
Fig. 11: Espectro de masas del BADGE correspondiente a los 17.3 min del cromatograma representado en la figura 10. Da / e = daltons / carga.....	155
Fig. 12: Recta de calibrado del BADGE en agua destilada por espectrofluorimetría	156
Fig. 13: Recta de calibrado del BADGE en etanol 15% (v/v) por espectrofluorimetría	157
Fig. 14: Cinética de hidrólisis del BADGE en agua destilada.....	158
Fig. 15: Cinética de hidrólisis del BADGE en ácido acético 3% (p/v).....	159
Fig. 16: Cinética de hidrólisis del BADGE en etanol 15%.(v/v).....	160
Fig. 17: Proceso de síntesis química para la obtención de un producto de Mannich	161
Fig. 18: Cromatograma donde se separan el BADGE (A), sus dos PH (B = 1 ^{er} producto de hidrólisis, C = 2 ^o producto de hidrólisis) y el bisfenol A (D) por el Método Largo.....	162
Fig. 19: Cromatograma de una mezcla de BADGE (A), sus dos PH (B = 1 ^{er} producto de hidrólisis, C = 2 ^o producto de hidrólisis) y el bisfenol A (D) por el Método Corto.....	163
Fig. 20: Cromatogramas de tres soluciones patrón de 20 µg/L de BADGE por el Método Corto en ácido acético 3% (p/v) (A), etanol 15%(v/v) (B) y agua destilada (C)..	164
Fig. 21: Cromatogramas de tres soluciones patrón de 20 µg/L de BADGE por el Método Corto en ácido acético 3% (p/v) (A), etanol 15%(v/v) (B) y agua destilada (C) por el Método Largo.....	165
Fig. 22: Relación señal-ruido en un cromatograma con 1.5 µg / L de BADGE en agua destilada (A) y en otro con una atenuación 8 veces menor (B).....	166
Fig. 23a: Cromatograma de 20 µg/L de BADGE en agua destilada obtenido con el detector ultravioleta	167
Fig. 23b: Cromatograma de 20 µg/L de BADGE en ácido acético 3%(p/v) obtenido con el detector ultravioleta.....	168

Fig. 23c: Cromatograma de 20 µg/L de BADGE en etanol 15%(v/v) obtenido con el detector ultravioleta	169
Fig. 24: Cromatograma de la migración del polímero (10 días a 40°C)	170
Fig. 25: Espectros de emisión de sendas soluciones de 1mg/L de BADGE en agua destilada (A) y en ácido acético 3% (p/v) (B) respectivamente.....	171
Fig. 26a: Escala patrón de BADGE en agua destilada por espectrofluorimetría: solución de 40 µg/L (A), solución de 30 µg/L (B), solución de 20 µg/L (C), solución de 10 µg/L (D), solución de 5 µg/L (E).....	172
Fig. 26b: Escala patrón de BADGE en etanol 15%(v/v) por espectrofluorimetría: solución de 40 µg/L (A), solución de 30 µg/L (B), solución de 20 µg/L (C), solución de 10 µg/L (D), solución de 5 µg/L (E)	173
Fig. 27: Datos de la cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C en agua destilada usando la ecuación (2)	174
Fig. 28: Datos de la cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C en ácido acético 3%(p/v) usando la ecuación (2).....	175
Fig. 29: Datos de la cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C en etanol 15%(v/v) usando la ecuación (2)	176
Fig. 30: Cromatograma de 40 µg / L de BADGE en agua destilada inyectado al tiempo de vida media del BADGE por HPLC (Método Largo) donde se distinguen el BADGE (A) y los dos PH (B = 1 ^{er} producto de hidrólisis, C = 2 ^o producto de hidrólisis).....	177
Fig. 31: Cromatograma obtenido por GC-FID de un patrón de calibración que contiene formol (1), solvente (2), y alcohol amílico usado como estándar interno (3), fenol (4) y alcohol bencílico (5).....	178

0.- PRÓLOGO

Desde que fue sintetizada la primera resina epoxi por Pierre Castan en los años 30, la fabricación de estos compuestos ha sufrido un creciente aumento debido principalmente a la versatilidad de sus propiedades: facilidad de curado, inercia química, alta resistencia mecánica, gran adhesividad, fuerte poder aislante eléctrico, perdurabilidad, etc. Como consecuencia de ello tienen multitud de aplicaciones: en la industria de la electrónica, por ejemplo, constituyen la base de circuitos integrados; en la aeronáutica se usan para unir piezas de aviones y aparatos aeroespaciales, en la naval para fabricar embarcaciones, en la automovilística como pinturas, en la armamentística para fabricar armazones de misiles, en la construcción (pavimentos, impermeabilizantes, adhesivos), en prácticas deportivas (tablas de wind-surfing, raquetas de tenis, palos de golf, cañas de pescar), en medicina para empastes dentales, prótesis; en restauración son utilizadas como disolventes de limpieza de lienzos; también se emplean como aditivos de una gran variedad de otros materiales plásticos: resinas acrílicas y vinílicas, gomas sintéticas o naturales,... (Lee 1982, May 1988).

La aplicación que aquí nos interesa es su uso como recubrimientos de materiales destinados a entrar en contacto con productos alimenticios, ya se trate de pequeños envases (latas de refrescos, cervezas, conservas animales o vegetales, etc.) o grandes contenedores de cemento o metal para agua, zumos, vinos, aceites,... con el fin de aumentar la inercia de las reacciones envase-alimento. Estos recubrimientos si están mal formulados pueden ser a su vez fuente de contaminación abiótica debido a la migración de sustancias químicas desde estos materiales al alimento.

Una preocupación constante de las industrias alimentarias es ofertar alimentos saludables y de calidad. De hecho el éxito comercial de un producto envasado descansa, aparte de sus características nutritivas, en el mantenimiento de una calidad uniforme. Esto supone que cuando el consumidor adquiere un determinado producto tenga la seguridad de que lo que va a encontrar dentro del envase y a consumir tiene las mismas características que la vez anterior. Esta afirmación que es válida para cualquier bien de consumo, es aplicable en toda su extensión a los alimentos, máxime si se tiene en cuenta que son un bien de primera necesidad. Sin embargo, los alimentos son sistemas dinámicos, capaces de evolucionar por sí mismos y de interaccionar con el envase y el medio que los rodea, dificultando el principio enunciado.

Para las resinas epoxi si bien están regulados los valores de migración máximos permitidos en alimentos (LME) y en el producto terminado (QM) (Directiva 90/128/CEE), no están desarrollados los métodos analíticos que permiten su determinación, ni en los alimentos ni en matrices tan simples como son los simulantes de

alimentos; esta circunstancia vacía en parte el contenido de la legislación y da lugar a que las empresas fabricantes de estos materiales plásticos que quieran destinar sus productos a usos alimentarios no dispongan de métodos para el control de calidad de los mismos. Por otro lado los Organismos Públicos no pueden verificarlos ni sancionarlos y finalmente, los consumidores están desprotegidos.

La CEE está haciendo un gran esfuerzo para subsanar estas carencias y en Marzo de 1993 inicia un programa BCR para "desarrollo de métodos analíticos para monómeros" en el que participamos 11 laboratorios europeos. En base a nuestra experiencia en migraciones desde recubrimientos epoxídicos, hemos sido invitados a participar para establecer métodos analíticos para los monómeros de partida bisfenol A diglicidil éter (BADGE) y 1,3-bencenodimetanamina (m-XDA) en los cuatro simulantes CEE: agua destilada, ácido acético 3%(p/v), etanol 15%(v/v), aceite de oliva y en el producto terminado.

El BADGE se degrada fácilmente en los simulantes acuosos originando dos productos de hidrólisis que corresponden a la apertura de uno o de los dos anillos epoxídicos. La presencia de estos productos plantea nuevos problemas que es necesario solucionar:

1º- ¿Son estos compuestos más o menos tóxicos que el BADGE? Sería conveniente estudiar la toxicidad de estos productos de degradación y establecer su LME. Esta problemática se aparta de nuestros objetivos y más tarde lo discutiremos.

2º- ¿El método analítico que se desarrolle para la determinación del BADGE debe referirse únicamente a la cuantificación de este monómero o debe de tener en cuenta también a sus productos de hidrólisis?

Mientras no se aclare el punto primero es razonable considerar que los productos de hidrólisis son igual de tóxicos que el BADGE, compuesto citotóxico y oncogénico (May 1988) y por tanto nuestro criterio es que no deberían ignorarse. A pesar de todo, como la legislación vigente sólo contempla LME y QM para el BADGE nos ceñiremos a ella. En cuanto al punto segundo creemos que debe desarrollarse un método analítico que también permita detectar y caracterizar los posibles productos de degradación del monómero.

Son muchísimos los compuestos que, además de los monómeros base, intervienen en el proceso de fabricación de resinas epoxi, aunque algunos de ellos se hallan presentes

sólo como impurezas y a niveles residuales en el producto final. Dentro de estos componentes y aditivos se engloban: disolventes, diluyentes, acelerantes, agentes de curado, flexibilizantes, plastificantes, catalizadores, tensioactivos, antioxidantes, etc. y para una gran parte no existen métodos analíticos que permitan su determinación ni tampoco se han desarrollado los estudios de migración y de degradación; para algunos ni siquiera están realizados los estudios de toxicidad.

Con este trabajo se proponen algunos métodos para paliar, en cierto modo, la ausencia de información que, desde el punto de vista analítico, existe en este campo. Somos conscientes de que nuestra aportación es sólo un granito de arena: hay aproximadamente 30.000 monómeros de plásticos y de éstos sólo unos 1.200 (el 4%) están perfectamente evaluados en el borrador de las listas positivas que elabora el SCF para plásticos.

Tenemos la intención de seguir trabajando en este campo. No sólo con las resinas epoxi sino también con todos aquellos monómeros y sustancias de partida destinados a ser utilizados en envases alimentarios. Nos ofrecen un amplio abanico de posibilidades y creemos que es un campo de investigación que debería continuarse por todas las implicaciones que tiene, por un lado porque contribuye a mejorar la calidad de vida humana, y por otro para apoyar a nuestra industria haciéndola más competitiva para que tenga la posibilidad de ofertar productos que se ajusten a los requisitos de calidad exigidos para toda la Comunidad Europea con la finalidad de ir abriéndonos camino en su Mercado.

I.- INTRODUCCIÓN

I.1.- OBJETIVOS

1º.- Desarrollo de métodos analíticos sensibles y sencillos que permitan:

- La caracterización de los monómeros utilizados en las formulaciones de resinas epoxi, así como de las impurezas que los acompañan.
- Identificación de los productos de hidrólisis.
- Determinación cuantitativa de los mismos.

2º.- Estudio de las interacciones (altamente probables para este tipo de materiales) entre simulantes de alimentos y formulaciones epoxidicas, lo que origina la formación de nuevas sustancias que es necesario identificar y cuantificar.

3º.- Evaluación final de las aptitudes del material para ser utilizado y en qué condiciones debe usarse como recubrimiento interior de envases de uso alimentario.

I.2.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

I.2.1.- ANÁLISIS Y DETERMINACIÓN DE RESINAS EPOXI

Los componentes de las formulaciones de resinas epoxi son altamente tóxicos (May 1988, Zeiger 1990, Haseman 1990), de ahí la importancia del establecimiento de métodos de análisis para poder identificarlos y cuantificarlos, sobre todo, en los alimentos.

En función de su estructura química, dependiendo de las proporciones estequiométricas, se obtienen formulaciones con diferentes propiedades mecánicas (Halary 1989). Este hecho es la base de sus múltiples aplicaciones.

Al tratarse de compuestos relativamente recientes (comienzan a sintetizarse a partir de los años 30), fundamentalmente en lo que respecta a su aplicación en el campo de la industria alimentaria, en la revisión bibliográfica no se han encontrado métodos de análisis en alimentos. Por otro lado, los productos alimentarios son matrices tan complejas que dificultan enormemente la detección de estos componentes a niveles de $\mu\text{g/L}$, es por ello que la legislación europea establece la necesidad de desarrollar metodologías analíticas en simulantes de alimentos (Directiva 85/572/CEE).

I.2.1.1.- MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

Para el control de calidad de las formulaciones epoxi se han desarrollado muchos métodos que emplean técnicas muy variadas, entre las cuales predominan las cromatográficas:

Numerosos autores desarrollan técnicas cromatográficas para el análisis en FLS (simulantes de alimentos), y así, Larroque *et al.* (1988) determinan monómeros residuales de resinas epoxi en simulantes del vino mediante técnicas de RP-HPLC (detección fluorimétrica: $\lambda_{em} = 300$ nm y $\lambda_{ex} = 275$ nm) y GC (detección por FID); Begley *et al.* (1991) cuantifican por HPLC-MS y GC-MS el BADGE procedente de un pegamento a un simulante oleoso (Miglyol 812); en tanto que Crathorne *et al.* (1986) los determinan en agua de bebida procedente de tuberías fabricadas con estas resinas, emplean también RP-HPLC pero con detección UV ($\lambda = 275$ nm) y alcanzan un límite de detección de 1 $\mu\text{g/L}$. Mientras que Paseiro *et al.* (1991a) determinan BADGE en simulantes acuosos de alimentos aunque aplican una técnica muy similar, que mejora la anterior, pues rebajan el límite de detección diez veces.

Muchos autores optan por RP-HPLC con detección UV: Twichel *et al.* (1979) consideran que lo más importante para la separación es la temperatura de la columna, el flujo y gradiente de la fase móvil y, sobre todo, la λ seleccionada, por ejemplo a 230 nm se mejora sobremanera la sensibilidad pero también hay más interferencias en el cromatograma por eso estos autores eligen 254 nm; esta misma longitud de onda es la escogida por van der Maeden *et al.* (1978) y Eppert *et al.* (1982a, 1982b) que detectan oligómeros de BADGE (desde $n = 0$ a $n = 16$), mientras que Shiono *et al.* (1980) utilizan 280 nm.

Todos estos autores consideran que las técnicas cromatográficas basadas en RP-HPLC son las más adecuadas para analizar las resinas epoxi.

Noël *et al.* (1986a) extraen con THF componentes de varias resinas epoxi y los identifican empleando un método muy similar al anterior (detección UV a 230 nm), combinado con FT-IR. Este grupo de investigación (1988a), modificando sólo el gradiente de elución, cuantifica esos componentes. Klee *et al.* (1987) separan los componentes oligoméricos de un BADGE mediante elución en gradiente y detección a 265 nm y los identifican por RMN e IR. Henricks-Eckerman *et al.* (1988) utilizan detección UV a 280 nm para determinar el oligómero $n = 0$; extraen con acetona el BADGE de una resina comercial y lo cuantifican por RP-HPLC, elución en gradiente,

aunque a esta longitud de onda la respuesta sea menor, en la determinación de la QM no se necesita mucha sensibilidad. Riera Tuebols y Teixido Subirats (1989) combinan la cromatografía de líquidos HPLC/GPC con el análisis térmico y la espectrofotometría IR aplicándolos al análisis de distintos tipos de recubrimientos. Tamareselvy *et al.* (1991) evalúan la pureza del BADGE en cuatro formulaciones comerciales mediante HPLC (elución en gradiente y detección UV a 254 nm). Simal Gándara *et al.* (1992b) caracterizan por HPLC-MS resinas epoxi elaboradas con BADGE usadas como recubrimientos de envases alimentarios, este mismo equipo (1993a) emplea un método basado en HPLC para determinar BADGE y bisfenol F diglicidil éter en una formulación epoxi no curada.

Mestan y Morris (1984) por un lado y Podzimek (1992) por otro, en sendas revisiones bibliográficas, coinciden en que las metodologías más apropiadas en el análisis de resinas epoxídicas son las cromatográficas y dentro de ellas las basadas en HPLC, aunque también citan otras como GC, TLC y GPC. HPLC se utiliza fundamentalmente para cuantificar en tanto que GPC se aplica, sobre todo, en la separación y la caracterización. Ellis (1979) y más recientemente Barth *et al.* (1990) hacen una breve revisión bibliográfica de las aplicaciones de GPC al análisis de recubrimientos industriales entre los que citan las resinas epoxi; por otro lado Hussain *et al.* (1986) comentan diferentes aspectos relacionados con la aplicación de GPC al análisis de polímeros, lo mismo hacen restringiéndose a resinas epoxi Mukoyama *et al.* (1989). Breitigam y Ubrich (1990) recopilan aspectos sobre la cromatografía líquida de resinas epoxi.

Entre los autores que optan por GPC figuran: Eggers y Humphrey (1971) que separan distintos oligómeros de resinas epoxi; Noël *et al.* (1986c), los cuales determinan el grado de polimerización y la composición de varias resinas epoxi; Mori (1986) identifica diferentes tipos de oligómeros de estas resinas y otros polímeros; Larsen y Spieker (1987) junto con GPC aplican HPLC (elución en gradiente y detección UV a 280 nm) para aislar e identificar distintas especies oligoméricas de varias formulaciones comerciales epoxi; Russell (1988) aísla oligómeros de formulaciones epoxi de bajo peso molecular; Mukoyama y Mori (1989) caracterizan varios polímeros entre los que figuran las resinas epoxi; Podzimek *et al.* (1991) sintetizan resinas epoxi y seguidamente las analizan combinando GPC y HPLC; y por último, Iannacchione y von Meerwall (1991) usan también la cromatografía de gel permeación como técnica de apoyo para determinar el índice de polidispersión de resinas elaboradas con BADGE.

Pocos autores eligen la GC en la determinación de componentes de resinas epoxi: Maynard *et al.* (1979) que la combinan con MS; Noël *et al.* (1986b) la complementan

con FT-IR; Calmet Fontané (1989), la aplica al análisis de pinturas de formulaciones epoxi ayudándose de la espectrofotometría de infrarrojo; Larroque *et al.* (1988), la utilizan junto con HPLC y Begley *et al.* (1991), los cuales la emplean conjuntamente con HPLC-MS. Gilbert *et al.* (1994c), mediante GC-MS y FT-IR, elaboran una base de datos de los monómeros que se usan en la fabricación de envases plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos.

1.2.1.2.- MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

Entre las técnicas espectrofotométricas -aunque, normalmente, no se emplean de forma exclusiva sino como ayuda en la identificación de las resinas epoxi- las que se encontraron en la bibliografía revisada, son:

1º) La infrarroja. Entre los autores que desarrollan métodos de análisis basados o apoyados en esta técnica podemos citar a: Noël *et al.* (1986b) que la emplean sólo para confirmar la identificación de las estructuras de las resinas epoxi objeto de análisis; Cole *et al.* (1986, 1988a) aplican la modalidad de reflectancia difusa en la caracterización de la composición de resinas epoxi en superficie; Cole *et al.* (1988b) comparan tres diferentes formas de operar en espectroscopía IR: transmisión, reflexión total atenuada y reflexión difusa para el análisis cuantitativo de dos resinas epoxi (una elaborada con tetraglicidildiaminodifenilmetano y otra con bisfenol A); este mismo grupo de investigación: Noël *et al.* (1989) estima el grado de polimerización de resinas epoxi y el contenido libre de epoxi y de amina mediante FT-IR, HPLC y otras técnicas. Dentro de los investigadores españoles que aplican esta espectrofotometría citaremos a: Riera Tuebols y Teixido Subirats (1989) que también emplean junto con FT-IR, HPLC, GPC el análisis térmico en la caracterización de pinturas industriales compuestas de resinas epoxi entre otros ingredientes; por otro lado, Calmet Fontané (1989) propone un análisis por GC-FID y por espectrofotometría de IR para pinturas industriales compuestas de algún tipo de resinas epoxi, mientras que López-Delgado *et al.* (1992) elaboran una biblioteca con 1.600 espectros de IR de monómeros de plásticos usados en la industria del envasado alimentario.

2º) La resonancia magnético nuclear: van der Maeden *et al.* (1978) como ya hemos señalado, emplean primero una técnica de RP-HPLC para separar los diferentes oligómeros del BADGE (desde $n=0$ a $n=16$) y luego caracterizan los oligómeros $n=0$ y $n=2$ por RMN; Klee *et al.* (1987), operan de forma similar pues mediante un análisis por RP-HPLC separan los componentes oligoméricos de un BADGE e identifican cada fórmula química por RMN y espectroscopía IR; Tsuge (1990) aplica diferentes técnicas

entre las que se encuentra la RMN en el análisis estructural y de componentes para monitorizar y evaluar el proceso de curado de resinas termoplásticas; Tamareselvy *et al.* (1991) evalúan la pureza de 4 resinas epoxi elaboradas con BADGE utilizando para la confirmación de resultados las espectrofotometrías IR y RMN.

3º) La espectrometría de masas con desorción de campo: Saito *et al.* (1980a, 1980b, 1988) aplican la modalidad de desorción de campo utilizada en MS para caracterizar oligómeros de algunos materiales poliméricos entre los que figura el BADGE como monómero de partida.

I.2.1.3.- MÉTODOS FÍSICOS

Cole *et al.* (1986) caracterizan mediante FT-IR por reflectancia difusa y calorimetría diferencial de barrido la composición de resinas epoxi en superficie; Noël *et al.* (1989) combinan varias técnicas que permiten monitorizar pequeñas variaciones en la composición química, entre las que figuran la calorimetría diferencial de barrido y el análisis termogravimétrico para la determinación de las características físicas y químicas de resinas epoxi elaboradas con BADGE; Dark *et al.* (1974) separan oligómeros de resinas epoxi por análisis termodinámico.

I.2.3.- DETERMINACIÓN DE LA MIGRACIÓN DESDE MATERIAS PLÁSTICAS

I.2.3.1.- MIGRACIÓN DESDE RESINAS EPOXI

Entre los autores que han puesto a punto métodos para determinar la migración del BADGE desde formulaciones epoxi citaremos a: Paseiro *et al.* (1991b) determinan por HPLC (elución en gradiente con acetonitrilo/agua y detección fluorimétrica) la QM de monómeros residuales en una resina elaborada con BADGE y m-XDA; dos años más tarde (Simal Gándara *et al.* 1993b) desarrollan un método para determinar por un lado la MG de una formulación epoxi elaborada con BADGE y endurecida con m-XDA y por otro el LME del BADGE y de la m-XDA en esa resina, se apoyan también en un técnica HPLC.

I.2.3.2.- MIGRACIÓN DESDE OTROS MATERIALES PLÁSTICOS

En la bibliografía hay múltiples referencias sobre la migración de materiales plásticos, de sus monómeros, oligómeros, de sus aditivos u otros coadyuvantes tecnológicos empleados en el proceso de fabricación. Las técnicas para su análisis son

igualmente muy variadas. Las citaremos según el tipo de monómeros o componentes que intervienen en el proceso de fabricación:

1º) Polímeros o copolímeros de estireno, acrilonitrilo y butadieno:

Rossi *et al.* (1972) comparan la fiabilidad de dos métodos (GC y iodométrico) para obtener la migración global de monómeros de estos copolímeros y también de PP (polipropileno) en alimentos grasos. Di Pasquale *et al.* (1978a) determinan niveles residuales de acrilonitrilo en resinas tipo ABS (acrilonitrilo/butadieno /estireno) así como su migración a FLS oleosos por GC con espaciador de cabeza en tanto que Mcneal *et al.* (1979) lo hacen además en copolímeros de ASA (acrilonitrilo/estireno/acrilato) y en PAN (poliacrilonitrilo) aplicando una técnica de GC-MS. Tatsuno *et al.* (1980) ponen a punto un método HPLC con el que detectan niveles de acrilonitrilo inferiores a 10 µg/L en FLS (etanol al 20%, ácido acético al 4%, agua, heptano y aceite de oliva). Snyder *et al.* (1985) utilizan, además de agua y heptano, simulantes parecidos: ácido acético al 3%, distintas proporciones de etanol (8%, 20%, 50% y 100%), aceite de maíz, hexadecano, decanol y HB 307 (mezcla de triglicéridos sintéticos); mediante HPLC (detección UV a 254 nm) determinan la migración de estireno desde PS (poliestireno). Page (1985) estudia los niveles residuales de acrilonitrilo en alimentos (queso, crema de cacahuete, miel y margarina) mediante GC con espaciador de cabeza. También mediante esta técnica Mcneal *et al.* (1987) cuantifican niveles residuales de butadieno (compuesto carcinogénico) presentes en polímeros de estireno y acrilonitrilo usados en la industria del envasado. Durst *et al.* (1990), por GC, detectan estireno en envases de zumo de naranja. Volviendo a los métodos por HPLC, Lickly *et al.* (1991) determinan la migración de acrilonitrilo desde copolímeros ABS en FLS de la FDA (etanol al 8% y agua), detección UV a 205 nm, mientras que Murphy *et al.* (1992) se dedican al estudio de la migración de estireno desde polímeros de PS en FLS también propuestos por la FDA (etanol al 8% y aceite de oliva); Nerín *et al.* (1993) lo hacen en aceite de oliva; ambos investigadores emplean como técnica auxiliar la GC, a pesar de que ésta es la más utilizada para el estireno. Tan *et al.* (1991) determinan mediante GC-MS y HPLC la migración de α -metil estireno, compuesto más tóxico que el propio estireno, encontrando niveles de 10 mg/kg en el polímero y de 10 µg/L en los FLS. El grupo inglés de Castle: Jickells *et al.* (1993) y Castle *et al.* (1993a) analiza la migración del estireno a simulantes oleosos: aceite de oliva y de girasol; y a FLS acuosos y alimentos, respectivamente, también por medio de GC.

Otras técnicas son las sensoriales u organolépticas, y así el grupo holandés de Linssen *et al.* crea paneles de catadores para determinar los niveles residuales de estireno en envases de polvos de cacao (1991) y de yogures (1993a 1993b).

2°) Polímeros de policloruro de vinilo (PVC).

El PVC es uno de los materiales plásticos más estudiados, de hecho es el primero para el que existen Directivas CEE específicas (78/142/CEE, 80/766/CEE y 81/432/CEE), donde figuran el método de análisis que se debe realizar, las restricciones en cuanto a límites de migración, etc. Se sabe que es una sustancia carcinogénica según la IARC (International Agency for Research on Cancer) desde 1979 con una TDI establecida en 1988). Existen muchas referencias bibliográficas relativas al PVC. El cloruro de vinilo es el único monómero para el que la UE ha dictado unas directivas específicas que establecen un método GC para su análisis tanto en el producto terminado (Directiva 80/766/CEE) como en FLS (Directiva 81/432/CEE).

La mayoría de los métodos encontrados en la bibliografía revisada se basan, al igual que en los monómeros anteriores, en técnicas GC. Diachenko *et al.* (1977) determinan cloruro de vinilo en aceite de maíz, en etanol al 50%, en ácido acético al 3% y en n-heptano, utilizando G-LC-espaciador de cabeza y detector FID; Gilbert *et al.* (1982) identifican por GC-MS oligómeros del PVC en envases alimentarios, Ishiwata *et al.* (1987) analizan también en envases de alimentos y a mayores en FLS por GC un producto de descomposición del PVC. Benfenati *et al.* (1991) emplean un método GC-MS (detectan partes por trillón) para determinar las tasas de migración con respecto al tiempo de almacenamiento de cloruro de vinilo y PVC en aguas envasadas con botellas fabricadas a base de este material. Wright *et al.* (1992) desarrollan varias modalidades de análisis por GC para detectar niveles inferiores a $\mu\text{g/L}$ del monómero cloruro de vinilo en PVC. Gilbert *et al.* (1985) ponen a punto un método que combina GC-MS, HPLC y GPC para aislar especies oligoméricas del PVC usado en envases alimentarios.

La espectrofotometría de infrarrojo también se utiliza para caracterizar la estructura de varios materiales poliméricos tales como PVC, PE (polietileno), PETP (polietilentereftalato) y de algunos de sus aditivos empleados en el envasado de alimentos (Jeanfills y Galloy 1990)

3°) Ftalatos, tereftalatos, polietilenos y polipropilenos

Constituyen otro tipo de plásticos que se usan para el envasado de alimentos. En la bibliografía encontramos algunos casos en los que se detectan tasas de migración de estos polímeros:

Di Pasquale *et al.* (1978b) desarrollan un método muy sensible por GC-espaciador de cabeza y cuantifican etileno residual en polietileno aunque a niveles muy bajos, (del orden de $4 \mu\text{g/L}$) en alimentos: leche, aceite de oliva y agua. Con la introducción del microondas en la preparación de comidas rápidas, surgen estudios de

migración de los envases plásticos (bandejas o "films") que se introducen con los alimentos en estos hornos, encontramos dos referencias: Castle *et al.* (1989) mediante GC-MS estudian las tasas de migración de oligómeros de PETP en bebidas embotelladas y en comidas calentadas con microondas cuyas bandejas son de PETP. Asimismo, Begley *et al.* (1990a) determinan mediante RP-HPLC la migración de oligómeros cíclicos de PETP a alimentos horneados en microondas.

Estos autores (Begley *et al.* 1990b) desarrollan una técnica HPLC (detector UV 254 nm) para separar y cuantificar los oligómeros de PETP que migran a aceite de maíz, usado como simulante. Page y Lacroix (1992) proponen un método GC para medir la transferencia de los ésteres de ftalatos de envoltorios de margarina y mantequilla a estos alimentos.

4°) Poliamidas

Se han realizado estudios de migración de monómeros de 6 tipos distintos de nylon a alimentos: Barkby y Lawson (1993) analizan por HPLC-MS y espectrofotometría UV la migración a bolsitas utilizadas para hervir agua. Risch y Hotchkiss (1991) citan el proceso de migración de aditivos colorantes de poliamidas a alimentos, medicamentos y productos de cosmética.

5°) Hidrocarburos

El grupo de investigación del MAFF (Ministerio inglés de Agricultura, Pesca y Alimentación) estudió la migración de hidrocarburos minerales a alimentos desde distintos tipos de envases empleando un método CGC: Castle *et al.* (1991) desde contenedores de PS para bebidas; además de GC, utilizan HPLC y un método gravimétrico (Castle *et al.* 1993a) en envases de cartón parafinado para helados, leche y crema; de ABS para aceite; y de PS para yogures, cremas y leche; sucesivas modificaciones del método CGC lo aplican en revestimientos de diferentes tipos de quesos y de salchichas (Castle *et al.* 1993b), en papeles parafinados para envolver varios alimentos (Castle *et al.* 1994a), en envases de PS y ABS (Jickells *et al.* 1994a) y en alimentos y bebidas enlatadas (Jickells *et al.* 1994b).

6°) Aditivos y otros componentes de materiales plásticos

Till *et al.* (1987) hacen una revisión de la migración de los aditivos de materiales poliméricos a los alimentos. Coetáneamente Giam y Wong (1987), en una recopilación bibliográfica más restringida recogen los trabajos publicados sobre métodos de análisis desarrollados bien para detectar aditivos plastificantes en alimentos o bien para disminuir su migración. Risch (1988) en otra revisión, alerta sobre la migración potencial de

productos tóxicos procedentes de envases constituidos por distintos tipos de materiales plásticos (acetato de celulosa, celofán, poliamidas, polietileno, poliestireno, etc.) a los alimentos y comenta los aspectos legales vigentes hasta entonces tanto en USA como en la UE. El MAFF (1991) edita una publicación donde cita los trabajos de investigación realizados en los laboratorios de ese Ministerio inglés relacionados con la migración de plastificantes a los alimentos.

Son muchos los tipos de aditivos que se emplean en la fabricación de materiales plásticos, entre ellos podemos citar:

1.- Los estabilizantes. Los estabilizadores conocidos como organoestánicos son susceptibles de migrar a los alimentos, prueba de ello lo dan Adcock y Hope (1970) que describen un método basado en espectrofotometría visible combinado con una separación previa por cromatografía de papel para determinar la migración de estos estabilizadores en PVC destinado a uso alimentario, y Macias-Matos *et al.* (1989) que lo hacen mediante TLC en alimentos envasados.

2.- Los disolventes, los cuales quedan atrapados en el entramado polimérico y modifican las propiedades organolépticas del alimento (Mcgorrin *et al.* 1987). El diclorometano residual procedente de policarbonatos se cuantifica mediante GC-FID con espaciador de cabeza por di Pasquale *et al.* (1978c); con un método basado en la misma técnica, unida a una identificación por MS, Varner y Breder (1984) analizan las tasas de migración del benceno presente en polímeros de PS.

3.- Los antioxidantes. Figge (1972b, 1973a) estudia comparativamente en diferentes FLS para alimentos grasos la migración de un antioxidante y un estabilizante. Bieber *et al.* (1985) determinan la migración de un antioxidante fenólico bajo condiciones normales de almacenamiento a varios tipos de materiales plásticos: PE, PP, ABS y PS, la transferencia del producto se consideró en alimentos hipocalóricos así como en FLS (ácido acético y HB 307) utilizando un método radiactivo de marcaje con ^{14}C . Goydan *et al.* (1990) emplean también un método similar pero sólo en antioxidantes de PE que se transfieren a FLS a altas temperaturas. Los resultados obtenidos por Bourges *et al.* (1993) revelan la migración de antioxidantes de la formulación polimérica así como de productos de degradación de los mismos cuando se emplea una técnica radiactiva para la conservación de los alimentos.

4.- Los plastificantes. Son los aditivos sobre los que se han encontrado mayor número de trabajos publicados, como los de Startin *et al.* (1987), Castle *et al.* (1988a) y

Begley *et al.* (1990c) que analizan la migración de diversos plastificantes de materiales poliméricos usados para calentar alimentos en microondas; Karcher *et al.* (1984) consiguen reducir el paso de niveles residuales de aditivos a FLS mediante la formación de un complejo. Castle *et al.* (1988b) combinan la GPC con GC-MS para determinar la migración de un plastificante de PVC a alimentos grasos y en ese mismo año estos autores (Castle *et al.* 1988c) estudian los procesos de migración de varios aditivos desde films de PVDC/PVC a distintos tipos de alimentos. López de Sa *et al.* (1989) mediante IR y GC-MS identifican aditivos en distintos tipos de plásticos (PVC, PVDC, PE, PS PETP, PP y celulosa regenerada). Kondyli *et al.* (1990) analizan la migración de dos plastificantes de PVC a aceite de oliva, dos años más tarde (Kondyli *et al.* 1992) llevan a cabo la misma investigación en alimentos cárnicos.

I.3.- IMPORTANCIA DEL ENVASE EN ALIMENTACIÓN

I.3.1.- MATERIALES UTILIZADOS

Desde los tiempos más remotos el hombre ha utilizado distintos materiales para envolver y conservar los alimentos. Al principio empleaba aquellos productos tal cual se los ofrecía la naturaleza: hojas de plantas (papiro), cortezas de frutos (cubiertas de cocos, calabazas), pellejos (odres), caparzones y partes de animales (cuernos, conchas), etc; ya en la Edad de Piedra utilizaba contenedores de madera recubiertos de piel.

Según se iban descubriendo nuevos materiales los incorporaba a su tecnología y los transformaba de la mejor forma posible para cubrir las necesidades relativas al almacenamiento y protección de productos alimentarios. Entre ellos podemos enumerar las siguientes materias primas: metales (hierro, cobre, plomo, oro, plata,...); barro (arcilla, cerámicas); maderas, papel, cartón; ya más recientemente, vidrio (empleado en la industria del envasado hace sólo 200 años) y; finalmente, los PLÁSTICOS. Este último grupo de materiales es bastante diferente de los anteriores en el sentido de que no están constituidos por sustancias naturales propiamente dichas, en la mayoría de los casos ni siquiera son modificaciones de éstas, básicamente se trata de compuestos con estructuras químicas totalmente distintas y sintetizadas por el hombre.

Las nuevas materias plásticas han empezado a extenderse en el campo del envasado en general, pero sobre todo dentro del alimentario, a partir de la segunda mitad del siglo, fundamentalmente gracias a que permiten una gran diversidad y perfeccionamiento de los embalajes.

I.3.2.- FUNCIONES DE LOS ENVASES ALIMENTARIOS

El objetivo del envase consiste en proteger al producto de cualquier tipo de deterioro o contaminación, (Heiss 1978, Bell 1982) bien sea de naturaleza biótica o abiótica. El envase no sólo resulta indispensable para la distribución al consumidor de los productos alimenticios, sino que puede evitar la alteración de los mismos salvaguardando de este modo su calidad (Crosby 1981).

Las exigencias en el envasado de un alimento deben ser más estrictas cuanto mayor sea su período de conservación y cuanto más perecedero. Puede darse un contacto entre el alimento y otros materiales durante la cosecha y el transporte, pero es principalmente el empaquetamiento final el que representará un contacto importante (Derache, 1990).

Otras funciones de los envases están orientadas a aspectos relacionados con el "marketing" del propio alimento (Ministero de Sanidad y Consumo 1984): llamar la atención frente a los artículos competidores, promover el producto y su marca, dar garantía de calidad, facilidad de diseño e impresibilidad, facilidad de manejo, transporte y almacenamiento, transparencia.

En último lugar señalaremos las implicaciones económicas, amenudo, en numerosas ocasiones, resulta más caro el envase que el contenido. Esto conlleva a la sustitución del material de envasado por otro menos caro con la finalidad de abaratar el producto.

I.3.3.- CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES DEL ENVASE

Según los japoneses ('reyes' por excelencia del "Packaging") para que un determinado envase sea considerado aceptable deberá cumplir con unas determinadas especificaciones que justifiquen una utilización racional y adecuada. Estas recomendaciones han sido publicadas en los años 70 (Goddar 1990).

El material constituyente del envase -idealmente- debería reunir los requisitos enumerados a continuación:

1º) Relativos a la protección física, química y frente a contaminaciones (bióticas o abióticas):

- Inercia química con respecto al contenido del envase, es decir, al alimento, sin interaccionar con el mismo.

- Protección del contenido frente a posibles cambios físicos: radiaciones, impermeabilidad a gases, vapor de agua y otros solventes, en ocasiones también a la luz, resistencia mecánica adecuada para cada aplicación particular, etc.

- Evitar contaminaciones microbiológicas (bacterias, hongos) o de otros organismos (parásitos, insectos).

2º) En cuanto a la protección durante el proceso de envasado y sellado:

- Resistir las altas temperaturas que se alcanzan por ejemplo durante la esterilización (pasterización, tratamiento UHT).

- Permitir el uso de temperaturas bajas en productos congelados o refrigerados.

- Cierres seguros que garanticen la hermeticidad de los envases.

3º) Referentes a la justificación de su uso

- No tener unas dimensiones más allá de las estrictamente necesarias.

- Cumplir con las especificaciones legales.

- Ser lo más económico posible.

- Adjuntar toda la información requerida para el tipo de objeto que recubren, por ejemplo si se trata de alimentos deben llevar un símbolo específico (ver Fig. 1) (Directiva 80/590/CEE 1980).

- El diseño estará orientado a sus posibles "efectos medioambientales".

Dentro de los materiales utilizados en envasados los que mejor se adaptan al cumplimiento de todas estas características son los materiales plásticos.

I.3.4.- CAMBIOS EN EL PANORAMA ACTUAL DEL ENVASADO ALIMENTARIO

En los últimos años se ha producido un cambio radical en la distribución y envasado de los alimentos. Antiguamente la mayoría de los productos alimentarios se consumían cerca de su lugar de origen o producción. No eran precisas unas condiciones tan estrictas para garantizar la higiene del alimento. El vendedor recibía los alimentos casi siempre a granel y vendía sus productos con métodos de embalaje sencillos.

Hoy en día podemos encontrar en cualquier supermercado artículos de diferentes partes del mundo. Precisamente por ello se hace también necesario tomar unas medidas

que aseguren la calidad del alimento a lo largo de todo el proceso que sufre hasta que es finalmente consumido.

Las hojas de papel de estraza y de periódicos, las bolsitas y cajas de cartón, o el metal para productos sólidos se han sustituido mayoritariamente por una multitud de envases y envoltorios que conocemos globalmente como plásticos (Plastics Institute of America 1991). Incluso los alimentos líquidos, envasados fundamentalmente en vidrio, se han visto afectados por este cambio.

I.3.4.1.- RAZONES QUE JUSTIFICAN ESTOS CAMBIOS

¿Cuáles son los motivos que han promovido este cambio? Podemos decir que aquí confluyen múltiples intereses: económicos, sociales, tecnológicos, comerciales, así por ejemplo, ya no se pierde tiempo en pesar los productos, se garantiza mejor la conservación del alimento, etc. Por otro lado el envase resulta indispensable para la distribución directa al consumidor, al mismo tiempo actúa de "gancho" publicitario (cada marca tiene su propio diseño de envase) (Fox 1989). No obstante, el aspecto más importante y que tiene como última consecuencia la protección de la Salud Pública, es la mejora sustancial en la higiene del alimento.

Los recientes cambios sociales (Goddard 1990) han repercutido en los hábitos alimenticios. Desde los 70, y con la creciente incorporación de la mujer al trabajo, ha adquirido una gran importancia en los hábitos alimenticios la expansión del consumo de comidas conocidas como "fast food" y "snacks". El uso, cada vez mayor, de los hornos microondas ha incrementado esta demanda (Startin *et al.* 1987, Castle *et al.* 1988a, Begley *et al.* 1990a, 1990c, Begley *et al.* 1991, Castle *et al.* 1994a, Plastics Institute of America 1991), como es necesario conocer el fenómeno de migración en las condiciones reales de uso habrá que marcar unas pautas cuando los materiales de envasado se usen en microondas (Fuchs *et al.* 1991a, 1991b, Rossi 1994, Schwartz 1994).

Todos estos cambios han influido, lógicamente, en los envases alimenticios y en la forma de presentar el alimento. El plástico, en sus diversas modalidades es el material que mejor se adapta a esta creciente demanda.

I.3.5.- INDUSTRIA DEL "PACKAGING"

La industria del envasado ha experimentado una gran expansión durante los últimos años. Actualmente la "tecnología del envasado" constituye un área industrial que

mueve millones de dólares al año. Ya en 1988 se produjeron 160 mill. de toneladas (Tabla 2). En España, tal y como se refleja en la Tabla 3 han aumentado tanto la producción como el consumo de materiales plásticos. Dentro del envase-embalaje flexible (Berges 1994), cuya proporción de materias primas se agrupa en: plásticos 70-80 %, papel 15-20 % y lámina de aluminio 5-10 %; es el sector alimentario el que mayoritariamente acapara esta industria (Tabla 4).

Los materiales plásticos, hoy en día, son los más utilizados dentro del mundo de los envases y embalajes alimentarios, sin tener en cuenta que cada vez es más frecuente el empleo de contenedores y utensilios elaborados a base de sus formulaciones en multitud de sitios: en el hogar, los autoservicios, los comedores colectivos, los servicios de "catering", las máquinas expendedoras automáticas, etc. (cucharas, vasos, platos, recipientes para microondas, bandejas) y también en los grandes tanques destinados a uso alimentario.

I.3.5.1.- EMPRESAS QUE INTERVIENEN EN EL PROCESO

La historia de un envase alimentario comienza con un grupo de industrias químicas, mayoritariamente relacionadas con derivados del petróleo (Fig. 2), que proporcionan las materias primas: monómeros, aditivos, catalizadores, resinas,... para su fabricación (Feigenbaum *et al.* 1994).

El control del envase consiste en asegurarse de que la migración de los materiales obtenidos a lo largo de la cadena de producción cumple con las restricciones legales (Commission of the European Communities. Practical Guide 1993, Piringer 1986, Rossi 1987), si ocurre así podrán utilizarse en alimentación, en caso contrario, la empresa o entidad interesada puede remitir peticiones a la UE (adjuntando los datos requeridos) para modificar la lista positiva; más adelante veremos en qué consiste esta lista.

Otras industrias transformadoras -en general pequeñas y medianas empresas- se encargan de mezclar los ingredientes mediante diversos procesos tecnológicos dándoles la forma adecuada. Estas empresas solicitarán de los proveedores sustancias y materiales certificados (Ashby 1994), es decir, que cumplan con los requisitos legales.

Finalmente el envase llega a una industria alimentaria donde se pondrá en contacto con el alimento. Si existe algún contratiempo o anomalía en esta cadena de producción sería muy difícil atribuir la responsabilidad legal. Precisamente con el fin de evitar esta situación y para garantizar un control de la calidad del envase y, en definitiva,

de la salud del consumidor (Roberts 1992), las industrias alimentarias antes de adquirir los materiales de envasado tienen en cuenta distintos criterios a la hora de elegir los envases tales como: la protección y prevención frente a posibles contaminaciones (Bell 1982) tanto bióticas como abióticas, la variación en las propiedades organolépticas, la resistencia mecánica y la protección durante la distribución y almacenamiento,... (Feigenbaum y Rossi 1991, Sánchez 1992, Piringer 1994).

I.3.5.2.- VENTAJAS DE LOS PLÁSTICOS

La aparición en el mercado de materiales plásticos termorresistentes, que permiten el llenado de alimentos en caliente así como el tratamiento térmico posterior a 121°C o temperaturas más altas, ha ocasionado también su entrada en la elaboración de conservas, compitiendo con los materiales tradicionalmente utilizados: la hojalata y el vidrio. Entre las ventajas (Garde 1994) que estos nuevos envases aportan se pueden citar:

- Diseño e imagen novedosos.
- Facilidad de apertura.
- Ligereza.
- Horneabilidad (convección y microondas).

- Formas adaptadas a las necesidades del producto o del consumidor, lo que permite, por ejemplo, que el alimento pueda ser consumido directamente en el envase (platos preparados), así como maximizar el aprovechamiento del espacio en el transporte y almacenamiento.

- Gran variedad de materiales simples o complejos, con características versátiles, que permiten adaptarse a los requerimientos de conservación de los diversos alimentos".

En general, el consumidor está siendo muy receptivo al uso de diferentes tipos de plásticos en envases de alimentos. Ahora bien, el éxito de estos envases debe acompañarse de un beneficio en términos de calidad y seguridad del alimento que justifique su precio y su competencia frente a los materiales tradicionales: vidrio, papel, metal.

I.3.5.3.- INCONVENIENTES

Sin embargo, si hay una característica que nos interesa y que se exige a los envases alimentarios es que no se produzcan interacciones con el contenido del mismo (Risch y Hotchkiss 1991, Piringer 1986). Las modernas técnicas de envasado, con la utilización de nuevos materiales, plantean nuevos problemas de higiene: hay que asegurarse de que los materiales utilizados no sean tóxicos (Lederer 1985, Sheperd 1982) ni susceptibles de interaccionar con los alimentos que van a contener (Koszinowski y Piringer 1987), esto se contempla precisamente en esta memoria y será considerado posteriormente.

I.4.- REPERCUSIÓN MEDIOAMBIENTAL DE LOS ENVASES PLÁSTICOS

Los plásticos son, cada vez más, el material de elección usado para envolver todo tipo de productos. Su versatilidad lleva a una amplia utilización y a una igualmente amplia cantidad de residuos procedentes de todos los sectores del panorama económico (Goddard 1990). Estos residuos contribuyen en gran medida al deterioro de nuestro entorno y del medioambiente en general.

Con toda seguridad, cualquier persona utiliza, consume o se beneficia diariamente de productos cuyos envases están fabricados con plástico (Lloria 1994, EL EPS y el Mundo en que vivimos 1994a, 1994b), y una gran mayoría son alimenticios.

I.4.1.- PRODUCTOS ECOLÓGICOS

En los últimos años se ha incrementado, sobre todo en el mundo occidental, la preocupación por la preservación del medioambiente (Plastics Institute of America 1991). La industria del "Packaging" se ha visto afectada por esta corriente ideológica; los envases y envoltorios -fundamentalmente los alimenticios- contribuyen en gran medida al deterioro de nuestro entorno, en la mayoría de los casos se sintetizan y fabrican a partir de materiales no biodegradables. Muchas multinacionales aprovechándose de esta situación la han explotado comercialmente poniendo 'etiquetas verdes' a sus productos (buscando una justificación ecológica) para abrirse camino en el mercado.

De hecho, el éxito comercial de un producto alimentario reside, aparte de sus características nutritivas y organolépticas, en el mantenimiento de una calidad uniforme. Esto supone que cuando el consumidor adquiere un determinado producto tenga la

seguridad de que lo que va a encontrar dentro del envase mantiene las mismas características que la vez anterior. Esta afirmación, que es válida para cualquier bien de consumo, es aplicable en toda su extensión a los alimentos, máxime si se tiene en cuenta que son un bien de primera necesidad. Sin embargo, los alimentos son sistemas dinámicos, capaces de evolucionar por sí mismos y de interactuar con el envase y el medio que los rodea, dificultando el principio enunciado. (Garde 1994, Sánchez 1992, Piringer 1988).

El ciudadano y toda la sociedad debería estar mínimamente informado (educación medioambiental) acerca de cómo se puede contribuir a la reducción y eliminación adecuadas de los residuos plásticos (Plastics Institute of America 1991), y cómo cada cual puede colaborar para proporcionar una 'nueva vida' a estos materiales. De hacerlo organizada y responsablemente supondría un gran ahorro energético para toda la humanidad.

Una medida, por ejemplo, consistiría en separar los residuos domésticos (Sabas 1994) en diferentes bolsas de basura. Esto se hace en la actualidad en algunos países europeos, así por ejemplo, en Suiza tienen en cada vivienda tres tipos de bolsas de basuras. En la última edición del Salón de la Invención celebrado en Bruselas en enero de este año un inventor ha propuesto la utilización de bolsas plásticas para postes de marcado del kilometraje en autopistas y carreteras.

En los medios de comunicación es frecuente la aparición de artículos periodísticos donde se habla de la denominada "casa ecológica" ó "casa verde". En algunas industrias se utilizan las aguas residuales una vez depuradas, etc.

I.4.2.- MEDIDAS PARA EVITAR CONTAMINACIONES AMBIENTALES

"El diseño de los envases para alimentos debería estar orientado en las llamadas '4 R': reducir, reutilizar, reciclar y recuperar" (Brown 1993).

La EPA propone soluciones de forma jerarquizada (Plastics Institute of America 1991), es decir, primero reducción (Bothwell y Chacón Marín 1992), si esto no es posible se procederá a una reutilización del artículo o envase; en este caso, siempre que se destine el material a uso alimentario, deberá someterse a unas estrictas condiciones de higiene y limpieza; y por último, el reciclado (Morrow 1989). Cuando estas soluciones sean inviables se opta por la incineración con o sin obtención de energía. Algunos autores (Plastics Institute of America 1991) proponen el "compostaje" como solución

alternativa previa a la incineración. La última medida sería la acumulación de los residuos en vertederos apropiados. Las soluciones planteadas, en la práctica, no siempre se llevan a cabo de una forma adecuada y reciben críticas por la forma en que se realizan (Soler 1994).

Por contrapartida hay que considerar el esfuerzo económico que acarrea la puesta en práctica de las posibles soluciones aquí expuestas. Pero desde el punto de vista de la mejora de la calidad de vida, del ahorro energético y de la preservación del planeta se convierte en un esfuerzo recompensado con creces.

Todas estas alternativas tampoco tendrían sentido ni serían viables en la práctica sin la existencia de unas directrices legales (Overton 1994) y la concienciación de toda la sociedad de lo que Brown (1993) llama "responsabilidad medioambiental".

I.4.3.- RECICLADO

Numerosos autores están de acuerdo en considerar que el reciclaje es una forma de ahorrar energía y de contribuir a la disminución de los residuos plásticos (Morrow 1989, Sabas 1994), a la contaminación del planeta, y consecuentemente a minimizar el impacto medioambiental (Brown 1993, Overton 1994). Si nos referimos a materiales reciclados que van a ser utilizados en alimentación habrá que tener en cuenta otros aspectos adicionales como son, por ejemplo, la potencialidad tóxica de los productos que constituyen el nuevo material (van Lierop 1979, 1994, Risch 1988), también el tipo de polímero de partida, los niveles de aditivos que hayan sido incorporados y la limpieza e higiene del material (Thorsheim y Armstrong 1993).

En el proceso de reciclado la política a seguir por la FDA considera que niveles de residuos inferiores a 0.5 µg/kg proporcionan un margen de seguridad para la Salud Pública.

En los últimos años se han desarrollado nuevos procedimientos para obtener monómeros mediante la despolimerización de artículos ya usados. La industria del reciclaje mueve, hoy por hoy, mucho dinero (Goddar 1990) y cobra cada vez mayor importancia (Morrow 1989). Los servicios de la Comisión de la UE consideran que estos monómeros pueden usarse como sustancias de partida para fabricar materiales plásticos y recubrimientos que van a entrar en contacto con productos alimenticios siempre que cumplan con las especificaciones dadas en las Directivas vigentes de la UE (89/109/CEE, 90/128/CEE).

Algunos colectivos no están de acuerdo, en absoluto, con las medidas legales presentadas por la UE (Iglesias 1994) refiriéndose a que se tienen más en cuenta los intereses económicos industriales que los de los propios ciudadanos y del medio ambiente o con la política que siguen países como Alemania (El País 1993).

Si se usan polímeros reciclados en envases alimentarios debe determinarse antes la migración de posibles sustancias tóxicas al alimento (Begley y Hollifield 1993). Para evitarlo pueden usarse mezclas de plásticos virgen y reciclado de manera que el material virgen sea el que esté en contacto directo con el alimento (Franz y Piringer 1994).

I.5.- CONSIDERACIONES LEGALES DE LOS MATERIALES PLÁSTICOS UTILIZADOS EN ENVASES ALIMENTARIOS

I.5.1.- SITUACION LEGAL COMUNITARIA

En la formulación de un plástico, además del polímero base, intervienen compuestos de bajo peso molecular adicionados intencionadamente y en cantidades muy pequeñas, como por ejemplo coadyuvantes tecnológicos del proceso de fabricación, o modificadores de las características del producto final, en el cual deberá quedar el mínimo residuo de todos ellos. Otras sustancias están presentes de forma inevitable como por ejemplo tales como los residuos de las reacciones de polimerización: (monómeros y oligómeros), o algunos productos de descomposición, de degradación o de otras reacciones colaterales a la de polimerización (Castle *et al.* 1994b).

El polímero en sí es una molécula de elevado peso molecular, inerte y de baja solubilidad tanto en solventes lipófilos como hidrófilos, lo cual limita su posible transferencia del envase al alimento. Incluso si se ingieren accidentalmente son fisiológicamente inactivos al no ser absorbidos por el organismo humano. Sin embargo los compuestos de bajo peso molecular, inferior a 1000 uma, presentes en el material polimérico, y cuya toxicidad potencial se debe valorar, pueden cederse al alimento durante el procesado, la distribución y el almacenamiento.

Antes de plantear las dificultades que entraña llegar al convencimiento de que el material fabricado es totalmente "inerte" y por lo tanto hay garantía de su inocuidad, nos centraremos en distintos aspectos legales para comentar la protección que ejercen los Organismos e Instituciones Públicas (Wagstaffe 1993, Goenaga 1994, Ashby 1994); lo haremos de manera jerarquizada comenzando por la UE.

I.5.1.1.- OBJETIVOS QUE SE PRETENDEN ALCANZAR

Ya desde los años 70 se apunta la imperiosa necesidad de una legislación adecuada (Baumgartner 1972) que contemple, entre otros aspectos, la migración de sustancias tóxicas procedentes de envases alimentarios a los alimentos (Katan 1971). La Comisión de la UE sigue trabajando para completar la ley comunitaria (Rossi 1987) que se refiere a materiales plásticos según quedó especificado en el Anexo I de la Directiva 89/109/CEE del 21 de Diciembre de 1988 y con la que se pretende una aproximación de las legislaciones de todos los Estados Miembros relativa a materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos (Rossi 1988). Si bien no está totalmente desarrollada es bastante más avanzada que las legislaciones individuales de los Estados Miembros. El objetivo final es conseguir una legislación comunitaria que contendrá unas normas consecuentes con el artículo 30 del Tratado de Roma, que van encaminadas a la protección del consumidor y se refieren a los siguientes aspectos:

1º.- Lista positiva de sustancias autorizadas.

2º.- Establecimiento de restricciones para la migración de sustancias: Límites de migración global (LMG), Límites de migración específica (LME) y niveles residuales en el producto terminado (QM).

3º.- Reglas básicas para los tests de migración (simulantes, condiciones de ensayo: tiempo, temperatura, cubetas...).

4º.- Criterios generales y específicos para la pureza de materiales y sustancias.

5º.- Métodos de análisis.

6º.- Condiciones particulares de empleo.

7º.- Estudios de toxicidad de las sustancias que se utilizan.

I.5.1.2.- JUSTIFICACIÓN DE LA NECESIDAD DE UNA ARMONIZACIÓN LEGAL

Según el artículo 30 del Tratado de Roma (Julio de 1987, ratificado en Maastricht en 1993) por el que se establece la libre circulación de mercancías para los Estados Miembros, podría darse la contradicción de que un alimento circule libremente por las distintas fronteras nacionales porque cumple las respectivas normativas, pero el

envase no. Con esta reglamentación se intentan evitar posturas proteccionistas por parte de cada país miembro. En la Tabla 5 se exponen de forma resumida las diferencias existentes en las legislaciones de algunos países europeos referentes a materiales plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos (Gilbert *et al.* 1994a, Feigenbaum y Rossi 1991).

En la realización y financiación de todas las tareas encaminadas a cumplir con los aspectos postulados anteriormente confluyen múltiples intereses que afectan a toda la sociedad:

1°.- Empresas fabricantes, que si son responsables, requerirán estudios de toxicidad y migración de los materiales que producen antes de ser lanzados al mercado (Kamm 1994, Piringer 1986).

2°.- Industrias agroalimentarias que utilicen estos materiales para el envasado de sus productos (Riera Tuebols 1985, Riera Tuebols y Teixido Subirats 1988).

3°.- Organismos públicos relacionados con la salud ya que tendrán que disponer de las técnicas adecuadas para el control de estos materiales y así poder sancionar a los fabricantes irresponsables garantizando la protección de los consumidores (Goenaga 1994).

4°.- Consumidores que tienen el derecho a ser protegidos por la ley si se dan anomalías en los productos que consumen (Roberts 1992, Fox 1989).

5°.- Centros de investigación porque colaboran en el desarrollo de métodos de análisis (Wagstaffe 1993, Nieto de Castro 1994, Walker 1993).

1.5.2.- DIRECTIVAS VIGENTES

Debido a la complejidad del tema y a las discrepancias entre las leyes de cada país miembro (Svensson 1994), sin mencionar las disparidades de tipo legal y analítico frente a otros países como USA (Heckman 1994) o Japón; la Comisión ha decidido ir paso a paso proponiendo la adopción de una serie de Directivas sobre aspectos específicos. Actualmente existen, incluyendo la citada anteriormente (89/109/CEE), 12 Directivas vigentes:

DIRECTIVA DEL CONSEJO 78/142/CEE, de 30 de Enero de 1978, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros sobre materiales y objetos que contengan cloruro de vinilo como monómero, destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 44 del 15.2.78).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 80/590/CEE, de 9 de Junio de 1980, relativa a la determinación del símbolo (Fig. 1) que puede acompañar a los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 151 del 19.6.80).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 80/766/CEE, de 8 de Julio de 1980, que se refiere también al cloruro de vinilo: determinación en el producto acabado (DO nº L 213 del 16.8.80)

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 81/432/CEE, de 29 de Abril de 1981, trata igualmente del cloruro de vinilo: método comunitario de análisis para el control oficial del cloruro de vinilo cedido por los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 67 del 24.6.81).

DIRECTIVA DEL CONSEJO 82/711/CEE, de 18 de Octubre de 1982, por la que se establecen las normas de base para realizar los test de migración de los constituyentes de los materiales y objetos de materia plástica destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 297 del 23.10.82).

DIRECTIVA DEL CONSEJO 85/572/CEE, de 19 de Diciembre de 1985, que incluye la lista de simulantes a utilizar en los ensayos de migración de los componentes de los materiales y objetos de materia plástica destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 372 del 31.12.85).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 90/128/CEE, de 23 de Febrero de 1990, relativa a los materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 75 del 23.2.90).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 92/39/CEE, de 14 de Mayo de 1992, es la primera enmienda a la Directiva anterior (DO nº L 168 del 15.5.92).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 93/8/CEE, de 15 de Marzo de 1993, es la primera enmienda a la Directiva 82/711 (DO nº L 90 del 15.3.93).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 93/9/CEE, de 15 de Marzo de 1993, es la segunda enmienda a la Directiva 90/128 (DO n° L 90 del 14.4.93).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 93/11/CEE, de 15 de Marzo de 1993, relativa a la cesión de N-nitrosaminas y de sustancias N-nitrosables por las tetinas y chupetes de elastómeros o caucho (DO 3 del 17.4.93).

1.5.3. - PERSPECTIVAS FUTURAS

Se están elaborando otras Directivas; en principio abordarán los siguientes aspectos:

1°.- Una tercera modificación de la Directiva 90/128/CEE para:

- incluir nuevos monómeros
- modificar el "status" de la lista

2°.- Una ampliación de la Directiva 90/128/CEE para incluir:

- una lista con monómeros usados en la fabricación de recubrimientos (barnices, lacas, pinturas, **resinas epoxi**)
- otra de aditivos para plásticos y recubrimientos.

El problema del control oficial sobre materiales plásticos, así como de los métodos de análisis será examinado más tarde, teniendo en cuenta el desarrollo de la Directiva 90/128/CEE. Actualmente el CEN está trabajando (Ashby 1994) para poner a punto métodos con los que se determine la migración global en cada caso y para controlar las restricciones cuantitativas establecidas para algunos monómeros en la Directiva 90/128/CEE.

El desarrollo de un documento resumen es tan complejo que es imposible aunar todas las decisiones tomadas sobre este tema en los últimos 15 años (Commission of the European Communities. Practical Guide 1993, Gilbert *et al.* 1994a). Algunos de estos aspectos son expuestos con vías a mejorar las futuras Directivas: se tiende por un lado a eliminar el máximo número de restricciones para cada sustancia en la lista positiva definitiva, y por otro a incluir nuevas sustancias sin necesidad de realizar la complejidad de estudios precisos para ello (toxicológicos, de migración, etc.); en este sentido son las organizaciones industriales las instituciones que más fuerzan a continuar en esta línea.

En algunos casos las decisiones con respecto a la introducción, eliminación o modificación de una sustancia se han adoptado tras consultar a las autoridades competentes y se han basado en criterios prácticos. Aunque estos criterios reflejan más bien la situación de las listas de sustancias en el pasado, deberían considerarse de un modo más flexible y los servicios de la Comisión de la UE no están forzados a seguirlos (Rossi 1994). En cualquier caso la presencia de una sustancia en el borrador de las listas no garantiza su inclusión en la futura lista positiva.

En lo que se refiere a las resinas epoxi, para las que no existe una lista positiva a nivel nacional, la Comisión ha introducido todas las sustancias requeridas oficialmente por la Organización Europea profesional CEFIC (Conseil Européen de las Federations de l'Industrie Chimique). Estas sustancias se han incluido en las listas de recubrimientos que se han añadido a las listas del borrador de la próxima directiva.

I.6.- COMITÉ CIENTÍFICO PARA LA ALIMENTACIÓN: ÓRGANO CONSULTIVO DE LA UNIÓN EUROPEA

El Comité Científico para la Alimentación (SCF) se fundó en 1974 como un órgano de Consejo para la Comisión de la UE sobre aspectos tóxicos de los alimentos y, en particular, de contaminantes y aditivos de alimentos. Una de sus tareas consiste en aconsejar a la Comisión sobre los posibles peligros que entraña para la Salud Pública el uso de monómeros u otras sustancias de partida y aditivos utilizados en recubrimientos de envases o directamente en envases de alimentos (Barlow 1994).

Si bien muchas sustancias migran al alimento en cantidades despreciables, otras pueden hacerlo en cantidades muy altas, en algunos casos incluso se sobrepasan las cantidades de los aditivos que se incorporan deliberadamente al alimento (Till *et al.* 1987). Por eso es necesario la realización de un test adecuado para conocer su toxicidad (Renwick 1993). Son muchas las sustancias empleadas para la fabricación de plásticos que van a entrar en contacto con productos alimenticios (Hellerich 1989, Crosby 1981), y establecer las directrices y los mecanismos de control para autorizar su uso es un trabajo muy laborioso que precisa de la colaboración de toda la Comunidad.

I.7.- ESTABLECIMIENTO DE LA LISTA POSITIVA

Como ya hemos citado, la Directiva 89/109/CEE en su artículo 3 dispone que, para ciertos grupos de materiales y objetos las Directivas específicas podrán incluir una lista de sustancias de uso autorizado (LISTA POSITIVA) excluyéndose otras. La

Directiva 90/128/CEE ya ha establecido una lista aunque está restringida solamente a monómeros y otras sustancias de partida para ciertos tipos de plásticos (Feigenbaum y Rossi 1991). Los servicios de la Comisión, aproximadamente cada 6 meses, están actualizándola y modificándola -una vez realizados los estudios requeridos para una sustancia dada- y, además, están elaborando una segunda lista para recubrimientos superficiales sintetizados a partir de resinas o productos polimerizados (Commission of the European Communities. Practical Guide 1993).

I.7.1.- NECESIDAD DE "MATERIALES INERTES".

El establecimiento de la lista positiva se basa en el principio de "material inerte" (Feigenbaum y Rossi 1991, Directiva 90/128/CEE 1990).

La garantía de seguridad para el consumidor en el uso de una sustancia que está en contacto directo con el alimento (utensilios de cocina, envases alimentarios, recubrimientos de pequeños envases o grandes tanques para alimentos, etc.) depende de múltiples factores (Commission of the European Communities. Practical Guide 1993):

1º) Las propiedades biológicas de la sustancia.

2º) La cantidad máxima de sustancia ingerida por día que dependerá de:

- El tipo de material que está en contacto con la sustancia.
- Las fracciones de cada material que contienen a la sustancia y las cantidades de sustancia incorporada.
- La magnitud del contacto del alimento con el material, la relación entre el peso de alimento y la superficie de contacto y las temperaturas alcanzadas mientras dure el contacto.
- La extensión de la migración de la sustancia o de sus productos de hidrólisis a cada tipo de alimento y sus posibles reacciones con los componentes del mismo.
- Las distintas formulaciones del material que se hallen en contacto con el alimento.
- La proporción de cada tipo de alimento que se encuentra en contacto con cada tipo de formulación.
- Las cantidades de alimentos consumidos que han permanecido en contacto con cada tipo de formulación.

3º) La frecuencia con que es consumido el alimento en cuestión.

A menos que se estudie individualmente cada sustancia y en cada caso particular, es prácticamente imposible conocer "a priori" la migración de una sustancia en todas las situaciones posibles. Por la misma razón es también difícil establecer una lista positiva de todas las sustancias que podrían estar presentes en el producto terminado y, consecuentemente, en cada tipo de envase alimentario. Por lo tanto, la Comisión de la UE, de acuerdo con la opinión del SCF y con el principio de "material inerte" sobre el que se han basado las listas positivas nacionales de los Estados Miembros, ha optado por el sistema del establecimiento de una lista para todas aquellas sustancias que se utilizan en la fabricación del producto terminado.

Hasta 1987 (Tice y McGuiness 1987) se han incluido en la lista positiva 450 sustancias, en Diciembre de 1989 (Feigenbaum y Rossi 1991) la lista de monómeros de plásticos contaba con 540 sustancias, la de aditivos con 800. Actualmente el SCF ya ha evaluado (Tabla 6) aproximadamente 1200 monómeros y 1700 aditivos (Commission of the European Communities. Practical Guide 1993) y según se vayan realizando los estudios de toxicidad, migración, evaluación, etc. se incorporarán nuevas sustancias. Éstas serán autorizadas para su uso en la fabricación de materiales plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. A consecuencia de esta decisión la lista de la Comunidad no contendrá sustancias que no han sido añadidas deliberadamente pero que pueden estar presentes en el producto terminado tales como:

- Impurezas
- Intermediarios de reacción
- Productos de descomposición

1.7.2.- ¿CÓMO SE ESTABLECE LA LISTA POSITIVA?

En un principio se realizaba un inventario de las sustancias empleadas en la industria. Este inventario era coordinado por dos fuentes: Los Estados Miembros y las Federaciones de Industriales Europeos. Una vez confeccionado, la UE envía los dossiers de las sustancias al SCF que organiza comisiones de trabajo con especialistas científicos; cuando este comité de expertos considera que una sustancia está suficientemente evaluada emite un dictamen acerca de la incidencia de su utilización sobre la Salud Pública (Feigenbaum y Rossi 1991) y la incluye en una lista (0-9).

Hace algunos años los fabricantes eran reticentes a suministrar información acerca de los productos que utilizaban, pero hoy en día este espíritu está en franca regresión, por varias razones:

1ª) Los industriales se han apercibido que la ausencia de reglamentación es sinónimo de "caos" en donde todos los abusos proteccionistas están permitidos.

2ª) Las industrias agroalimentarias comienzan a ejercer presión sobre los fabricantes de embalajes para obtener garantías acerca de la calidad de los mismos. El que estos embalajes y materiales de envasado sean conformes a la Reglamentación Europea es ya en la actualidad y lo será más en el futuro un criterio de calidad.

3ª) El "gancho" publicitario. Para un industrial la aparición del nombre del producto que fabrica en los envases, aunque sea al lado de otros nombres, es un argumento comercial, o sea, podrá decir que su producto se utiliza en la elaboración de este, ese y aquel envase, en contacto con una variedad de alimentos y es por tanto un producto ampliamente probado y de reconocido prestigio y valía en el mercado.

4ª) Por mero pragmatismo o necesidad, pues en un futuro próximo, toda sustancia que no esté incluida en la lista positiva no se podrá utilizar en la fabricación de materiales para contacto de alimentos.

Actualmente cualquier persona puede solicitar la inclusión de una determinada sustancia en la lista positiva simplemente enviando una solicitud oficial a la Comisión de la UE y adjuntando toda la documentación requerida para ella.

I.7.3.- OBJETIVOS DEL ESTABLECIMIENTO DE LA LISTA POSITIVA

El establecimiento de una lista positiva tiene como último objetivo proteger al consumidor (Piringer 1994) de los riesgos que para su salud supone la exposición a las sustancias potencialmente tóxicas que migran al alimento; se basa, como ya hemos mencionado, en el principio de "material inerte"; es decir, en las condiciones normales de empleo todos aquellos objetos y materiales plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios no deberán ceder componentes al alimento en cantidades tales que puedan representar un peligro para la salud humana u ocasionar una modificación inaceptable de la composición o una alteración de los caracteres organolépticos del producto alimenticio.

I.7.4.- LISTAS DEL COMITÉ CIENTÍFICO PARA LA ALIMENTACIÓN

El SCF establece 10 listas diferentes en las que se incluirán las sustancias objeto de estudio (Commission of the European Communities. Practical Guide 1993). Aquellas

para las que existen datos de toxicidad se incluirán en las 6 primeras listas (0-5) mientras que aquellas otras para las que los datos de toxicidad no existen o bien son insuficientes figurarán en las restantes (6-9). Las primeras se engloban en la sección A y las segundas en la sección B de la Directiva 90/128/CEE y de sus enmiendas posteriores. En la llamada lista de espera ó lista W no se incluirán las sustancias permitidas.

1.7.4.1.- DESCRIPCIÓN DE LAS LISTAS

En la Tabla 7 se exponen comparativamente y de forma resumida las siguientes listas.

Lista 0: Formada por sustancias totalmente inocuas, constituyentes de alimentos (ácido butírico, celulosa) o bien se trata de productos intermedios del metabolismo (glucosa, urea).

Lista 1: Sustancias que se usan como aditivos alimentarios con una ADI, t-ADI (ingesta diaria admisible temporal), PMTDI (ingesta diaria tolerable máxima provisional) o PTWI (ingesta semanal tolerable provisional) establecida por el SCF o por la JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives) FAO/WHO. Aquí también figuran sustancias que sin ser aditivos están presentes en los alimentos pero para las que existen ingestas máximas tolerables diarias o semanales (iodo, bromo, cobre, fósforo, alcohol bencílico, etc.).

Lista 2: Incluye sustancias que ni son parte integrante de los alimentos ni tampoco son aditivos y para las que el SCF ha fijado una TDI según los datos de toxicidad existentes, por ejemplo: fenol, polietilenglicol.

Lista 3: Sustancias con datos toxicológicos insuficientes para calcular la ADI o la TDI pero son susceptibles de ser incluidas aquí debido a que los niveles residuales en alimentos serán muy bajos por diferentes causas: volatilidad (butano, pentano, formol), o son gases a temperatura ambiente (etileno, acetileno), o bien se trata de sustancias con un fuerte olor o sabor (cloro, alcanfor, α y β -pineno). Aquí también figuran sustancias inertes (silicatos, óxidos de cinc,...) o sea, sustancias que migran a niveles muy bajos.

Lista 4: Contiene sustancias tóxicas para las que no se puede establecer una ADI o una TDI pero se acepta su utilización debido a que no hay niveles residuales detectables en los alimentos al emplear un método sensible y validado, y aquí se englobaría el grupo de sustancias 4A (BADGE, butadieno, epíclorhidrina, acrilonitrilo,

óxido de etileno,...) y aquellas cuyos límites de migración se reducirán tanto como sea posible, que constituirían el grupo 4B (cloruro de vinilo, de vinilideno,...).

Lista 5: Sustancias cuyos datos de toxicidad indican que no son adecuadas para ser utilizadas en la manufactura de materiales que entran en contacto con alimentos. Aquí se incluyen asbestos, compuestos que contienen morfina y otros con una alta capacidad de bioacumulación como algunos altamente halogenados. Esta es la última categoría de sustancias para las que existen datos suficientes de toxicidad.

Lista 6: Los datos sobre la toxicidad no existen o son insuficientes, se sospecha por los grupos funcionales que ésta puede ser alta o bien se trata de una sustancia carcinogénica. La Comisión establecerá restricciones (LME y/o QM) para su uso. Esta lista se divide en dos: 6A (los carcinogénicos: acrilamidas y metacrilamidas, compuestos epoxi, hidrazidas,...) y 6B (sustancias con otras propiedades tóxicas: ésteres del ácido adípico, del nonanodioico, del fosfórico, del ftálico,...)

Lista 7: Engloba aquellas sustancias de las que se tiene alguna información sobre su toxicidad pero no puede determinarse la ADI o la TDI. El SCF requiere más datos para su evaluación. Para estas sustancias se harán los ensayos de hidrólisis, como por ejemplo han hecho Castle *et al.* (1993c), pues de esta forma puede evitarse la realización de los test toxicológicos: dietanolamidas de los ácidos grasos del aceite de cacahuete, ácido y anhídrido trimelítico, éter etil vinílico,...

Lista 8: Comprende todas aquellas sustancias para las que no se puede evaluar la toxicidad porque se carece de los datos suficientes, tales como cloruro de etilo, ácido isosteárico, metilhidroquinona, etc.

Lista 9: Incluye sustancias -naturales o sintéticas- que no pueden ser evaluadas debido a la falta total de especificaciones para ellas o a la carencia de una descripción adecuada (grupos de sustancias). Los grupos de sustancias se sustituirán, cuando sea posible, por sustancias individuales. En esta lista también figuran polímeros que no pueden ser evaluados por el SCF debido a la falta de datos. El SCF distingue dos grupos: polímeros y mezclas, ambos utilizados como sustancias de partida. En principio el SCF los autorizará cuando se aporten todos los datos requeridos para los mismos. Podemos citar como ejemplos: éteres alquilvinílicos, aceite de ricino, nonilfenol.

Lista W: Es la "lista de espera" que contiene sustancias aún no incluidas en las listas de los Estados Miembros y no están autorizadas a nivel nacional. No pueden

figurar en las listas de la Comunidad porque el Comité carece de los datos suficientes para ello. Nunca se incluirán en las listas oficiales hasta que estén clasificadas dentro de las listas 0-4. Ejemplos: flúor, dietanolamina.

I.7.5.- LISTAS POSITIVAS DE LA COMUNIDAD

Los Servicios de la Comisión están elaborando una lista positiva para los siguientes productos:

- Plásticos.
- Recubrimientos superficiales obtenidos de productos resinosos o polimerizados tales como barnices, resinas epoxi, lacas, pinturas, etc. Las siliconas, las resinas de intercambio iónico, los adhesivos y las tintas no figuran en estas listas (serán considerados más adelante).

Los Servicios de la Comisión pretenden que la lista positiva de plásticos para la Comunidad sea establecida mediante las Directivas que entren en vigor a partir del 1 de Enero de 1997. A partir de esta fecha todos los monómeros y aditivos deben adquirir un status definitivo: su inscripción en la lista positiva o su desaparición de la misma. Ya se ha adoptado una primera lista positiva para algunos tipos de plásticos (Directiva 90/128/CEE 1990) y se extenderá en el futuro a los aditivos de plásticos.

I.8.- SITUACIÓN LEGAL ESPAÑOLA

En nuestro país existe una RTS que regula la utilización de los materiales poliméricos y no poliméricos empleados en la fabricación de envases destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (RD 1125/1982, RD 668/1990).

Esta normativa es muy parecida a la comunitaria (algunas disposiciones legales son meras traducciones de las directivas de la UE). Por un lado es más estricta, pues aunque la UE prorroga el plazo de la entrada en vigor de la lista positiva hasta el 1 de Enero del 97 y admite la posibilidad de prórroga, en la legislación española se contemplaba el uso y la comercialización de las sustancias especificadas en el RD 2207/1994 (similar a la Directiva 90/128/CEE) hasta el 31 de Marzo de 1995, por otro lado no es tan flexible dado que una disposición posterior deroga (parcial o totalmente) a las dictadas anteriormente mientras que en las directivas CEE, no se derogan del todo sino que más que una modificación se trata de una complementación.

En nuestro país con la entrada en vigor del RD 2207/1994 se especifican las condiciones de ensayo para las pruebas de migración.

I.9.- COMENTARIOS A LA LEGISLACIÓN

En las disposiciones legislativas vigentes en la actualidad no se contempla qué procedimientos analíticos deben utilizarse para cuantificar la cantidad residual y la migración específica. Esto es debido a que no existen métodos de referencia, o sea, validados. Por otra parte, para muchas sustancias ni siquiera están desarrollados los procedimientos adecuados para detectar los monómeros a los niveles máximos de migración. La única excepción, como ya hemos comentado es el cloruro de vinilo.

Entonces ¿de qué sirve establecer un límite de migración si no se dispone de los medios analíticos para determinarlo?

Otro aspecto sobre el que existe una laguna legislativa es el relativo a los productos de degradación, puesto que para ellos no se han realizado los correspondientes estudios de toxicidad, ¿debemos atribuirles la misma toxicidad que a la sustancia que los origina?. Este criterio no lo consideramos fiable en absoluto.

I.10.- NIVEL DE REGULACIÓN Y LÍMITES DE MIGRACIÓN

El concepto de nivel de regulación se refiere a una determinada cantidad de sustancia ingerida o, alternativamente, a un nivel de migración (LMG) bajo el cual la sustancia no será considerada por la legislación (Risch y Hotchkiss 1991). Esto se está discutiendo actualmente en USA y el nivel hipotético se sitúa alrededor de 0,5-1 µg/kg en la dieta, no obstante puede haber algunas excepciones.

Los servicios de la Comisión de la UE, una vez consultado el SCF, no están todavía a favor de este concepto debido a que se escapa al principio de la lista positiva.

La Directiva 90/128/CEE establece el límite de migración global (LMG), que corresponde a la suma de las migraciones específicas de todos los constituyentes del envase (van Battum y van Lierop, 1988), considerando que es una medida de la estabilidad de los materiales, y que previene de cambios inaceptables en la composición de los alimentos y, además reduce la necesidad de un gran número de ensayos de

migración específica, ya que si un material está dentro de los límites de migración global, implica que los límites de migración específica no son sobrepasados. Por otro lado también permite a los fabricantes chequear la inercia de cualquier material plástico que pretenda ser utilizado en contacto con productos alimenticios. Los inconvenientes de este parámetro son: su inespecificidad, la susceptibilidad a interferencias -en especial frente a simulantes oleosos-, la no consideración de migrantes volátiles en el caso de simulantes de naturaleza acuosa y el consumo de tiempo e imposibilidad de automatización. Normalmente se determina mediante técnicas gravimétricas (Pfab 1972, Tice 1988)

El límite de migración global es de 10 mg/dm^2 de superficie de material que está en contacto con el alimento, admitiéndose 60 mg de constituyentes disueltos por kilogramo de alimento ($\text{mg/kg} = \text{ppm}$) en los siguientes casos:

- 1°.- Materiales que constituyen envases de más de 0.5 L y menos de 10 L.
- 2°.- Artículos y objetos que puedan rellenarse para los cuales no es factible calcular la superficie de contacto.
- 3°.- Cápsulas, capuchones, obturadores, tapas y taponos u otros dispositivos de cierre similares.

Se considerará que el material u objeto es conforme siempre que no exceda del límite de migración global especificado para él mismo.

Para algunas sustancias tóxicas, en total 56, existen restricciones en cuanto a sus límites de migración específica (LME), parámetro que establece los valores máximos de migración en el producto alimentario, que en las condiciones reales de utilización no suponen un peligro para la salud humana. El LME está estrechamente ligado a las características toxicológicas de la sustancia y representa el impacto directo de esta sustancia sobre la salud pública.

Otra restricción establecida (90/128/CEE) es la QM (o "quantity maximum") referida a la cantidad máxima permitida de sustancia residual en el material u objeto, expresada como total de los grupos de sustancias o sustancias indicados.

El LME y la QM no son excluyentes para un material dado y están relacionados mediante la fórmula (Baner *et al.* 1994):

$$QM = LME \frac{1.67}{dp \times Ip} \quad \text{donde}$$

ρ_p : densidad del polímero en g/cm^3

l_p : espesor del material en cm.

1.67 es un factor que relaciona la masa de alimento (en g) en contacto con una determinada superficie de material plástico (en cm^2).

I.11.- FENÓMENO DE MIGRACIÓN

Los materiales plásticos, por su propia naturaleza, ya se trate de componentes que intervienen en su formulación o de impurezas (Tabla 8) interaccionan con el alimento envasado (Piringer 1986, Koszinowski y Piringer 1987) y con el medio ambiente, de forma que en el sistema alimento-envase-entorno se producen fenómenos de difusión (vom Bruck *et al.* 1979), adsorción y desorción de diferentes especies moleculares (Figge 1980). Estos fenómenos se traducen en una incorporación o pérdida de componentes que pueden originar (Feigenbaum y Rossi 1991):

- Un cambio gradual en la composición del producto, que puede afectar a su calidad final al modificarse los componentes del mismo.

- Una alteración de las características físico-químicas y mecánicas del material de envase durante la vida útil del producto envasado.

De acuerdo con Katan (Garde 1994), la migración se define como la transferencia de masa entre el material de envase, el alimento envasado y el entorno, bajo condiciones específicas.

I.11.1.- PARÁMETROS INDICADORES DE LA MIGRACIÓN

Con el objeto de caracterizar y cuantificar el fenómeno de migración, en la práctica se distingue entre:

MIGRACIÓN GLOBAL, cuando se refiere a la suma de todos los componentes del envase que se transfieren al alimento; para determinarla se seguirá el método propuesto por el CEN (III/1521/78-EN), el ensayo en blanco se hará empleando el mismo método según se indica en la Directiva 90/128/CEE.

MIGRACIÓN ESPECÍFICA, que representa la cantidad de una sustancia concreta e identificable presente en el material que se transfiere al alimento bajo ciertas condiciones.

La sustancia o sustancias transferidas son los **migrantes**, moléculas presentes inicialmente en el material polimérico (Feigenbaum *et al.* 1993) y que podemos identificar como: trazas de monómeros residuales, oligómeros, aditivos o productos de reacción del polímero o de sus aditivos.

El parámetro **CANTIDAD RESIDUAL** se refiere al nivel residual de monómero o sustancia de partida que queda en el producto terminado.

I.11.2.- ENSAYOS DE MIGRACIÓN

Idealmente, para poder estimar la ingesta diaria de un monómero u otra sustancia de partida (Renwick 1991, 1993, Kroes *et al.* 1993), tienen que existir datos acerca de la migración de la misma, así como de sus productos de degradación o de descomposición desde cada tipo de formulación en que intervenga la sustancia a cada tipo de alimento que se halle en contacto con ella y bajo las condiciones previsibles de uso y almacenamiento real.

I.11.2.1.- PROBLEMAS PRÁCTICOS DE REALIZACIÓN DEL ENSAYO

En la práctica, la detección, el análisis y el estudio de la migración de niveles bajos de sustancia -a veces del orden de $\mu\text{g/L}$ - y de sus posibles productos de descomposición en el alimento es bastante difícil porque influyen multitud de parámetros y depende de las condiciones de cada caso en particular (Vogt 1988, Tice 1989). A veces la única forma de determinar la migración potencial al alimento consiste en utilizar simulantes de alimentos (Directiva 85/572/CEE 1985). En este caso, para establecer los LME y la QM hay que tener en cuenta las especificaciones dadas por las Directivas de la UE.

Si la sustancia se transforma en un alto porcentaje durante el proceso y si se sospecha que sus productos de degradación son potencialmente tóxicos, ¿deberán adjuntarse también datos de la migración específica de estos productos? La UE todavía no se ha pronunciado en cuanto a este aspecto.

Puesto que es el nivel de migración el parámetro que determina la importancia de los datos toxicológicos, los ensayos de migración deben realizarse en las situaciones en que sea máxima, es decir, se trata de apreciar la exposición máxima del consumidor en las peores condiciones imaginables, por lo tanto, los estudios de migración se llevarán a cabo en las condiciones más desfavorables.

Los test de migración se realizarán en todos los tipos de materiales en que va a entrar a formar parte la sustancia y con el máximo grosor previsible.

I.11.2.2.- DATOS NECESARIOS EN UN TEST DE MIGRACIÓN

En un ensayo de migración deberán remitirse todos los datos, particularmente los siguientes:

1°.- Composición detallada de la muestra a utilizar, incluyendo la concentración inicial de cualquier sustancia susceptible de migrar, obtenida por la extracción con un solvente de la muestra.

2°.- Alimentos y simulantes de alimentos.

3°.- Condiciones de contacto: tiempo, temperatura, rango superficie/volumen o peso de alimento o de simulante, tipo de cubeta empleada en el ensayo y cualquier otro parámetro que pueda influir en la migración.

4°.- Descripción detallada de los métodos analíticos y procedimientos usados para la determinación cuantitativa de la(s) sustancia(s) o de sus productos de degradación. En aquellos casos en que se pueda establecer un LME, se propondrá y describirá un método de análisis; será un método adecuado para el control del material plástico objeto de ensayo y validado por otros organismos (CEE, CEN, ASTM, AOAC, ISO, etc.).

5°.- Resultados de los datos de migración en mg/dm^2 y/o en mg/kg .

6°.- Relación entre QM y LME (Figge y Hilpert 1990a, Figge y Hilpert 1990b, Figge y Hilpert 1991) en los casos o situaciones de migración más desfavorables.

I.11.3.- REGLAS BÁSICAS PARA REALIZAR LOS TEST DE MIGRACIÓN EN FLS.

La determinación de la migración en FLS se realizará usando los FLS que figuran en la Tabla 9 (Directiva 85/572/CEE) y bajo unas condiciones específicas (Tabla 10). Sin embargo, la determinación de la migración se restringirá a los FLS y a las condiciones de test que, según cada caso particular, se consideren las más severas.

Cuando se comparen los resultados de las pruebas de migración especificadas en las Directivas 82/711/CEE y 93/8/CEE, deberá aceptarse que el peso específico de todos los simulantes es 1. Posteriormente, habrá que corregir a condiciones reales de uso estos resultados mediante la fórmula (Directiva 90/128/CEE):

$$M = \frac{m \times a_2}{a_1 \times q} \times 1000, \text{ donde:}$$

M: migración en mg/kg,

m: mg de migrante en las condiciones del test,

a₁: dm² del material en el test,

a₂: dm² del material en condiciones reales de uso,

q: g de alimento en contacto con el material u objeto en las condiciones reales de uso.

En el caso de materiales compuestos por varias capas, sólo ha de ponerse en contacto con el simulante la que se expone al alimento durante su aplicación real. Y cuando un material esté destinado a entrar en contacto repetidas veces con productos alimenticios, las pruebas de migración habrán de realizarse 3 veces usando diferentes muestras de un mismo simulante. La conformidad del material se controlará de acuerdo con el nivel de migración de la tercera prueba, si las anteriores no resultan concluyentes.

Si se usan los simulantes acuosos CEE, la migración global se determina por evaporación del simulante y pesada del residuo (método gravimétrico). Si se utiliza un simulante oleoso, la migración global se calcula por diferencia de pesada del material antes y después del test, teniendo en cuenta que ha de restarse el aceite absorbido por dicho material.

Un material de conformidad con la Directiva 90/128/CEE es aquel que, aunque supere el límite de migración global, lo hace en cantidades no superiores a las siguientes tolerancias analíticas:

- 20 mg/kg ó 3 mg/dm² en el caso de simulantes oleosos,

- 6 mg/kg ó 1 mg/dm² en el caso de los acuosos.

I.11.3.1.- SIMULANTES DE ALIMENTOS

1°.- Materiales plásticos destinados a entrar en contacto con todo tipo de alimentos(*).

Los test se realizarán empleando los siguientes FLS (esquemáticos en la Tabla 9), tomando una porción de muestra de cada material plástico para cada simulante:

- Agua destilada o agua de calidad equivalente (simulante A)

- Ácido acético al 3%(P/V) en solución acuosa (simulante B)

- Etanol al 15%(V/V) en solución acuosa (simulante C)

- Aceite de oliva rectificado (simulante D) con unas características específicas (Directiva 85/572/CEE). Con este simulante se utiliza, en la mayoría de los casos, un coeficiente de reducción, factor por el que ha de dividirse la migración al simulante para referirla al alimento en cuestión, debido a que, para determinados productos alimenticios que contienen materias grasas, el resultado obtenido en las pruebas de migración con el simulante es más elevado que el obtenido con el propio producto alimenticio.

Si por razones técnicas se hace necesario usar otros simulantes, el aceite de oliva se sustituirá por una mezcla de triglicéridos sintéticos (Figge 1972a) o por aceite de girasol. Si estos FLS no son adecuados pueden emplearse otros y también otras condiciones de tiempo y temperatura. Algunos autores señalan la utilización de simulantes alternativos cuando se emplean temperaturas muy altas en los test de migración (Piringer *et al.* 1993, Fuchs *et al.* 1991).

*Los factores de reducción que aparecen en la lista de simulantes (85/572/CEE) no se utilizarán en este caso.

2°.- El material plástico sólo estará en contacto con un tipo de alimento o con un grupo específico de producto alimenticio.

Los test se realizarán:

- Usando sólo los FLS especificados como apropiados para el alimento o grupo de alimentos en la Directiva 85/572/CEE.

- Si el alimento o grupo de alimentos no están incluidos en la lista, seleccionar los FLS que correspondan a la capacidad más extractiva del alimento o grupo de alimentos.

I.11.3.2.- CONDICIONES DEL TEST (TIEMPOS Y TEMPERATURAS)

1°.- Los tiempos y las temperaturas para llevar a cabo los test de migración están especificados en la Directiva 85/572/CEE y se harán teniendo en cuenta las condiciones reales y previsibles del contacto material plástico-alimento.

2°.- Si un material pasa un test a una temperatura y tiempo determinados, no será necesario someter el material ni a un tiempo más corto a la misma temperatura ni al mismo tiempo a una temperatura más baja.

3°.- Sin embargo, si un material plástico se somete a dos o más combinaciones de tiempo y temperatura, la migración se determinará sometiendo ese material plástico sucesivamente a todas las condiciones de test aplicables utilizando la misma alícuota de simulante.

4°.- Si un material plástico destinado a entrar en contacto con alimentos se somete a un ensayo sin considerar el tiempo, las condiciones para el test serán las siguientes:

- Si el material va a ser sometido a temperaturas de hasta 70° y esto se indica en la etiqueta, sólo será necesario realizar el test de 10 días a 40°.

- Si la temperatura es mayor de 70°: si no hay etiqueta que lo indique se usarán los simulantes B y C a reflujo, si es posible 2 horas a 100° y el FLS D se usará 2 horas a 175°. En el caso de que en la etiqueta se especifiquen las condiciones reales de tiempo y temperatura, entonces se seleccionarán de la Tabla 10 las condiciones de ensayo.

5°.- Según lo expuesto en el punto 2° y por lo que se deduce de la Tabla 10, si el material plástico se somete a temperaturas comprendidas entre 70°C y 100°C durante 15 min. o menos y esto aparece indicado convenientemente en la etiqueta, sólo se realizarán los test de 10 días a 40°C y 2 horas a 70°C en porciones distintas de muestra del mismo material.

6°.- Cuando al realizar cualquiera de los ensayos de migración con las condiciones de la Tabla 10 se producen cambios físicos o químicos en el material que no

tienen lugar en condiciones normales de uso, se recomienda realizar los ensayos de migración bajo las condiciones más adecuadas a cada caso particular.

7°.- Si los alimentos se calientan recubiertos del material plástico en un microondas, se seleccionará un ensayo con las condiciones de la Tabla 10 en una estufa convencional.

I.11.3.3.- CUBETAS O CÉLULAS PARA LOS TEST DE MIGRACIÓN

Dependiendo del material objeto de ensayo se empleará un tipo determinado de cubeta. No vamos a entrar ahora en todos los modelos existentes que se pueden emplear, además cada país tiene una legislación al respecto (aunque, por desgracia, no siempre completa) y cada grupo de investigadores, en función de los problemas tecnológicos que presente el material objeto de ensayo propondrá el uso de uno u otro tipo. En España se acepta la que propone el Proyecto de Norma Española PNE 53-330, donde se puntualiza que para los ensayos de migración debe emplearse la conocida como célula Maturi u otra similar. En nuestro caso hemos diseñado dos células especiales (Fig. 3) en las que se garantiza la hermeticidad y una mínima superficie de contacto entre las paredes de la cubeta y la placa objeto de ensayo.

I.11.4.- EXCEPCIONES A LAS CONDICIONES NORMALES DE TEST

En algunos casos especiales y según el párrafo 5° de la sección 10.3.2. pueden no seguirse las pautas que marca la legislación. Si existen pruebas concluyentes de que el límite de detección en el simulante D es mayor que 0.05 mg/kg puede sustituirse el simulante D por otro simulante oleoso alternativo (isooctano o etanol 50% o 95%); en este caso la sustancia objeto de ensayo ha de ser soluble en el nuevo simulante. Si se emplea isooctano las condiciones del ensayo varían (Tabla 11). Con el etanol se realizarán también medidas al primero, segundo y cuarto día en el ensayo de 10 días a 40°C.

Si, desde un punto de vista técnico, el test es inviable para realizar el ensayo en el simulante D, este simulante puede sustituirse teniendo en cuenta las recomendaciones del párrafo anterior.

El test para determinar la cantidad residual (QM) en el simulante D no es obligatoriamente necesario si se demuestra que la extracción con un solvente, realizado

mediante un procedimiento validado, da valores más altos que los obtenidos al hacer el ensayo de migración siguiendo las pautas marcadas por las Directivas CEE..

Los simulantes alternativos tendrán bajos puntos de ebullición (<100°C) y proporcionarán hinchazón al polímero. Como regla general los polímeros apolares por ej. poliolefinas se tratarán con solventes apolares mientras que para los polímeros polares (poliamidas) se emplearán solventes polares. Con los semipolares (poliésteres) se usarán solventes como acetato de etilo, diclorometano.

Los coeficientes de reducción se utilizarán en el caso de sustituir aceite de oliva por otro simulante oleoso.

I.12.- DATOS TOXICOLÓGICOS

Las primeras directrices del SCF en cuanto a materiales plásticos en contacto con alimentos publicadas en 1977 eran flexibles en lo que respecta al establecimiento de los test de toxicidad, similares a aquellos necesarios para la aprobación de aditivos alimentarios y se puntualizó que, bajo ciertas circunstancias, no eran necesarios todos los test. En la práctica, aparte de aquellas sustancias que ya tenían ADI, había muy pocas para las que existían datos toxicológicos completos. De hecho, en la actualidad, aproximadamente el 80% de los monómeros se clasifican dentro de la sección B debido, precisamente a la carencia de estos datos.

Por ejemplo, en el primer informe del SCF sobre monómeros que seguía las recomendaciones del Comité (Comisión de la CEE 1987), a muchas de las sustancias clasificadas en la lista 2 se les imputaba una TDI sin considerar los estudios de reproducción, teratogenicidad y mutagenicidad; incluso en algún caso, la TDI se estableció mediante estudios realizados en 4 semanas o en 90 días. Es comprensible que estas consideraciones fueron asumidas por el SCF en ese momento debido, por un lado a la gran cantidad de sustancias objeto de evaluación y por otro a que los test de toxicidad realizados hace 10-15 años no incluían las especificaciones actuales. Así, el test estándar de Ames que detecta efectos mutagénicos empleando bacterias se describió a principios de los 70 y se recomendó su uso a partir de los 80. No se marcaban pautas para la realización de los test de toxicidad: no se indicó que la naturaleza de la sustancia, su metabolización y la toxicidad a corto plazo jugaban un papel importante para decidir la necesidad de estudios de toxicidad a largo plazo. No existen criterios acerca de qué niveles de exposición podrían ser significativos ni tampoco los había sobre los estudios de reproducción y teratogenicidad. Esto era perjudicial tanto para la industria como para

el SCF, fue así como a finales de los 80 el SCF pensó en la necesidad de establecer unos criterios tanto para realizar los ensayos toxicológicos como los de migración, publicándose éstos en 1990.

Esta situación de incertidumbre no es, en absoluto, satisfactoria desde el punto de vista de la Salud Pública porque la mayoría de estas sustancias (que están siendo utilizadas en la fabricación de materiales plásticos que van a entrar en contacto con alimentos) no han sido testadas ni valoradas adecuadamente para evaluar los riesgos potenciales que suponen para el hombre. El SCF no ha sido capaz de ofrecer ningún tipo de 'garantía de salubridad' acerca de las sustancias de la sección B.

El que una sustancia se incluya en la sección A o en la B depende básicamente del conocimiento de su toxicidad y consecuentemente, del establecimiento de la ADI o TDI. La diferencia entre uno y otro concepto estriba en que la ADI se determina para aditivos e ingredientes alimentarios mientras que se habla de TDI si se trata de sustancias químicas que no deberían estar presentes en el alimento al no incorporarse intencionadamente en su composición.

¿Cómo se establecen?:

La ADI se calcula dividiendo el NOAEL (Nivel de efectos adversos no observables en los estudios de toxicidad en animales) entre un denominado 'factor de seguridad' adecuado a cada caso. Para aditivos alimentarios este factor de seguridad tiene un valor de 100. Si el NOAEL se determina en el hombre entonces se le asigna un valor de 10; si se determina en animales es de 100 (Renwick 1993). En el caso de la TDI se utilizan valores más altos para el factor de seguridad.

I.12.1.- CRITERIOS TOXICOLÓGICOS

De acuerdo con la legislación comunitaria, es necesario señalar unas directrices o criterios toxicológicos con el fin de poder fijar las restricciones (límites de migración) individuales para cada sustancia al objeto de incluirla en la lista positiva. Para ello hay que determinar la ADI o la TDI.

Este parámetro se expresa en mg/kg de peso corporal y se traduce a límites de migración específica tomando como referencia un consumidor de 60 kg de peso que se supone que ingiere diariamente el equivalente a 1 kg de alimento envasado, multiplicando la TDI por 60 se obtiene el LME en mg/Kg.

Si se quiere expresar el límite de migración específico en mg/dm^2 , se considera que 1 kg de alimento ocupa un volumen de 1 dm^3 , es decir, de un cubo con una superficie de 6 dm^2 , por tanto dividiendo el LME (mg/kg)/6 = LME (mg/dm^2).

1.12.2.- TEST TOXICOLÓGICOS REQUERIDOS

Se estableció un grupo de test que el SCF consideró suficiente (Tabla 12) para la evaluación de la toxicidad.

Se considera que un hombre (de 60 kg de peso) puede ingerir, como máximo, un kilo de comida por día y la ingesta máxima posible de sustancia para un consumidor es de 1 mg/Kg de cuerpo en un día. Los test se han diseñado considerando:

- que ésta es la exposición máxima posible,
- la necesidad de tener un conocimiento adecuado de la toxicidad y
- conocer los márgenes de toxicidad para aquellas sustancias tóxicas.

Sólo una vez hecho esto podrá decidirse si la sustancia es aceptable para ser usada como ingrediente de un material plástico destinado a entrar en contacto con alimentos.

Se ha cuestionado si realmente es necesario llevar a término todas estas pruebas - hasta ese grado- para todos aquellos compuestos que van a entrar en contacto con alimentos. La respuesta es que las ingestas potenciales de algunas sustancias, tal y como se desprende de los datos de migración, justifican el requerimiento de dichos test.

En algunos casos los LME para aquellas sustancias que forman parte de materiales que están en contacto con alimentos son del mismo rango que para algunos aditivos alimentarios. Para la mayoría de los ensayos se requieren al menos dos especies de animales. El SCF no establece especificaciones a este respecto, por lo general con una especie suele ser suficiente. Teniendo en cuenta todo lo anterior el SCF aconseja la realización completa de los test para aquellas sustancias que migren en el rango más alto.

Para aquellos monómeros incluidos en las listas 6A, 6B y 8 se procederá tal como se indica en la Tabla 12:

-Sustancias cuyo LME oscile entre 5 y 60 mg/Kg en alimentos o en FLS. Deberán realizarse todos los tests que figuran en la Tabla 12.

-Sustancias con un LME entre 0.05 y 5 mg/Kg. Sólo se exigen los estudios mínimos de toxicidad: datos de bioacumulación, 3 test de mutagenicidad y toxicidad oral a los 90 días.

La razón de que se reduzcan los test en este caso es que para niveles tan bajos de exposición, (como ocurre con iso-retinoína y dibromocloropropano) la toxicidad a largo plazo, los efectos sobre la reproducción y la teratogénesis son prácticamente imposibles. No obstante puede considerarse oportuno el test incluso para sustancias cuyos datos de toxicidad indican algún efecto teratogénico.

-Sustancias con un LME < 0.05 mg/kg. En este caso se harán solamente tres test de mutagenicidad para establecer que no existe una potencialidad genotóxica.

Monómeros de la lista 7: deberán llevarse a cabo los estudios mínimos de toxicidad para poder hacer una primera evaluación toxicológica. Estos datos no serían adecuados para establecer la TDI, aun así se propondrán las restricciones pertinentes en función de los resultados obtenidos.

Monómeros de la lista 9: aquí se distinguían tres categorías, la primera que incluye grupos de sustancias que no pueden describirse adecuadamente (éteres alquilvinílicos, ácidos alifáticos (C6-C24), nonilfenol,... Deberán describirse todos los isómeros que corresponden al nombre químico de la sustancia en cuestión con el fin de obtener datos toxicológicos globales, además se adjuntará una descripción lo más completa posible de los monómeros de partida del proceso, condiciones de síntesis y reproducibilidad del mismo así como de los otros productos originados en la síntesis. La segunda categoría se refiere a sustancias naturales o sintéticas para las que se precisan especificaciones (aceite de ricino, polímeros o copolímeros). Son también necesarios los datos del material o materiales de partida, así como los de impurezas, peso molecular medio. Es importante incluir las especificaciones que dan las Farmacopeas, la JECFA, el Código Alimentario. En la tercera categoría se engloban mezclas perfectamente definidas o no pero descritas inadecuadamente para realizar una evaluación toxicológica. Se proporcionarán todos los detalles de estas mezclas. El SCF una vez examinados los dossier decidirá qué tipo de datos adicionales se precisan (migración, toxicidad,...).

Monómeros de la lista W: Estas sustancias -no autorizadas a nivel nacional- se evaluarán y clasificarán según los mismos criterios que las ya permitidas, no obstante solamente figurarán en el borrador de las propuestas para las Directivas si pueden incluirse en la sección A.

I.13.- ESTUDIOS DE HIDRÓLISIS

El SCF los ha solicitado para las sustancias incluidas en la lista 7. (¿Qué pasa con el resto?). Se requerirán para todos aquellos compuestos que por su estructura química hay indicios de hidrólisis rápida en el alimento o en el interior del cuerpo humano convirtiéndose en productos inocuos. La hidrólisis evitará el tener que hacer otras pruebas, además ya no será preciso utilizar animales. El porcentaje de hidrólisis, sin embargo, debe ser alto, en torno al 95% o más con el objeto de asegurar la no realización del test toxicológico en el(los) compuesto(s) de partida.

Los estudios de hidrólisis han de llevarse a cabo atendiendo a las siguientes recomendaciones:

I.13.1.- PREPARACIÓN DE SIMULANTES

I.13.1.1.- LÍQUIDO SIMULANTE DE SALIVA

Se disuelven 4.2g de NaHCO_3 , 0.5g de NaCl y 0.2g de K_2CO_3 en un litro de agua destilada o de calidad equivalente. La solución tendrá un pH de aproximadamente 9.

I.13.1.2.- LÍQUIDO SIMULANTE DEL FLUIDO GÁSTRICO

HCl 0.07 M (pH = 1.15).

I.13.1.3.- LÍQUIDO SIMULANTE DEL FLUIDO INTESTINAL

Disolver 6.8 g de KH_2PO_4 en 250 mL de agua y añadir 190 mL NaOH 0.2 M y 400 mL de agua. Mezclar con 10.0 g de pancreatina y llevar a pH 7.5 con la sosa. Diluir con agua hasta 1 litro.

I.13.2.- PROCEDIMIENTO.

Los simulantes estarán en contacto con las sustancias objeto de ensayo a una temperatura de 37°C durante 1, 2 y 4 horas en agitación. La concentración medida no será más baja que la predicha en los estudios de migración como ingesta máxima. Los productos de hidrólisis y el monómero de partida se determinarán cuantitativamente.

- Etanol 15%(v/v) preparado a partir de etanol absoluto grado reactivo.
- Acetonitrilo grado HPLC (Scharlau Ref Ac 240).
- Tetrahidrofurano grado HPLC (Scharlau Ref Te 225) (Nota: el tetrahidrofurano es un irritante muy potente y debe manejarse con cuidado).
- BADGE con un grado de pureza \pm 99%, obtenido tratando el producto Epikote 828 procedente de Shell, según el método establecido por Paz *et al.* (1990) y suministrado por GAIRESA.
- Filtros. PTFE membrane, 13 mm. de diámetro, tamaño de poro 0.5 μ m (MFS Ref 13JP050AN), suministrados por Micron Analítica, S.A.
- Minicolumnas Sep-pak Plus C18 Ref 20515, suministrados por Waters (división de Millipore).
- Helio N-50, suministrado por la Sociedad Española del Oxígeno.
- Solución patrón de BADGE en tetrahidrofurano, concentración = 1.0 mg/mL. Se pesan 200 ± 0.1 mg de BADGE y se disuelven en 200 mL enrasando con tetrahidrofurano. Almacenar entre 0-5°C.
- Soluciones patrón diluidas de la anterior con una concentración final de 1.0 μ g/mL. Se pipetea 10 mL de la solución anterior en un matraz aforado de 100 mL y se enrasa con tetrahidrofurano hasta el aforo, 10 mL de esta solución se llevan a otro matraz de 100 mL enrasando con simulante. Por último se transfieren 10 mL de esta dilución a un matraz de 100 mL y se vuelve a enrasar con simulante; se obtienen así las soluciones patrón de 1.0 μ g/mL de BADGE que se almacenarán a -20°C. No exponer a temperatura ambiente más que el tiempo necesario para la calibración.

II.- PARTE EXPERIMENTAL

II.1.- DETERMINACIÓN DE BADGE EN SIMULANTES ACUOSOS DE ALIMENTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

El BADGE (Fig. 4): 2,2-Bis (4-hidroxifenil) propano-bis (2,3-epoxipropil) éter (bisfenol A diglicidil éter PM/RF N°. 13510), CAS = 1675-54-3, compuesto que se obtiene industrialmente al reaccionar el bisfenol A con la epiclorhidrina en presencia de NaOH (Fig.5), es un monómero de fórmula molecular $C_{21}H_{24}O_4$ que se emplea, entre otras muchas aplicaciones, en la fabricación de ciertos materiales plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios, como por ejemplo los recubrimientos de envases (latas de conservas) o grandes contenedores de alimentos con el fin de aumentar la inercia de las interacciones envase-alimento.

Se describen dos métodos para determinar el BADGE en los tres simulantes acuosos CEE de alimentos: agua destilada, ácido acético 3%(p/v) y etanol 15%(v/v). Ambos son adecuados para la determinación cuantitativa del BADGE en un rango de concentraciones que oscila entre 5-40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de simulante.

II.1.1.- FUNDAMENTO

El BADGE se determina por cromatografía líquida de alta resolución con un detector de fluorescencia utilizando dos programas diferentes de elución (uno corto: 7 min. y otro largo: 25 min.). La identificación se realiza de tres formas:

1°.- Obtención del espectro de emisión del BADGE a su tiempo de retención en el detector de fluorescencia y en el espectrofluorímetro.

2°.- Respuesta a los detectores UV y de FL conectados en serie.

3°.- Obtención del espectro de masas *mediante HPLC-MS*.

Para la cuantificación se utiliza el método del estándar externo.

II.1.2.- MÉTODO EN MODO ISOCRÁTICO

Lo denominaremos Método Corto

II.1.2.1.- REACTIVOS

Los reactivos y solventes serán de calidad analítica.

- Agua destilada grado HPLC.
- Ácido acético 3%(p/v) preparado a partir de ácido acético glacial grado reactivo.
- Etanol 15%(v/v) preparado a partir de etanol absoluto grado reactivo.
- Acetonitrilo grado HPLC (Scharlau Ref Ac 240).
- Tetrahidrofurano grado HPLC (Scharlau Ref Te 225) (Nota: el tetrahidrofurano es un irritante muy potente y debe manejarse con cuidado).
- BADGE con un grado de pureza \pm 99%, obtenido tratando el producto Epikote 828 procedente de Shell, según el método establecido por Paz *et al.* (1990) y suministrado por GAIRESA.
- Filtros. PTFE membrane, 13 mm. de diámetro, tamaño de poro 0.5 μ m (MFS Ref 13JP050AN), suministrados por Micron Analítica, S.A.
- Minicolumnas Sep-pak Plus C18 Ref 20515, suministrados por Waters (división de Millipore).
- Helio N-50, suministrado por la Sociedad Española del Oxígeno.
- Solución patrón de BADGE en tetrahidrofurano, concentración = 1.0 mg/mL. Se pesan 200 ± 0.1 mg de BADGE y se disuelven en 200 mL enrasando con tetrahidrofurano. Almacenar entre 0-5°C.
- Soluciones patrón diluidas de la anterior con una concentración final de 1.0 μ g/mL. Se pipetea 10 mL de la solución anterior en un matraz aforado de 100 mL y se enrasa con tetrahidrofurano hasta el aforo, 10 mL de esta solución se llevan a otro matraz de 100 mL enrasando con simulante. Por último se transfieren 10 mL de esta dilución a un matraz de 100 mL y se vuelve a enrasar con simulante; se obtienen así las soluciones patrón de 1.0 μ g/mL de BADGE que se almacenarán a -20°C. No exponer a temperatura ambiente más que el tiempo necesario para la calibración.

II.1.2.2.- INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES

Además de los aparatos ordinarios en un laboratorio de investigación, se utilizaron los siguientes:

- Cromatógrafo de líquidos (Spectra Physics) compuesto de:

Un módulo de desgasificación mediante helio, Ref A4125-010.

Una bomba en modo isocrático (P2000).

Un sistema de inyección (Rheodyne 4491) con un bucle de 50 μ L.

Un detector de fluorescencia (Perkin Elmer LS 40). Longitud de onda de excitación 225 nm., longitud de onda de emisión 305 nm. Factor de atenuación = 16. Respuesta = 4 (tiempo de respuesta = 2.8 s).

Un detector de ultravioleta (Spectra Physics UV2000). Longitud de onda 225 nm (sólo para la segunda opción de confirmación).

Un detector de masas (Fisons Instrument VG Platform). Corona a 3.05 Kilovoltios. Fragmentación de -20 voltios y focus a -27 voltios. Temperatura de la fuente 120°C y temperatura de la sonda 500°C. Multiplicador 650 voltios (sólo para la tercera opción de confirmación). El gas portador es nitrógeno.

Integrador (Spectra Physics Data Jet-CH2). Atenuación = 4.

Ordenador con software WINner/386 (entorno DESQview) conexión vía labnet para adquisición de datos y recientemente actualizado con el software WOW (Winner on Windows) v. 1.26.

- Columna: 15 cm. de longitud, 4.6 mm. de diámetro interno, empaquetada con 5 μ m Spherisorb ODS 2 de Sugelabor.

- Fase móvil: acetonitrilo:agua 65:35 (v/v). Flujo: 1 mL/min.

II.1.2.3.- MUESTRA

II.1.2.3.1.- Preparación de las muestras.

Los simulantes utilizados son: agua destilada, ácido acético 3% (p/v) y etanol 15% (v/v). Se pasa la solución de la cubeta de migración a través de un filtro.

II.1.2.3.2.- Preparación de los blancos de las muestras.

Proceder como en II.1.2.3.1., utilizando simulante en lugar de solución de migración.

II.1.2.3.3.- Preparación de los patrones de calibración.

Se pipetea 0.5, 1, 2, 3 y 4 mL de las soluciones patrón diluidas de BADGE de 1.0 µg/mL a una serie de matraces aforados de 100 mL. Enrasar con el simulante. Estas soluciones no son estables a temperatura ambiente y deben ser usadas cuanto antes.

II.1.2.3.4.- Preparación de los blancos de los patrones de calibración.

Transferir 0.02 mL de THF a un matraz aforado de 100 mL y enrasar con simulante.

II.1.2.4.- PROCEDIMIENTO.

II.1.2.4.1.- Tratamiento de la muestra.

Inyectar el blanco de la muestra filtrado en el cromatógrafo. No deben aparecer picos al tiempo de retención del BADGE (~5.3 min.).

Inyectar la muestra filtrada en el cromatógrafo y determinar el área del pico del BADGE en el cromatograma.

II.1.2.4.2.- Obtención de las rectas de calibrado.

Inyectar el blanco de los patrones de calibración. No deben aparecer picos al tiempo de retención del BADGE (~5.3 min.).

Inyectar los patrones de calibración antes mencionados (II.1.2.3.3) en el cromatógrafo y determinar para cada uno el área correspondiente al pico del BADGE en los cromatogramas respectivos. Las rectas de calibrado se obtienen representando en una gráfica las concentraciones del BADGE (µg/L) frente a las áreas de los picos correspondientes al BADGE. Se ajusta por regresión lineal (método de los mínimos cuadrados) $Y = a + b X$, donde $Y =$ área del pico y $X =$ concentración de BADGE (µg/L). Las Tablas 13 contienen los datos de calibración en los tres simulantes. Las rectas de calibrado se muestran en las Figs. 6.

II.1.2.5.- CONFIRMACIÓN

1ª Opción: La identificación del BADGE se confirma por su espectro de emisión en fluorescencia obtenido por un lado en el detector de fluorescencia y por otro en el espectrofluorímetro.

Inyectar el patrón de calibración de BADGE de 20 µg/L. En el máximo del pico del BADGE hacer un barrido de emisión desde 255 nm hasta 410 nm a una longitud de onda de excitación de 225 nm.

Inyectar la muestra filtrada y proceder como en el paso anterior.

Comparar los espectros (ver Figs. 8 y 9) observando que no existen diferencias apreciables entre ellos.

2ª Opción: La identificación del BADGE se confirma, según un criterio que hemos establecido, mediante la relación entre las áreas de los picos de los cromatogramas obtenidos por los detectores de fluorescencia y de ultravioleta (áreas A_{FL} y A_{UV} respectivamente). Calcular la relación A_{FL} / A_{UV} .

Inyectar la solución de la muestra filtrada y proceder como en el paso anterior.

La relación A_{FL} / A_{UV} de la muestra y del patrón no deberían diferir una de otra.

Los datos se presentan en la Tabla 14.

3ª Opción: Se obtiene el espectro de masas de una solución de BADGE de 20 $\mu\text{g/L}$ que ha sido concentrada en fase sólida 1000 veces haciéndola pasar a través de una minicolumna Sep-pak Plus C18.

Inyectar esta solución de 20 mg/L filtrada mediante el programa de HPLC en modo gradiente (descrito en II.1.3) a través de una bomba binaria conectada al detector de masas.

El cromatograma y espectro obtenidos aparecen representados en las Figs. 10 y 11 respectivamente.

II.1.3.- MÉTODO EN MODO GRADIENTE

Lo denominaremos Método Largo.

Se utilizan los mismos reactivos e instrumentación especificados en las secciones II.1.2.1 y II.1.2.2, teniendo en cuenta las siguientes consideraciones:

- El acetonitrilo para HPLC debe ser de grado supragradiente (Scharlau Ref Ac 331).

- En el cromatógrafo de líquidos (Spectra Physics):

La bomba (P2000) está en modo binario.

- Los solventes de la fase móvil son también acetonitrilo-agua, pero con elución en modo gradiente y según el siguiente programa:

Tiempo (min)	Acetonitrilo (%)	Agua (%)
0	30	70
2	30	70
20	80	20
23	100	0
25	100	0

Flujo: 1 mL/min. Tiempo de retención del BADGE (~17.4 min.)

Las Tablas 15 contienen los datos de calibración en los tres simulantes. Las rectas de calibrado se muestran en las Figs. 7.

II.2.- DETERMINACIÓN DE LA MIGRACIÓN DE LAS MUESTRAS

II.2.1.- FUNDAMENTO

Se ha puesto a punto un método para determinar la migración del BADGE y de sus PH (Fig. 4) en los simulantes acuosos CEE a partir de 4 tipos de formulaciones epoxídicas.

II.2.2.- MÉTODO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

II.2.2.1.- REACTIVOS E INSTRUMENTACIÓN

Se emplearon los descritos en la sección II.1.3 y además los citados a continuación:

- Latas vacías de conservas recubiertas interiormente de tres tipos (1, 2 y 3) de formulaciones epoxi.

- Discos planos de vidrio pintados por las dos caras con la formulación LAB 985 (suministrada por GAIRESA).

- Autoclave (Raype).

- Aparato manual (selladora) de hacer cierres por sertido (Somme).

II.2.2.2.- CONDICIONES DE ENSAYO

- Cubetas.

Se han diseñado dos tipos de cubetas especiales (Fig. 3) en las que se garantiza la hermeticidad y una mínima superficie de contacto entre las paredes de la cubeta y la placa objeto de ensayo (Simal Gándara *et al* 1993).

- Simulantes.

Los simulantes acuosos (Tabla 9) que deben utilizarse en los ensayos, tal y como se especifica en la Directiva 85/572/CEE, de la legislación europea son:

- agua destilada
- ácido acético al 3% (p/v)
- etanol al 15% (v/v).

- Tiempos y temperaturas.

Estas condiciones vienen especificadas en la Directiva 93/8/CEE (Tabla 10) que modifica a la 82/711/CEE. En nuestro caso particular las muestras han sido introducidas en una estufa a una temperatura de 40°C durante 10 días en el caso de la formulación LAB 985 y las otras tres formulaciones, además de este ensayo de 10 días a 40°C, se han introducido en un autoclave a 121°C durante 1/2 hora (las latas una vez tratadas con la formulación epoxi se someten a un proceso de esterilización).

II.2.2.3.- MUESTRAS: MATERIALES POLIMÉRICOS USADOS

Los recubrimientos poliméricos objeto de ensayo están constituidos el primero de ellos por una formulación de resina epoxídica destinada a recubrir grandes tanques o contenedores de alimentos. Esta formulación, denominada LAB 985, ha sido suministrada por la empresa GAIRESA, fue sintetizada a partir de BADGE y curada con m-XDA. En el proceso de síntesis intervienen otras sustancias: alcohol bencílico (para disminuir la temperatura de transición vítrea), cargas (rellenantes) para aumentar el volumen y la resistencia al agua y pigmentos para dar color. Las otras tres formulaciones se utilizan para recubrir pequeños envases de alimentos, en concreto, latas de conservas. Sus características se señalan a continuación:

Formulación 1 (Este es un tipo especial de revestimiento para aquellas latas que contienen sustancias azufradas).

Tipo: epoxi-fenólica

Endurecimiento: 15 min. a 205°C

Densidad superficial de la capa seca: 4-6 mg/m²

Formulación 2

Tipo: epoxi-fenólica

Endurecimiento: 15 min. a 205°C

Densidad superficial de la capa seca: 4-6 mg/m²

Formulación 3

Tipo: epoxi.

Endurecimiento: 15 min. a 195°C

Densidad superficial de la capa seca: 14-18 mg/m²

II.2.2.3.1.- Preparación de las muestras.

- Muestra LAB 985.

Dos placas redondas y planas de vidrio (con una superficie total de 2.7 dm²) se pintaron por una de sus caras con la resina, dejándola curar durante 24 horas a temperatura ambiente, seguidamente se hizo lo mismo con la otra cara. Posteriormente se sumergieron en la cubeta de migración, diseñada específicamente para el ensayo, con 150 mL de simulante. La relación superficie/volumen es de 1.8 dm²/100 mL de simulante, valor que no difiere significativamente del usual: 2 dm²/100 mL para los ensayos de migración.

Una vez transcurridos los 10 días, se pasan las soluciones de la cubeta de migración a través de un filtro.

- Blanco de la muestra LAB 985.

Utilizando placas de vidrio carentes de LAB 985, se procede como en el paso anterior.

- Muestras con formulaciones tipo 1, 2 y 3.

Dos o tres latas de cada tipo se rellenan con 150 mL de simulante. La relación entre la superficie interna del envase y el volumen de simulante es de 1 dm²/100 mL. Seguidamente se sellan con sus correspondientes tapas empleando la selladora manual.

Una vez sometidas las latas a las condiciones de tiempos y temperaturas descritos en la sección II.2.2.2., se practica un orificio en la tapa de cada lata y con una jeringa se extrae una porción de líquido.

El líquido se pasa a través de un filtro.

- Blancos de las muestras con formulaciones tipo 1, 2 y 3.

Se introducen los tres simulantes acuosos en sendos tubos de vidrio con cierre hermético y se someten a las condiciones especificadas en el apartado II.2.2.2.

II.2.2.4.- PROCEDIMIENTO

II.2.2.4.1. - Tratamiento de las muestras: LAB 985 y formulaciones tipo 1, 2 y 3.

Inyectar el blanco de la muestra filtrado en el cromatógrafo por los dos programas de elución propuestos (el de modo isocrático y el de modo gradiente). No deben aparecer picos a los tiempos de retención del BADGE (~5.3 min. en el modo isocrático y ~17.4 min. en el programa de modo en gradiente).

Inyectar la muestra filtrada en el cromatógrafo, también aplicando los dos programas de elución, y determinar el área del pico del BADGE (si se halla presente) en el cromatograma.

II.3.- DETERMINACIÓN DE BADGE MEDIANTE ESPECTROFLUORIMETRÍA

II.3.1.- FUNDAMENTO

Tanto el BADGE como sus PH son fluorescentes, esto nos permite desarrollar un método espectrofluorimétrico para detectarlos y cuantificarlos en dos simulantes acuosos de alimentos (agua destilada y etanol al 15%(v/v)).

II.3.2.- MÉTODO ESPECTROFLUORIMÉTRICO

II.3.2.1.- REACTIVOS

Los reactivos y solventes serán de calidad analítica.

- Agua destilada grado HPLC.

- Etanol 15%(v/v) preparado a partir de etanol absoluto grado reactivo.

- Tetrahidrofurano grado HPLC (Scharlau Ref Te 225) (Nota: el tetrahidrofurano es un irritante muy potente y debe manejarse con cuidado).

- BADGE con un grado de pureza >99%, obtenido tratando el producto Epikote 828 procedente de Shell, según el método establecido por Paz *et al.* (1990) y suministrado por GAIRESA.

- Solución patrón de BADGE en tetrahidrofurano, concentración = 1.0 mg/mL. Se pesan 200 ± 0.1 mg de BADGE y se disuelven en 200 mL enrasando con tetrahidrofurano. Almacenar entre 0-5°C.

- Soluciones patrón diluidas de la anterior con una concentración final de 1.0 µg/mL. Se pipetea 10 mL de la solución anterior en un matraz aforado de 100 mL y se enrasa con tetrahidrofurano hasta el aforo, 10 mL de esta solución se llevan a otro matraz de 100 mL enrasando con simulante. Por último se transfieren 10 mL de esta dilución a un matraz de 100 mL y se vuelve a enrasar con simulante; se obtienen así las soluciones patrón de 1.0 µg/mL de BADGE que se almacenarán a -20°C. No exponer a temperatura ambiente más que el tiempo necesario para la calibración.

II.3.2.2.- INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES

- Espectrofluorímetro de Perkin Elmer LS 50.

La velocidad de barrido es de 240 nm/min.

Rendija de excitación 2.5 nm y rendija de emisión 5 nm.

$\lambda_{ex} = 225$ nm

Barrido de emisión desde 290 nm a 400 nm

Cubetas de cuarzo de 1 cm. de espesor.

II.3.2.3.- PATRONES DE BADGE

II.3.2.3.1.- Preparación de los patrones de BADGE.

Se pipetea 0.5, 1, 2, 3 y 4 mL de las soluciones patrón diluidas de BADGE de 1.0 µg/L a una serie de matraces aforados de 100 mL. Enrasar con el simulante. Estas soluciones no son estables a temperatura ambiente y deben ser usadas cuanto antes.

II.3.2.3.2.- Preparación de los blancos de los patrones de calibración.

Transferir 0.02 mL de THF a un matraz aforado de 100 mL y enrasar con simulante.

II.3.2.4. - PROCEDIMIENTO

II.3.2.4.1. - Tratamiento de los patrones de BADGE.

Leer en el espectrofluorímetro según las condiciones establecidas, el blanco del patrón de BADGE y anotar la intensidad de fluorescencia a 303 nm.

II.3.2.4.2. - Obtención de las rectas de calibrado.

Las rectas de calibrado se obtienen representando en una gráfica las concentraciones del BADGE ($\mu\text{g/L}$) frente a las intensidades de los picos correspondientes al BADGE a 303 nm. Se ajusta por regresión lineal (método de los mínimos cuadrados) $Y = a + b X$, donde $Y =$ área del pico y $X =$ concentración de BADGE ($\mu\text{g/L}$). Las Tablas 16 contienen los datos de calibración en los dos simulantes. Las rectas de calibrado se muestran en las Figs. 12 y 13.

II.4. - DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE HIDRÓLISIS DEL BADGE MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

II.4.1. - FUNDAMENTO

Se determina la cinética de hidrólisis del BADGE caracterizando sus PH. Para ello se aplica el método (ver sección II.1.3) basado en HPLC con elución en modo gradiente y detección de fluorescencia que se ha empleado en la determinación del BADGE en simulantes de alimentos.

II.4.2. - MÉTODO EN MODO GRADIENTE

II.4.2.1. - REACTIVOS

Se emplean los mismos que se han utilizado en la sección II.1.2.1.

II.4.2.2. - INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES

Se utilizan los aparatos especificados en la sección II.1.2.2. teniendo en cuenta las consideraciones establecidas en II.1.3.

II.4.2.3. - PATRONES DE BADGE

II.4.2.3.1. - Preparación de los patrones de BADGE.

Se pipetea 4 mL de las soluciones patrón diluidas de BADGE de 1.0 µg/mL a una serie de 3 matraces aforados de 100 mL. Enrasar cada matraz con el simulante correspondiente.

II.4.2.3.2.- Preparación de los blancos de los patrones de BADGE.

Transferir 0.02 mL de THF a un matraz aforado de 100 mL y enrasar con simulante.

II.4.2.4.- PROCEDIMIENTO

II.4.2.4.1.- Tratamiento de los patrones de BADGE.

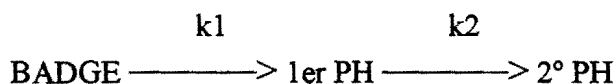
Inyectar el blanco del patrón de BADGE filtrado en el cromatógrafo. No deben aparecer picos a los tiempos de retención del BADGE (~17.4 min.) ni de sus dos PH (~ 11.7 min. y ~ 6.2 min.).

Inyectar los patrones de BADGE filtrados en el cromatógrafo inmediatamente después de su preparación. Seguidamente se introducen en la estufa a 40°C y, a intervalos regulares de tiempo (que dependen del simulante) se van extrayendo porciones de 0.5 mL y se cromatografían mediante el Método Largo. Este proceso dura aproximadamente unos 20 días.

II.4.2.4.2.- Obtención de la vida media del BADGE

Una vez inyectados los patrones de calibración del BADGE, se determinan para cada porción de 0.5 mL las áreas correspondientes a los picos del BADGE y de sus PH en los cromatogramas respectivos. En las Figs. 14, 15 y 16 se representan las áreas obtenidas frente al tiempo transcurrido desde el momento en que se introducen los patrones en la estufa.

El anillo epoxi del BADGE se abre para dar lugar a los correspondientes productos de hidrólisis (PH), cuyas estructuras se muestran en la Fig. 4, las dos reacciones consecutivas son de primer orden, tal y como se ilustra en el esquema siguiente:



La ecuación que se ajusta a la cinética de degradación es:

$$d [\text{BADGE}]/dt = k_1 [\text{BADGE}]_0$$

Asumiendo que inicialmente sólo hay BADGE a una concentración $[\text{BADGE}]_0$ la ecuación quedará:

$$[\text{BADGE}] = [\text{BADGE}]_0 \exp(-k_1 t) \quad (1)$$

donde t indica el tiempo. El valor de k_1 puede calcularse de los datos experimentales o bien mediante regresión no lineal (con el tratamiento estadístico apropiado) ajustando de forma adecuada la ecuación (1). También puede utilizarse la regresión lineal siendo la variable dependiente el $\ln [\text{BADGE}]$ y la variable independiente seguiría siendo el tiempo, la ecuación a utilizar en este caso será:

$$\ln [\text{BADGE}] = (\ln [\text{BADGE}]_0) - k_1 t \quad (2)$$

Cuando se ajusta por regresión lineal, el valor de k_1 coincide con el coeficiente de regresión. La vida media del BADGE, $t_{1/2}$, es $(\ln 2)/k_1$.

II.4.2.4.3.- Ecuaciones cinéticas de los dos productos de hidrólisis del BADGE.

Como ya hemos visto, el BADGE se desintegra a una velocidad $k_1 [\text{BADGE}]_0$:

$$d [\text{BADGE}]/dt = k_1 [\text{BADGE}]_0$$

El primer producto de hidrólisis aumenta gracias a la desintegración del BADGE, pero va disminuyendo al transformarse progresivamente en el segundo producto de hidrólisis:

$$d [1^{\text{er}} \text{PH}]/dt = k_1 [\text{BADGE}]_0 - k_2 [2^{\text{o}} \text{PH}]$$

resolviendo esta ecuación diferencial, obtenemos la siguiente expresión:

$$[1^{\text{er}} \text{PH}] = [\text{BADGE}]_0 (k_1/(k_2 - k_1)) (\exp(-k_1 t) - \exp(-k_2 t)) \quad (3)$$

El segundo producto de hidrólisis se forma al desintegrarse el primero según la ecuación:

$$d [2^{\circ} \text{PH}]/dt = k_2 [1^{\text{er}} \text{PH}]$$

Al resolver esta ecuación nos queda que:

$$[2^{\circ} \text{PH}] = [\text{BADGE}]_0 (1 - (k_2/(k_2 - k_1)) (\exp (-k_1 t)) + (k_1/(k_2 - k_1)) (\exp (-k_2 t)) \quad (4)$$

II.5.- DETERMINACIÓN DE LA FLUORESCENCIA RELATIVA DEL BADGE Y DE SUS PRODUCTOS DE HIDRÓLISIS.

II.5.1.- FUNDAMENTO

La fluorescencia del BADGE y de sus correspondientes productos de hidrólisis (PH) ya se ha medido al realizar la determinación de la cinética de degradación del BADGE, mediante el Método Largo basado en HPLC (descrito previamente). Se obtienen las áreas de fluorescencia a distintos períodos de tiempo del BADGE y de sus PH (ver Figs. 14, 15 y 16) hasta que el BADGE se degrada totalmente.

II.5.2.- MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

II.5.2.1.- REACTIVOS

Son los mismos que los utilizados en la sección II.1.2.1.

II.5.2.2.- INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES

Se utilizan los aparatos especificados en la sección II.1.2.2. teniendo en cuenta las consideraciones establecidas en 1.3.

II.5.2.3.- PATRONES DE BADGE

Se procede de la misma forma que en la sección II.4.2.3

II.5.2.4.- PROCEDIMIENTO

II.5.2.4.1.- Tratamiento de los patrones.

Ver sección II.4.2.4.1.

II.5.2.4.2.- Cálculo de las intensidades relativas de fluorescencia.

Partiendo de que: $C \times R_p = A$ (5), donde
C = concentración
R_p = respuesta (intensidad relativa de fluorescencia)
A = Área

Y como la concentración inicial de BADGE es 40 µg/L, y el peso molecular del BADGE es 340, luego:

$$C_{\text{BADGE}} + C_{1^{\text{er}}\text{PH}} + C_{2^{\circ}\text{PH}} = 40/340 \text{ (en } \mu\text{moles/L)}$$

Sustituyendo (5), obtenemos la siguiente expresión:

$$A_{\text{BADGE}} / R_{p\text{BADGE}} + A_{1^{\text{er}}\text{PH}} / R_{p1^{\text{er}}\text{PH}} + A_{2^{\circ}\text{PH}} / R_{p2^{\circ}\text{PH}} = 40/340 \text{ (6)}$$

Como se deduce de los datos tabulados en las Figs. 14, 15 y 16, a tiempo cero se cumple que:

$A_{\text{BADGE}} / R_{p\text{BADGE}} = 40/340$, de donde podemos calcular la R_{pBADGE} en los tres simulantes acuosos.

Simulante A: $60.000 / R_{p\text{BADGE}} = 40/340$

$$R_{p\text{BADGE}} = 510.000$$

Simulante B: $60.000 / R_{p\text{BADGE}} = 40/340$

$$R_{p\text{BADGE}} = 510.000$$

Simulante C: $52.000 / R_{p\text{BADGE}} = 40/340$

$$R_{p\text{BADGE}} = 442.000$$

mientras que a tiempo infinito (una vez concluido el proceso de hidrólisis), sólo queda el 2° PH:

$$A_{2^{\circ}\text{PH}} / R_{p_{2^{\circ}\text{PH}}} = C_{2^{\circ}\text{PH}} = C_{\text{final}}$$

de esta expresión podemos calcular la $R_{2^{\circ}\text{PH}}$:

Simulante A: $43.000 / R_{p_{2^{\circ}\text{PH}}} = 40/340$

$$R_{p_{2^{\circ}\text{PH}}} = 365.500$$

Simulante B: $45.500 / R_{p_{2^{\circ}\text{PH}}} = 40/340$

$$R_{p_{2^{\circ}\text{PH}}} = 510.000$$

Simulante C: $52.000 / R_{p_{2^{\circ}\text{PH}}} = 40/340$

$$R_{p_{2^{\circ}\text{PH}}} = 272.000$$

Sustituyendo estos datos en la ecuación (6) para cada simulante, podremos calcular la $R_{p_{1^{\circ}\text{PH}}}$

En la Tabla 17 figuran las intensidades de fluorescencia relativas (respuestas) para el BADGE y sus dos PH en los tres simulantes acuosos.

II.6.- DETERMINACIÓN DE NIVELES RESIDUALES DE SOLVENTES EN RESINAS EPOXI ELABORADAS CON ENDURECEDORES MANNICH

II.6.1.- FUNDAMENTO

La mayoría de los endurecedores del tipo bases de Mannich (Fig. 17) contienen fenol libre. Se propone un método para la determinación de niveles residuales de tres disolventes utilizados en el proceso de síntesis de formulaciones Mannich destinadas a ser usadas como agentes de curado de resinas epoxídicas.

Se propone un método gas-cromatográfico para determinar las cantidades libres de fenol, formaldehído y alcohol bencílico en resinas curadas con intermedios de Mannich o en la propia resina sin curar. El método es suficientemente sensible y lineal en un amplio rango de concentraciones.

6.2.- MÉTODO GAS-CROMATOGRÁFICO

6.2.1.- REACTIVOS

- Nitrógeno N-50 e Hidrógeno N-50 (suministrados por la Sociedad Española del Oxígeno).
- Aire comprimido.
- Etanol absoluto (Merck Ref 983).
- Cloroformo (Merck Ref 2431).
- Formaldehído (Analema) con una riqueza del 35.5% determinada según se describe en *Official Methods of Analysis of the A.O.A.C.*, 14th edn by Sidney Williams, Arlington, USA, 1984, 147.
- Fenol (Merck Ref 206) con una riqueza del 95.8% determinada según se describe en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 14th edn by APHA-AWWA-WPCF, USA, 1975, 578.
- Alcohol bencílico (Merck Ref 9626).
- Alcohol amílico (Merck Ref 975).
- Soluciones patrón de formaldehído, fenol y alcohol bencílico usando etanol como disolvente con una concentración final de 4mg/mL.
- Solución patrón de alcohol amílico. Se pesa 1 g de alcohol amílico y se diluye hasta 100 mL con etanol.

II.6.2.2.- INSTRUMENTACIÓN Y CONDICIONES

Además de los aparatos ordinarios en un laboratorio de investigación, se utilizaron los siguientes:

- Cromatógrafo de gases (Perkin Elmer 8700).

Detector de ionización de llama (FID), 200°C, H₂ a 82 KPa y aire a 135 KPa.

Gas portador: N₂; flujo=60 mL/min.

Temperatura del bloque de inyección: 200°C.

Programa de temperaturas: gradiente lineal durante 10 min. desde 75°C hasta 175°C, seguido de 35 min a 175°C.

Inyección: 1 µL con una jeringa Hamilton.

Ordenador personal XT con software para adquisición de datos.

- Columna de acero inoxidable con recubrimiento interno de vidrio empaquetada con 0.2% Carbowax 1500 en Carbo-pack C (80/100 tamaño de malla); dimensiones 2 m x 3.2 mm.

II.6.2.3- MUESTRA

II.6.2.3.1.- Preparación de las muestras.

Se analizaron tres endurecedores de Mannich (dos procedentes de Shering y uno suministrado por Gairesa). Se pesa 1 ± 0.0001 g de muestra en 5 mL de cloroformo, se añaden 2 mL de la solución patrón de alcohol amílico y se enrasa con etanol en un matraz aforado de 50 mL.

II.6.2.3.2.- Blancos de las muestras.

No se pudieron obtener productos de Mannich carentes de fenol, formaldehído ni alcohol bencílico.

II.6.2.3.3.- Preparación de los patrones de calibración.

Se pesan 2 ± 0.0001 g de cada sustancia patrón y se enrasa hasta 50 mL con etanol. Se toman 10 mL de cada solución y en sendos matraces aforados de 100 mL se enrasa con etanol obteniéndose 3 soluciones patrón de 4 mg/mL correspondientes al fenol, formaldehído y alcohol bencílico. De estas soluciones se pipetea 1, 3, 5, 8 y 10 mL añadiendo en cada caso 2 mL de la solución patrón de alcohol amílico y enrasando cada una con etanol hasta 50 mL.

II.6.2.3.4.- Preparación de los blancos de los patrones de calibración.

Se toman 2 mL de la solución patrón de alcohol amílico y se enrasa con etanol hasta 50 mL.

II.6.2.4.- PROCEDIMIENTO.

II.6.2.4.1.- Tratamiento de las muestras.

Inyectar cada muestra en el cromatógrafo. Determinar las áreas de cada pico en los cromatogramas.

II.6.2.4.2.- Obtención de las rectas de calibrado.

Inyectar el blanco de los patrones de calibración. No deben aparecer picos a los tiempos de retención de los patrones. Los datos de calibración se muestran en la Tabla 18.

Inyectar los patrones de calibración en el cromatógrafo y determinar para cada uno las áreas correspondientes a los picos del fenol, formaldehído, alcohol bencílico y alcohol amílico en los cromatogramas respectivos. Las rectas de calibrado se obtienen utilizando el alcohol amílico como estándar interno (IS) representando en una gráfica las concentraciones de cada patrón (mg/L) frente a la relación Área pico patrón/Área pico IS. Se ajusta por regresión lineal (método de los mínimos cuadrados) $Y = a + b X$, donde $Y =$ Relación de áreas entre cada sustancia patrón y el IS y $X =$ concentración de cada patrón (mg/L) con el coeficiente de correlación correspondiente.

II.6.2.4.3.- Evaluación de los datos.

Calcular el porcentaje de fenol, formol y alcohol bencílico en las muestras mediante la fórmula:

$$\% = ((\text{Área del pico patrón en la muestra} / \text{Área del pico del IS}) \times a + b) / 10$$

donde a y b son el término independiente y la pendiente respectivamente de las rectas de calibrado para cada patrón (ver Pérez Lamela *et al.* 1993).

III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1.- DETERMINACIÓN DE BADGE EN SIMULANTES ACUOSOS DE ALIMENTOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

Para la determinación de BADGE en los simulantes acuosos de alimentos se había propuesto un método por HPLC con detección de fluorescencia ($\lambda_{ex} = 275 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 300 \text{ nm}$) (Paseiro *et al.* 1991), la recta de calibrado abarcaba desde $20 \mu\text{g/L}$ hasta $800 \mu\text{g/L}$. El LME para el BADGE es de $20 \mu\text{g/L}$ y según las recomendaciones del BCR lo ideal sería que la calibración cubriese un rango entre 0.1 LME y 2 LME. Por eso mejoramos la sensibilidad del método propuesto modificando las condiciones de fluorescencia: $\lambda_{ex} = 225 \text{ nm}$ y $\lambda_{em} = 305 \text{ nm}$. La Fig. 8 muestra los espectros de emisión y de excitación (A y B respectivamente) obtenidos en estas condiciones con un espectrofluorímetro convencional (espesor de la cubeta 1 cm) para una solución de $40 \mu\text{g/L}$ de BADGE en acetonitrilo/agua 65:35; el espectro de excitación muestra que la sensibilidad mejora sustancialmente a 225 nm con respecto a 275 nm cuando la emisión se registra a 305 nm. La Fig. 9 muestra los resultados obtenidos al inyectar 1 mg/L de solución de BADGE en agua (B y D) y agua (A y C) en el cromatógrafo, parando el flujo al tiempo de retención del BADGE (o al mismo tiempo en el caso del blanco de agua) y grabando los espectros de excitación y emisión a $\lambda_{ex} = 225 \text{ nm}$ y $\lambda_{em} = 305 \text{ nm}$. Estos resultados coinciden perfectamente con los que se reflejan en la Fig. 8: el máximo de excitación se localiza a 225 nm (aunque este pico desaparece a concentraciones inferiores a 1 mg/L), por otro lado el máximo de emisión a 305 nm justifica la elección de esta longitud de onda.

Con el fin de disminuir al máximo el tiempo de análisis también hemos modificado el protocolo cromatográfico. De hecho, hemos desarrollado dos métodos alternativos a los que denominamos **Método Corto** (en modo isocrático) y **Método Largo** (en modo gradiente). Con éste último se separan el BADGE de sus productos de hidrólisis y del bisfenol A; la Fig. 18 muestra un cromatograma típico, mientras que con el método isocrático sólo se caracteriza el BADGE y el 1^{er} PH (Fig. 19).

III.1.1.- CALIBRACIÓN

Para cada simulante se han preparado dos series diferentes de patrones de calibrado inyectándose cada uno por triplicado. Los detalles del cálculo de la recta de calibrado se muestran en las Tablas 13(Método Corto) y 15(Método Largo), contienen los datos de las dos series. Los resultados de la regresión y las gráficas con las rectas de calibrado correspondientes están representados en las Figs. 6 y 7 (aparecen las dos

series, donde vemos que las rectas de calibración están comprendidas dentro del 95% de los límites de confianza). En las Figs. 20 y 21 podemos ver los cromatogramas típicos para 20 $\mu\text{g/L}$ de soluciones del BADGE por el Método Corto y por el Método Largo respectivamente.

Los coeficientes de correlación obtenidos son en todos los casos > 0.997 , los límites de detección (LDI) más pequeños que 3 μg de BADGE/L y los errores estándar $Sr(x)$ son inferiores a 1.5 μg de BADGE/L. Aunque las pendientes de las rectas deberían ser similares, en el caso del etanol al 15%(v/v) son más pequeñas; esta anomalía para la que no podemos dar una explicación convincente, fue confirmada repetidas veces.

Para corroborar el cálculo efectivo de los LDI calculados con las rectas de calibrado, se inyectó por triplicado una solución de 1.5 $\mu\text{g/L}$ de BADGE. En todos los casos la relación señal-ruido para el pico del BADGE es de 6. El ruido se midió como la máxima amplitud en un cromatograma de un blanco entre 4.8 y 5.8 min. (Método Corto, isocrático) o entre 16.9 y 17.9 min. (Método Largo, en gradiente). Este criterio para el ruido es mucho más estricto y más simple que su cálculo como tres veces la desviación estándar de la media del blanco (ACS 1980). La relación señal-ruido se observa perfectamente en los cromatogramas de la Fig. 22.

Se ha comprobado que la linealidad de las rectas se mantiene para valores mayores que 40 $\mu\text{g/L}$ hasta aproximadamente 125 (μg de BADGE)/L de simulante, concentración a partir de la cual el detector de fluorescencia se satura.

III.1.2. - PRECISIÓN INTRALABORATORIO

Se han preparado para cada simulante 6 soluciones de 20 $\mu\text{g/L}$ (concentración que coincide con el LME para el BADGE) tal como se describe en la sección II.1.2.1. Estas soluciones y sus correspondientes blancos se procesaron como se indica en II.1.2.3. y en II.1.2.4. y se inyectaron en el cromatógrafo por duplicado. En la Tabla 19 se muestran los resultados de los porcentajes de recuperación para los Métodos Corto y Largo.

Las recuperaciones alcanzadas son mayores del 89% en los tres simulantes acuosos, con desviaciones estándar inferiores al 6%.

Los cromatogramas de los blancos son muy similares a los obtenidos durante la calibración.

III.1.3.- CONFIRMACIÓN

1ª Opción: La identificación del BADGE se confirma mediante el espectro de fluorescencia (ver la sección II.1.2.5.). En la Fig. 9 aparecen los espectros de emisión de una solución de BADGE de 1 mg/L (B) y de su blanco respectivo (A).

2ª Opción: En este caso la identificación del BADGE se confirma por la relación de las áreas de los picos resultantes de la detección por fluorescencia y ultravioleta (A_{FL} / A_{UV}). El detector ultravioleta se conectó en serie al de fluorescencia. Se inyectaron por triplicado tres soluciones patrón de BADGE de 20, 30 y 40 $\mu\text{g/L}$. Los cromatogramas UV obtenidos por el Método Corto de HPLC para la primera solución en los tres simulantes, están representados en las Figs. 23. En la Tabla 14 se engloban los datos obtenidos para esta opción de confirmación.

La media de la relación A_{FL} / A_{UV} es de 3.0 y la desviación estándar menor que 0.1 para el método isocrático y que 0.5 para el método en gradiente. Esta relación es sólo válida para concentraciones 1-2 veces mayores que el LME ya que el detector UV a 225 nm no tiene sensibilidad suficiente. La desviación estándar es mayor en el Método Largo debido a que la elución en gradiente con acetonitrilo/agua provoca derivas en la línea base reduciéndose así la precisión con que se mide el área del pico del BADGE.

3ª Opción: Es la tercera y última y se realiza mediante HPLC-MS, se obtiene así el espectro de masas del BADGE.

Comparación:

La primera opción es más sencilla pero por otro lado está más sujeta a error. Con la elución modo isocrático (Método Corto) ya vimos (Fig. 19) que la separación del BADGE no es tan nítida (se confunde con el bisfenol A y con los productos de hidrólisis), optaremos por la elución en modo gradiente (Método Largo).

La segunda opción -más complicada- es, no obstante, más fiable y se adapta mejor a las recomendaciones dadas en DIN ISO 5725. Sin embargo hay que tener presente que si la relación A_{FL} / A_{UV} es distinta de 3.0 esto no significa en absoluto que no haya BADGE, pues junto con él puede haber otras sustancias. Teniendo en cuenta esta apreciación creemos que la segunda opción de confirmación empleando el Método Largo es más adecuada.

En cuanto a la tercera opción, opinamos que con ella aseguramos de forma definitiva la presencia de BADGE o de sus PH.

III.1.4.- ESTABILIDAD DE LAS SOLUCIONES PATRÓN

Las soluciones patrón de BADGE de 1 mg/mL en THF se almacenaron durante tres meses a -20°C, 0-5°C y a temperatura ambiente. Se inyectaron, después de diluir con agua destilada, (según se explica en la sección II.1.2.4.1. en las condiciones especificadas en II.1.2.2.) sendas soluciones de 40 µg/L y no se observaron cambios a -20°C ni a 0-5°C. Se recomienda almacenar las soluciones patrón a 0-5°C.

III.2.- DETERMINACIÓN DE LA MIGRACIÓN DE LAS MUESTRAS

III.2.1.- MIGRACIÓN DEL POLÍMERO (TRAS 10 DÍAS A 40°C)

Los ensayos de migración se realizaron por triplicado con la muestra polimérica LAB 985. En las cubetas de migración, junto con las placas pintadas de resina epoxi se introdujeron los FLS y se sometieron a 40°C durante 10 días, posteriormente se determinó el BADGE en las soluciones de migración inyectadas por duplicado. Simultáneamente se prepararon los blancos correspondientes: el mismo volumen de FLS almacenados 10 días a 40°C. Los resultados para ambos métodos se recopilan en la Tabla 20. No se detectaron niveles de BADGE superiores al LDI. No obstante aparecen otros picos (que no son BADGE), la migración para ellos es menor en el agua destilada que en el ácido acético al 3% (p/v) y en el etanol al 15% (v/v). El pico que eluye a 3.94 min. por el Método Largo es probablemente alcohol bencílico y el que sale a 6.71 min es el segundo producto de hidrólisis del BADGE, un cromatograma típico se muestra en la Fig. 24. Los resultados obtenidos para los blancos son muy similares a los obtenidos al realizar la precisión. Para las formulaciones 1, 2 y 3 los resultados de la migración del BADGE se pueden ver en la Tabla 27. La migración de compuestos que no son BADGE es mayor a 121°C que a 40°C, siendo la formulación 2 la que presenta más cantidad y el etanol al 15%(v/v) el simulante que solubiliza más migrantes.

III.2.2.- MIGRACIÓN DE LA SOLUCIÓN SOBRECARGADA (10 DÍAS A 40°C)

Una vez que se comprobó que la migración del BADGE era inferior al LDI, se procedió a sobrecargar las soluciones de migración (sometidas a 40°C durante 10 días en contacto con el polímero LAB 985) con 20 µg de BADGE/L de solución de migración. El procedimiento usado fue exactamente igual al empleado en la calibración utilizando para diluir la solución de migración. La Tabla 21 muestra los resultados encontrados. Las

recuperaciones son aceptables: mayores del 87%, aunque las desviaciones estándar son ligeramente altas (inferiores al 14%).

III.2.3.- SIMULANTE SOBRECARGADO Y POSTERIORMENTE ALMACENADO 10 DÍAS A 40°C

Se estudió la estabilidad del BADGE en los FLS almacenando durante 10 días una solución de BADGE de 20 µg/L, sometiéndola a 40°C. Los resultados obtenidos figuran en la Tabla 22. En ninguno de los tres FLS acuosos se detectó BADGE a una concentración mayor que el LDI. Los porcentajes de recuperación fueron inferiores al 5%. El pico que eluye a 6.02 min. por el Método Largo es el segundo producto de hidrólisis del BADGE.

III.3.- DETERMINACIÓN DE BADGE MEDIANTE ESPECTROFLUORIMETRÍA

La espectrofluorimetría se propone como método alternativo para cuantificar BADGE debido a su sencillez y rapidez en la realización. Sólo se han empleado dos simulantes: agua destilada y etanol al 15%(v/v) debido a que el BADGE en ácido acético al 3%(p/v) no da señal fluorimétrica a los niveles de calibración escogidos (utilizando las mismas condiciones especificadas en la sección II.3.2.2. de la parte experimental). En la Fig. 25 podemos ver que la intensidad de fluorescencia es mucho más pequeña para una solución de 1 mg/L de BADGE en ácido acético 3%(p/v) que para otra de la misma concentración en agua destilada.

III.3.1.- CALIBRACIÓN

Para los dos simulantes se han preparado una serie de patrones de calibrado. Los detalles del cálculo de la recta de calibrado se muestran en las Tablas 16 (datos en agua destilada y en etanol 15%(v/v)). Los resultados de la regresión y las gráficas con las rectas de calibrado correspondientes están representados en las Figs. 12 y 13. En las Figs. 26 podemos ver los espectros de emisión correspondientes a las dos escalas patrón del BADGE en agua destilada (Fig. 26a) y en etanol 15%(v/v) (Fig. 26b).

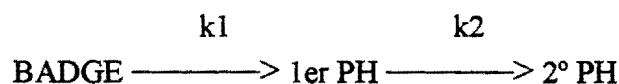
Los coeficientes de correlación obtenidos son: para el agua destilada 0.995 y para el etanol 15%(v/v) 0.998, los límites de detección (LDI): 7.1 y 4.1 3 µg de BADGE/L respectivamente y los errores estándar $Sr(x)$ son inferiores a 1.7 µg de BADGE/L.

Se ha leído cada muestra y sus blancos correspondientes por triplicado en el espectrofluorímetro. Las intensidades obtenidas y sus desviaciones estándar figuran en las Tablas 23.

III.4.- CINÉTICA DE HIDRÓLISIS DEL BADGE

Una vez obtenidos y analizados todos los resultados, podemos afirmar que el BADGE no es estable, al menos a temperatura ambiente, en los FLS acuosos. Grassie *et al* (1985) estudiaron la estabilidad y degradación térmica del BADGE y descubrieron que durante el curado se originan muchos productos (acetona, acroleína, alcohol alílico). Aunque este estudio al haberse hecho a temperaturas muy altas, no es comparable al aquí realizado.

Lo que ocurre es que el anillo epoxi se abre para dar lugar a los correspondientes productos de hidrólisis (PH) (Fig 4) como ya se había ilustrado anteriormente:



Para obtener los datos que permiten caracterizar la cinética de hidrólisis del BADGE se utilizaron soluciones patrón de BADGE en los tres simulantes acuosos a una concentración de 40 µg/L (estas soluciones fueron preparadas de forma análoga a los patrones de calibración, usando en la última dilución simulante previamente atemperado a 40 °C); seguidamente se almacenaron en una estufa a 40°C. Inmediatamente después de la preparación de los simulantes sobrecargados y posteriormente, durante unos 20 días (tiempo al que se completa la degradación del BADGE) se tomaron alicuotas de 0.5 mL y se analizaron (los intervalos de toma de muestra dependen del simulante). Se cromatografiaron por el Método Largo ya que el Método Corto no permite distinguir bien el BADGE de sus productos de hidrólisis. Los resultados analíticos y las curvas de la cinética de degradación se observan en las Figs. 13, 14 y 15, los datos correspondientes al BADGE figuran en negrita; no se tuvieron en cuenta las concentraciones de BADGE de 0 µg/L u otro valor inferior para la ecuación (2), aunque sí podrían usarse con la ecuación (1) empleando un ajuste de regresión no lineal; el valor de k_1 así calculado sería ligeramente distinto. Los resultados obtenidos utilizando la ecuación (2) y las gráficas correspondientes aparecen en las Figs. 27, 28 y 29, y las vidas medias del BADGE se muestran en la Tabla 24. Se registraron cromatogramas próximos

al tiempo de vida media del BADGE (ver Fig. 30). En cuanto a las constantes de velocidad Paseiro *et al.* en 1992 y 1993 ya las habían determinado para los tres FLS acuosos sin considerar las intensidades de fluorescencia relativas del BADGE y de sus PH mediante un análisis de regresión no lineal con el paquete estadístico SPSS/PC. Se comprobó que las constantes calculadas, considerando esas intensidades de fluorescencia relativas, aplicando el mismo programa estadístico son aproximadamente iguales si no tenemos en cuenta la diferencia en las respuestas y ligeramente más bajas si las consideramos para el cálculo, en tanto que las k_1 obtenidas mediante la fórmula (2) son prácticamente iguales (ver Tabla 25).

En el ácido acético al 3%(p/v) la única sustancia que queda transcurridos 10 días es el segundo PH, mientras que en agua destilada y en etanol al 15%(v/v) se detectan los dos PH, el BADGE remanente es prácticamente no cuantificable y, en cualquier caso, inferior al 3% de la concentración inicial (40 $\mu\text{g/L}$). La vida media en etanol al 15% es menor que la vida media en agua destilada que, a su vez, es menor que la vida media en ácido acético al 3%(p/v). Las vidas medias son inferiores a otras publicadas anteriormente (Paseiro *et al.* 1993) debido a que se han considerado diferentes criterios a la hora de evaluar y realizar los cálculos: en un trabajo preliminar la concentración del BADGE se calculó refiriéndola a la concentración inicial, multiplicando el área del pico del BADGE y dividiéndola entre la suma de las áreas de los picos del BADGE y de sus PH; ahora sabemos que la fluorescencia de los PH es menos intensa que la del BADGE, por lo tanto antes sobrestimamos la concentración del BADGE.

III.5.- FLUORESCENCIA RELATIVA DEL BADGE Y DE SUS PRODUCTOS DE HIDRÓLISIS.

La intensidad de fluorescencia del BADGE (ver Tabla 17) es más alta que la de los dos productos de hidrólisis en los tres simulantes acuosos (entre aproximadamente un 30-25% mayor); quizás pueda ser debido a que la intensidad de fluorescencia aumenta por planaridad molecular y ésta, a su vez, viene a menudo establecida por la rigidez molecular. La molécula de BADGE presenta una estructura molecular más rígida que la de sus correspondientes PH.

Las diferencias existentes en los tres simulantes no son significativas, sólo apuntar que tanto en agua destilada como en ácido acético 3%(p/v) las respuestas de los dos PH son muy similares entre sí (un 6% más altas en este último) mientras que en etanol al

15%(v/v) hay casi un 20% de porcentaje de respuesta mayor para el primer PH que para el segundo.

III.6.- DETERMINACIÓN DE NIVELES RESIDUALES DE SOLVENTES EN RESINAS EPOXI ELABORADAS CON ENDURECEDORES DE MANNICH

Basándonos en los puntos de ebullición relativamente bajos de los tres compuestos objeto de análisis: fenol, formol y alcohol bencílico, consideramos que el desarrollo de un método gas-cromatográfico para detectarlos conjuntamente era la forma de operar más idónea para su cuantificación.

III.6.1.- CALIBRACIÓN Y PRECISIÓN DE LA MEDIDA

Se prepararon cinco patrones de calibración inyectando cada uno por triplicado. Los parámetros de las rectas de calibrado y los resultados de regresión se muestran en la Tabla 18. En la Fig. 31 se muestra un cromatograma típico donde se separan los tres solventes.

Los coeficientes de correlación obtenidos son > 0.99 , los límites de detección (LDI) oscilan entre 18 y 50 mg/L y los índices de error son inferiores al 3.95 %.

Tanto los límites de detección como los de cuantificación se han calculado considerando los criterios que sigue la ACS (ACS 1980).

III.6.2.- MUESTRAS

Los niveles residuales de fenol, formol y alcohol bencílico en las tres muestras analizadas figuran en la Tabla 26. Los valores más altos corresponden al 2º producto de Shering con un 20% de alcohol bencílico libre y a la muestra LAB-958 con casi un 11% de fenol libre.

III.- CONCLUSIONES

1.- La legislación vigente de la UE en lo que respecta a la migración de monómeros de materiales plásticos en contacto con alimentos presenta algunas incongruencias:

- si no hay métodos analíticos adecuados para cuantificar un monómero al nivel del LME, ¿tiene sentido establecer éste?

- si el monómero se ha degradado y lo que migra es otro compuesto ¿se le atribuye el mismo LME que a la sustancia de partida?

-la migración global se determina por gravimetría (Directiva 90/128/CEE), si algún componente es volátil esta determinación no tendría validez.

2.- Tanto el Método Corto (duración de 7 minutos y separación cromatográfica mediante elución isocrática) como el Método Largo propuestos (duración de 25 minutos y separación cromatográfica mediante elución en gradiente) son adecuados para la determinación cuantitativa de BADGE en los tres simulantes acuosos. Sus características analíticas, tal y como se refleja en la Tabla 28: sensibilidad ($LDI \leq 3.8 \mu\text{g/L}$), linealidad ($R \geq 0.996$), repetibilidad ($Sr(x) \leq 1.1$), y recuperación (ver Tabla 19, donde $\%Rec. \geq 89.0$) son bastante buenas, y además nos permiten separar el BADGE de otras sustancias que no son BADGE y que también son susceptibles de migrar de los recubrimientos epoxídicos de latas de conservas alimenticias. Con el Método Largo se consigue una mejor separación entre el BADGE y otros posibles migrantes, también aísla el BADGE de sus PH y podemos asegurar que está sujeto a menos interferencias en muestras reales. Su inconveniente es que al ser un método tan sensible no todos los acetonitrilos disponibles en el mercado proporcionan un cromatograma blanco satisfactorio (al principio hemos tenido serios problemas de interferencias). El Método Corto es mucho más simple, su puesta a punto y desarrollo son bastante más sencillos, pero no separa tan bien el BADGE de otros migrantes.

3.- Se ha mejorado la sensibilidad del método establecido anteriormente para determinar BADGE por HPLC (Paseiro *et al.* 1991) modificando las condiciones de fluorescencia: $\lambda_{ex} = 225 \text{ nm}$ y $\lambda_{em} = 305 \text{ nm}$. Esto supone que no es necesario concentrar en fase sólida mediante columnas Sep-Pak C18 para detectar BADGE al nivel del LME.

4.- El BADGE es inestable en los simulantes acuosos bajo las condiciones establecidas para los ensayos de migración (10 días a 40°C). Se degrada rápidamente, abriéndose primero uno y luego el otro anillo oxirano formándose así los dos productos de hidrólisis respectivos. Esto supone que el BADGE liberado por los revestimientos de resina epoxi durante los primeros días del test no será detectado. A menos que se cuantifiquen junto con él los productos de hidrólisis, el método establecido con el que se evalúa su

migración no podemos considerarlo válido para el control de calidad de los recubrimientos elaborados a base de BADGE.

5.- Con ambos métodos se puede determinar la migración del BADGE y de sus dos PH (para estos dos productos sólo es válido el Método Largo) en muestras reales de materiales poliméricos destinados para recubrir latas o bien grandes contenedores de alimentos.

6.- Los materiales testados (LAB 985, formulaciones tipo 1, 2 y 3) en ningún caso superan, una vez realizados los ensayos de migración, el LME establecido para el BADGE.

7.- El método espectrofluorimétrico es una alternativa para cuantificar BADGE de una forma más rápida y sencilla, aunque ya hemos visto que no es posible para el FLS ácido acético. Sirve también para testar si una solución de BADGE se ha degradado, pues si ocurriese así observaríamos una disminución de la intensidad de fluorescencia.

8.- Con el modelo cinético propuesto para la hidrólisis del BADGE se corrobora que en el cálculo de la constante de velocidad no influyen las diferencias existentes en las intensidades de fluorescencia relativas.

9.- Se ha puesto a punto un método gas-cromatográfico para realizar un control de calidad de las formulaciones Mannich con el fin de cuantificar los niveles libres de solventes en estos productos. Interesa que estos niveles sean lo más bajos posibles por tratarse de sustancias tóxicas.

10.- Es importante señalar que algunos revestimientos epoxi sintetizados con BADGE liberan compuestos desconocidos que ni son BADGE ni tampoco se trata de sus PH. Considerando que la fluorescencia relativa de estos productos es similar a la del BADGE, la cantidad migrada de estos productos sin identificar puede superar el LME del BADGE (20 $\mu\text{g/L}$). Estos compuestos están presumiblemente relacionados con las sustancias de partida empleadas en la síntesis de las formulaciones epoxi o bien con sus productos de hidrólisis. Asumiendo que su estructura química es similar a la del BADGE o a la de sus PH, la toxicidad que presentan no debe ser mayor que la de estos productos. Aunque los objetivos propuestos en este trabajo se apartan de la problemática ahora planteada, las autoridades encargadas de vigilar la Salud Pública deberían tenerla en cuenta financiando estudios encaminados tanto a identificar estos componentes como a estudiar su toxicidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACS Subcommittee on Environmental Analytical Chemistry, (1980), "Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry" *Analytical Chemistry*, 52, 2242-2249.

Adcock, L.H. y Hope, W.G. (1970), "A Method for the Determination of Tin in the Range 0.2 to 1.6 μg , and its Application to the Determination of Organotin Stabiliser in Certain Foodstuffs", *Analyst*, 95, 868-874.

Ashby, R. (1994), "The development of European standard (CEN) methods in support of European Directives for plastics materials and articles intended to come into contact with foodstuffs", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 161-168.

Baner, A.; Bieber, W.; Figge, K.; Franz, R. y Piringer, O. (1992), "Alternative fatty food simulants for migration testing of polymeric food contact materials", *Food Additives and Contaminants*, 9(2), 137-148.

Baner, A.L.; Franz, R. y Piringer, O. (1994), "Alternative Methods for the Determination and Evaluation of Migration Potential from Polymeric Food Contact Materials", *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 90(5), 137-143.

Barkby, C.T. y Lawson, G. (1993), "Analysis of migrants from nylon 6 packaging films into boiling water", *Food Additives and Contaminants*, 10(5), 541-553.

Barlow, S.M. (1994), "The role of the Scientific Committee for Food in evaluating plastics for packaging", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 249-259.

Barth, Howard G. y Boyes, Barry E. (1990), "Size Exclusion Chromatography", *Analytical Chemistry*, 62(12), 381R-394R.

Baumgartner, E. (1972), "La migration globale dans les denrées alimentaires grasses", *Ann Ist. Super. Sanità*, 8, 395-409.

Begley, T.H., Dennison, J.L. y Hollifield, H.C. (1990a), "Migration into food polyethylene terephthalate (PET) cyclic oligomers from PET microwave susceptor packaging", *Food Additives and Contaminants*, 7(6), 797-803.

Begley, Timothy H.; Biles, John E. y Hollifield, Henry (1991), "Migration of an epoxy adhesive compound into a food-simulating liquid and food microwave susceptor packaging", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 1944-1945.

Begley, Timothy H. y Hollifield, Henry (1990b), High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Migrating Poly(ethylene terephthalate) Oligomers in Corn Oil", *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 38, 145-148.

Begley, Timothy H. y Hollifield, Henry C. (1990c), "Migration of Dibenzoate Plasticizers and Polyethylene Terephthalate Cyclic Oligomers from Microwave Susceptor Packaging into Food-Simulating Liquids and Food", *Journal of Food Protection*, 53 (12), 1062-1066.

Begley, Timothy H. y Hollifield, Henry C. (1993), "Recycled Polymers in Food Packaging: Migration Considerations", *Food Technology*, 47(11), 109-112.

Bell, J.R. (1982), "Some aspects of the control of plastics food packaging in the UK", *Food Chemistry*, 8, 157-168.

Benfenati, E.; Natangelo, M.; Davoli, E. y Fanelli, R. (1991), "Migration of Vinyl chloride into PVC-bottled drinking-water assessed by Gas-Chromatography-Mass Spectrometry", *Food Chem. Toxicol.*, 29 (2), 131-134.

Berges, Pedro (1994), "El embalaje flexible en España", *Perspectives*, nº de Septiembre y Octubre, 45 y 47.

Bieber, W.-D.; Figge, K. y Koch, J. (1985), "Interaction between plastics packaging materials and foodstuffs with different fat content and fat release properties", *Food Additives and Contaminants*, 2(2), 113-124.

Bieber, W.-D.; Freytag, W.; Figge, K.; vom Bruck, C.G. y Rossi, L. (1984), "Transfer of additives from plastics materials into foodstuffs and into food simulants-A comparison", *Food Chem. Toxicol.*, 22(9), 737-742.

Bothwell, G. y Chacón Marín, F. (Mayo 1992), "La visión sobre los Envases y Medio Ambiente desde la perspectiva de COCA-COLA", *Alimentaria*, 67-69.

Bourges, F.; Bureau, G. y Pascat, B. (1993), "Effects of electron beam irradiation on the migration of antioxidants and their degradation products from commercial polypropylene into food simulating liquids", *Food Additives and Contaminants*, 10(4), 443-452.

Breitigam, W.V. y Ubrich, W.P. (1990), "High Performance Epoxy Resin Systems for Pultrusion", *35th International SAMPE Symposium* April 2-5, pp 296-809.

Brown, David (1993), "Plastics packaging of food products: the environmental dimension", *Trends in Food Science & Technology*, 4, 294-300.

Bush, Jane; Gilbert, John y Goenaga, Xabier (1993) "Spectra for the Identification of Monomers in Food Packaging". *Kluwer Academic Publishers*. Dordrecht/Boston/London.

Calmet Fontané, Jorge (1989), "Últimos avances en el control de calidad de pinturas", *Pinturas y acabados industriales*, 31(176), 71-74.

Castle, L.; Hedgcock, S.E.; Kwiatkowska, C.A.; Sharman, M. e Smith, I.D. (1992), "An improved olive oil overall migration test for plastics using Karl Fischer titration", *Food Additives and Contaminants*, 9(1), 11-17.

Castle, Laurence; Kelly, Mitchell y Gilbert, John (1993a), "Migration of mineral hydrocarbons into foods. 2. Polystyrene, ABS, and waxed paperboard containers for dairy products", *Food Additives and Contaminants*, 10(2), 167-174.

Castle, Laurence; Mayo, Alan; Crews, Colin y Gilbert, John (1989), "Migration of Poly(ethylene terephthalate) (PET) Oligomers from PET Plastics into Bottled Beverages", *Journal of Food Protection*, 52(5), 337-342.

Castle, Laurence; Kelly, Mitchel y Gilbert, John (1991), "Migration of mineral hydrocarbons into foods. 1. Polystyrene containers for hot and cold beverages", *Food Additives and Contaminants*, 8(6), 693-700.

Castle, Laurence; Kelly, Mitchel y John Gilbert (1993b), "Migration of mineral hydrocarbons into foods. 3. Cheese coatings and temporary casings for skinless sausages", *Food Additives and Contaminants*, 10(2), 175-184.

Castle, Laurence; Nichol, Janet y Gilbert, John (1994a), "Migration of mineral hydrocarbons into foods. 4. Waxed paper for packaging dry goods including bread, confectionery and for domestic use including microwave cooking", *Food Additives and Contaminants*, 11(1), 79-89.

Castle, Laurence; Jickells, Sue M.; Sharman, M.; Gramshaw, J.W. y Gilbert, John (1988a), "Migration of the Plasticizer Acetyltributyl Citrate from Plastic Film into Foods during Microwave Cooking and Other Domestic Use", *Journal of Food Protection*, 51(12), 916-919.

Castle, Laurence; Mercer, Angela J. y Gilbert, John (1988b), "Migration from plasticized films into foods. 4. Use of polymeric plasticizers and lower levels of di-(2-ethylhexyl)adipate plasticizer in PVC films to reduce migration into foods", *Food Additives and Contaminants*, 5(3), 277-282.

Castle, Laurence; Mercer, Angela J. y Gilbert, John (1988c), "Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Determination of Adipate-Based Polymeric Plasticizers in Foods", *Journal of the A.O.A.C.*, 71(2), 394-396.

Castle, Laurence; Nichol, Janet y Gilbert, John (1993c), "Migration from plasticized films into foods. 6. Hydrolysis of polymeric plasticizers under simulated gastric and intestinal conditions", *Food Additives and Contaminants*, 10(5), 523-529.

Castle, Laurence; Honeybone, Christina A.; Jickells, Sue M.; Philo, Mark R. y Sharman, Matthew (1994b), "Practical aspects of testing food contact materials for migration", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 177-185.

Chiantore, Oscar (1990), "Column liquid chromatography in polymer degradation studies", *Journal of Liquid Chromatography*, 13(15), 2957-2972.

Cole, K.C.; Lehto, C. y Yuhasz, M. (1986), "Detection of mould release agent contamination on the surface of epoxy-based composites by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy". Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering, *SPIE Vol. 665, Optical Techniques for Industrial Inspection*, 243-251.

Cole, K.C.; Noël, D. y Hechler, J.-J. (1988a), "Applications of Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared spectroscopy to Fiber-Reinforced Composites", *Polymer Composites*, 9(6), 395-403.

Cole, K.C.; Pilon, A.; Noël, D.; Hechler, J.-J.; Chouliotis A.; y Overbury, K.C. (1988b), "Comparison of Infrared Spectroscopic Methods for the Quantitative Analysis of Epoxy Resins Used in Carbon-Epoxy Composite Materials", *Applied Spectroscopy*, 42(5), 761-769.

Commission of the European Communities, *Practical Guide N.1. A Practical Guide for users of EEC Directives on materials and articles intended to come into contact with foodstuffs*. Document CS/PM/2024, Brussels, 04/04/93.

Commission of the European Communities, Synoptic Document N.6. *Draft of provisional list of monomers and additives used in the manufacture of plastics and coatings intended to come into contact with foodstuffs*. Document CS/PM/2064, Brussels, 04/04/93.

Crathorne, B.; Palmer, C.P. y Stanley, J.A. (1986), "High-performance liquid chromatographic determination of bisphenol A diglycidyl ether and bisphenol F diglycidyl ether in water", *Journal of Chromatography*, 360, 266-270.

Crosby, N.T. (1981) "Food Packaging Materials Aspects of analysis and Migration of Contaminants". Applied science publishers LTD. London.

Dark, W.A.; Conrad, E.C. y Crossman, L.W. Jr. (1974), "Liquid Chromatographic analysis of epoxy resins", *Journal of Chromatography*, 91, 247-260.

de Kruijf, N.; Rijk, M.A.H.; Soetardhi, L.A. y Rossi, L. (1983), "Selection and application of a new volatile solvent as a fatty food simulant for determining the global migration of constituents of plastics materials", *Food Chem. Toxicol.*, 21(2), 187-191.

de Kruijf, N. y Rijk, M.A.H. (1988), "Iso-octane as a fatty food simulant: possibilities and limitations", *Food Additives and Contaminants*, 5(1), 467-483.

de Kruijf, Nico y Rijk, Rinus (1994), "Test methods to simulate high-temperature exposure", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 197-220.

Derache, R. (1990) "Toxicología y Seguridad de los Alimentos", Ediciones Omega. Barcelona.

Diachenko, Gregory W.; Breder, Charles V.; Brown, Margaret E. y Dennison, J. Lawrence (1977), "Gas-Liquid Chromatographic Headspace Technique for Determination of Vinyl Chloride in Oil and Three Food-Simulating Solvents", *Journal of the A.O.A.C.*, 60(3), 570-575.

DIRECTIVA DEL CONSEJO 76/893/CEE, de 23 de Noviembre de 1976, sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados Miembros con respecto a materiales y artículos destinados a entrar en contacto con alimentos. (DO nº L340 del 9.12.76).

DIRECTIVA DEL CONSEJO 78/142/CEE, de 30 de Enero de 1978, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros sobre materiales y objetos que contengan cloruro de vinilo monómero, destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 44 del 15.2.78).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 80/590/CEE, de 9 de Junio de 1980, relativa a la determinación del símbolo que puede acompañar a los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 151 del 19.6.80).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 80/766/CEE, de 8 de Julio de 1980, que se refiere también al cloruro de vinilo: determinación en el producto acabado.(DO nº L 213 del 16.8.80)

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 81/432/CEE, de 29 de Abril de 1981, trata igualmente del cloruro de vinilo: método comunitario de análisis para el control oficial del cloruro de vinilo cedido por los materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios. (DO nº L 67 del 24.6.81).

DIRECTIVA DEL CONSEJO 82/711/CEE, de 18 de Octubre de 1982, por la que se establecen las normas de base para realizar los test de migración de los constituyentes de los materiales y objetos de materia plástica destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 297 del 23.10.82).

DIRECTIVA DEL CONSEJO 85/572/CEE, de 19 de Diciembre de 1985, que incluye la lista de simulantes a utilizar en los ensayos de migración de los componentes de los materiales y objetos de materia plástica destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 372 del 31.12.85).

DIRECTIVA DEL CONSEJO 89/109/CEE, de 21 de Diciembre de 1988, que amplía y modifica la primera Directiva referida a la aproximación de la legislación de los Estados Miembros para materiales y artículos en contacto con alimentos (DO L40 del 11.2.89).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 90/128/CEE, de 23 de Febrero de 1990, relativa a los materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios (DO nº L 75 del 23.2.90).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 92/39/CEE, de 14 de Mayo de 1992, es la primera enmienda a la Directiva anterior (DO nº L 168 del 15.5.92).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 93/8/CEE, de 15 de Marzo de 1993, es la primera enmienda a la Directiva 82/711 (DO nº L 90 del 15.3.93).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 93/9/CEE, de 15 de Marzo de 1993, es la segunda enmienda a la Directiva 90/128 (DO nº L 90 del 14.4.93).

DIRECTIVA DE LA COMISIÓN 93/11/CEE, de 15 de Marzo de 1993, relativa a la cesión de N-nitrosaminas y de sustancias N-nitrosables por las tetinas y chupetes de elastómeros o caucho (DO nº L 93 del 17.4.93).

Di Pasquale, G.; Di Iorio, G.; Capaccioli, T.; Gagliardi, P. y Verga, G.R. (1978a), "Gas-Chromatographic head-space determination of residual acrylonitrile in acrylonitrile-butadiene-styrene resins and migration into a simulated fatty foodstuffs liquid", *Journal of Chromatography*, 160, 133-140.

Di Pasquale, Giovanni; Di Iorio, Giordano y Capaccioli, Tarciso (1978b), "Gas-Chromatographic headspace determination of residual ethylene in polyethylene and migration into liquids simulating foodstuffs", *Annali di Chimica*, 68, 719-724.

Di Pasquale, Giovanni, Di Ioro, Giordano y Capaccioli, Tarciso (1978c), "Analysis of trace amounts of dichloromethane in polycarbonates", *Journal of Chromatography*, 152, 538-541.

Durst, Gregory L. y Laperle, Edward A. (1990), "Styrene monomer migration as monitored by purge and trap gas chromatography and sensory analysis for polystyrene containers", *Journal of Food Science*, 55(2), 521-524.

Eggers, E.A. y Humphrey, J.S., Jr. (1971), "Applications of gel permeation chromatography in the manufacture of epoxy-glass printed circuit laminates", *Journal of Chromatography*, 55, 33-44.

El EPS y el Mundo en que Vivimos (1994a), "Fundación española de los plásticos para la protección del medio ambiente", nº 3, 4-5.

El EPS y el Mundo en que Vivimos (1994b), "La gestión medioambiental de los residuos de EPS", nº 2, 4-5 y "La Revolución Verde", 8-11.

El País (1993), 17 de Diciembre, Pág 33.

Ellis, B. (1993) "Chemistry and Technology of Epoxy Resins". Blackie Academic & Professional, Glasgow.

Ellis, R.A. (1979), "Recent applications of gel permeation chromatography in the paint industry. Part 1.", *Pigment and Resin Technology*, 8(9), 10-14; 8(10), 4-8; 8(11), 17-21.

Eppert, Günter; Liebscher, Gert y Stief, Claus (1982a), "Analytische charakterisierung von bisphenol A-epoxidharzen durch hochleistungs-flüssigchromatographie. I.", *Journal of Chromatography*, 238, 385-398.

Eppert, Günter y Liebscher, Gert (1982b), "Analytische charakterisierung von bisphenol A-epoxidharzen durch hochleistungs-flüssigchromatographie. II.", *Journal of Chromatography*, 238, 399-407.

Feigenbaum, A. y Rossi, L. (1991), "La Réglementation Européenne des emballages alimentaires: les matériaux plastiques", *Annales des Falsifications de l'Expertise Chimique et Toxicologique*, 84(894), 21-25.

Feigenbaum, A.E.; Bouquant, J.; Ducruet, V.J.; Ehret-Henry, J.; Marqué, D.L.; Riquet, A.M.; Scholler, D. y Wittmann, J.C. (1994), "Guidelines of the Commission of the European Communities: a challenge for the control of packaging", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 141-154.

Feigenbaum, Alexandre E.; Ducruet, Violette J.; Delpal, Serge; Wolff, Nelly; Gabel, Jean-Paul y Wittmann, Jean C. (1991), "Food and Packaging Interactions:

Penetration of Fatty Food Simulants into Rigid Poly (vinyl chloride)", *Journal of Agricultural of Food Science*, 39, 1927-1932.

Feigenbaum, A.; Riquet, A-M. y Ducruet V. (1993), "Safety and Quality of Foodstuffs in Contact with Plastic Materials", *Journal of Chemical Education*, 70(11), 883-886.

Fernandes, L.I. y Mclellan, M.R. (1992), "Packaging Effects on Applesauce in Multilayer Polymeric Films and Glass", *Journal of Food Science*, 57(3), 671-674.

Figge, K.; Eder, S.R. y Piater, H. (1972a), "Migration von Hilfsstoffen der Kunststoffverarbeitung aus Folien in flüssige und feste Fette bzw. Simulationen", *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 68(11), 359-367.

Figge, K.; (1980), "Migration of components from plastics-packaging materials into packed goods-test methods and diffusion models", *Prog. Polym. Sci.*, 6, 187-252.

Figge, K.; Koch, J. y Freytag, W. (1978), "The suitability of simulants for foodstuffs, cosmetics and pharmaceutical products in migration studies", *Food Cosmet. Toxicol.*, 16, 135-142.

Figge, K.; Cmelka, D. y Koch, J. (1977), "Problems involved in and a comparison of methods for the determination of total migration from packaging materials into fatty foods", *Food Cosmet. Toxicol.*, 16, 165-175.

Figge, K. (1972b), "Migration of Additives from Plastics Films into Edible Oils and Fat Simulants", *Food Cosmet. Toxicol.*, 10, 815-828.

Figge, K. (1973a), "Determination of Total Migration from Plastics-packaging Materials into Edible Fats Using a ^{14}C -labelled Fat Simulant", *Food Cosmet. Toxicol.*, 11, 963-974.

Figge, K. (1988), "Dependence of the migration out of mass plastics on the thickness and sampling of the material", *Food Additives and Contaminants*, 5(1) 397-420.

Figge, K. y Freytag, W. (1984), "Additive migration from various plastics with different processing or properties into test fat HB 307", *Food Additives and Contaminants*, 1(4), 337-347.

Figge, K. y Hilpert, H.A. (1990a), "Proofs for a General Validity of the Proportionality Between the Quantity of a Migrated Component and its Concentration in Polymeric Packaging Material. Part 1. Contact conditions 10 days at 40°. Part 2. Contact conditions 2 hours / 70°", *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 86(4), 111-116.

Figge, K. y Hilpert, H.A. (1990b), "Proofs for a General Validity of the Proportionality Between the Quantity of a Migrated Component and its Concentration in Polymeric Packaging Material. Part 2. Contact conditions 2 hours / 70°", *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 86(4), 141-146.

Figge, K. y Hilpert, H.A. (1991), "Migration of Different Additives from polyolefine Specimens into Ethanol 95% by vol., Test Fat HB 307 and Olive Oil - a Comparison-", *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 87(1), 1-4.

Figge, K. y Hilpert, H.A. (1992), "Übertritt verschiedener Additive aus polymeren Packstoffen in Prüffett HB 307 bei unterschiedlicher Kombination der Prüfbedingungen "2 h/70°C" und "10 d/40°C"", *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 88(1), 10-13.

Figge, K. y Koch, J. (1973b), "Effect of Some Variables on the Migration of Additives from Plastics into Edible Fats", *Food Cosmet. Toxicol.*, 11, 975-988.

Forslund, J.; Kjølhed, T y Nilsson, N.H. (1991), "Influence of Plastic Materials on drinking water quality parameters", *Water Supply*, vol. 9(3-4), SS12/11-SS12/15.

Fox, R.A. (1989), "Plastic Packaging-The Consumer Preference of Tomorrow", *Food Technology*, nº de Diciembre, 84-85.

Franz, R (1993), "Permeation of volatile organic compounds across polymer films. Part I: Development of a sensitive test method suitable for high-barrier packaging films at very low permeant vapor pressures", *Packaging Technology Science*, 6(2), 91-102.

Franz, R.; Huber, M. y Piringer, O.-G. (1994), "Testing and evaluation of recycled plastics for food packaging use-possible migration through a functional barrier", *Food Additives and Contaminants*, 11(4) 479-496.

Fuchs, M.; Kluge, S.; Reuter, M.; Wolff, E.; Piringer, O. (1991a), "Determination of the global migration and sensory evaluation of microweable materials in contact with food. Part 1.", *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 87(9), 273-276.

Fuchs, M.; Kluge, S.; Reuter, M.; Wolff, E.; Piringer, O. (1991b), "Global migration determination and sensory evaluation of microweable materials in contact with food. Part 2.", *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 87(10), 311-316.

Garde, J.A. (1994), "La Migración: una característica de los envases de materiales poliméricos", *Farmacéuticos*, 179, 46-48.

Giam, C.S. y Wong, K. (1987), "Plasticizers in Food", *Journal of Food Protection*, 50(9), 769-782.

Gilbert, J.; Sheperd, M.; Startin, J.R. y Wallwork, M.A. (1982), "Identification by Gas Chromatography-Mass Spectrometry of vinyl chloride oligomers and other low-molecular-weight components in poly(vinyl chloride) resins for food packaging applications", *Journal of Chromatography*, 237, 249-261.

Gilbert, John; Sheperd, Martin J. y Wallwork, Michael A. (1985), "Multi-stage chromatographic procedure for the isolation of a single oligomeric species (vinyl chloride tetramer) from poly(vinyl chloride) resin used for food packaging applications", *Journal of Chromatography*, 320, 361-368.

Gilbert, John; Castle, Laurence; Jickells, Sue M.; Mercer, Angela J. y Sharman, Matthew (1988), "Migration from plastics into foodstuffs under realistic conditions of use", *Food Additives and Contaminants*, 5(1), 513-523.

Gilbert, John ; Sharman, Matthew y Rossi, Luigi (1994a), "A review of the research requirements for Europe to support legislation in the area of food contact materials and articles", *Food Additives and Contaminants*, 11(4), 497-518.

Gilbert, John; Castle, Laurence; Jickells, Sue M. y Sharman, Matthew (1994b), "Current research on food contact materials undertaken by the UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 231-240.

Gilbert, John; Bush, Jane; López de Sa, Ángela; van Lierop, J.B.H. y Goenaga, Xabier (1994c), "Establishment of a reference collection of substances and an analytical handbook of reference data to support enforcement of EC regulations on food contact materials", *Food Additives and Contaminants*, 11(1) 71-77.

Glöckner, Gottfried (1989), "Analysis of polymer heterogeneity by non exclusion HPLC", *Spectra 2000 [Deux Mille]*, 140, 41-45.

Goddard, Ron (1990) "Packaging Materials". PIRA International (The Research Association for the Paper and Board, Printing and Packaging Industries).

Goenaga, Xabier (1994), "The role of the Community Bureau of Reference in harmonizing compliance with the laws of the Commission of the European Communities", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 169-176.

Goydan, Rosemary; Schwoppe, Arthur D.; Reid, Robert C. y Cramer Gregory (1990), "High-temperature migration of antioxidants from polyolefins", *Food Additives and Contaminants*, 7(3), 323-337.

Gramiccioni, L.; Di Prospero, P.; Milana, M.R.; Di Marzio, S. e Marcello, I. (1986), "Global migration from plastic materials into olive oil and isoctane: an experimental comparison", *Food Chem. Toxicol.*, 24, 23-26.

Grassie, Norman; Guy, Marilyn I. y Tennent, Norman H. (1985), "Degradation of Epoxy Polymers: Part 1-Products of Thermal Degradation of Bisphenol-A Diglycidyl Ether", *Polymer Degradation and Stability*, 12, 65-91.

Halary, Jean-Louis (1989), "Relations entre structure chimique et propriétés mécaniques dans les réseaux epoxydes", *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 98(9-10), 623-634.

Haseman, Joseph. K. y Clark, Anne-Marie (1990), "Carcinogenicity Results for 114 Laboratory Animal Studies Used to Assess the Predictivity of Four In Vitro Genetic Toxicity Assays for Rodent Carcinogenicity", *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 16(18), 15-31.

Heckman, Jerome H. (1994), United States of America and European regulation of food packaging: finding common ground to reach a common goal", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 271-283.

Heiss, R. (1978) "Principios de envasado de los alimentos. Guía internacional". Editorial Acribia, Zaragoza.

Hellerich, W.; Harsch, B. y Haenle, S. (1989) "Guía de materiales plásticos". Hanser Editorial. Barcelona.

Henricks-Eckerman, Maj-Len y Laijoki, Terttu (1988), "Determination of Oligomer 340 and Polyamines in Cured Epoxy Resins by Extraction and High-performance Liquid Chromatography", *Analyst*, 113, 239-242.

Hussain, Kazim; Imtiaz, Azra y Nabi, Ghulam (1986), "Characterization of Polymers", *Pakistan Journal of Science*, 38(1-4), 67-73.

Iannacchione, G. y von Meerwall, E. (1991) "Influence of Poldispersity and Amine-Epoxy Ratio on Molecular Mobility in Epoxy Networks", *J. Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, 29, 659-668.

Iglesias, A. (1994), *El Correo Gallego*, 18 Junio pág. 18.

Ishiwata, Hajimu; Inoue, Takiko y Yoshihira, Kunitoshi (1987), "Tetramethylsuccinonitrile in polyvinyl chloride products for food and its release into food-simulating solvents", *Z Lebensmittel Unters Forsch*, 185, 39-42.

Jain, R.K.; Gupta, Anu y Asthana, K.K (1989), "Cost effective and better performing IPN system for corrosion protection of building materials", *Paintindia*, 39(7), 67-72.

Jeanfills, J. y Galloy, A. (1990), "Identification par spectrométrie infrarouge des polymères et des additifs dans les emballages plastiques des produits agro-alimentaires", *Analisis*, 18, 310-312.

Jickells, Sue M.; Gancedo, Pedro; Nerín, Cristina; Castle, Laurence y Gilbert, John (1993), "Migration of styrene monomer from thermoset polyester cookware into

foods during high temperature applications", *Food Additives and Contaminants*, 10(5), 567-573.

Jickells, Sue M.; Nichol, Janet y Castle, Laurence (1994a), "Migration of mineral hydrocarbons into foods. 5. Miscellaneous applications of mineral hydrocarbons in food contact materials", *Food Additives and Contaminants*, 11(3), 333-341.

Jickells, Sue M.; Nichol, Janet y Castle, Laurence (1994b), "Migration of mineral hydrocarbons into foods. 6. Press lubricants used in food and beverage cans", *Food Additives and Contaminants*, 11(5), 595-604.

Kaloustian, J.; Pauli, A.M. y Pastor, J. (1988), "L'ATD dans l'identification du polystyrene et de ses copolymeres a usage alimentaire et pharmaceutique", *Journal of Thermal Analysis*, 34, 465-471.

Kamm, Werner (1994), "An industry view of compliance with European Community legislation", *Food Additives and Contaminants*, 11(2) 155-160.

Karcher, W.; Haesen, G.; Le Goff, B. y Figge, K. (1984), "The reduction of additive migration in plastics by donor-acceptor complex formation", *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 80(5), 141-143.

Katan, L.L. (1971), "Migration from Packaging Materials to Foodstuffs: A New Approach. Paper presented at an Institute of Packaging conference on 'Food Packaging and Health: Migration and Legislation', held at Eastbourne on 6 October.

Kim-Kang, Heasook y Gilbert, Seymour G. (1991), "Isolation and Identification of Potencial Migrants in Gamma-Irradiated Plastic Laminates by Using GC/MS and GC/IR", *Applied Spectroscopy*, 45 (4), 572-580.

Klee, J.; Hörhold, H.-H. y Tänzer, W. (1987), "Telechelic prepolymers of DGEBA and primary monoamines", Reprint from *Crosslinked Epoxies*, editors: B. Sedlacek J. Kahovec, Walter de Gruyter & Co. Berlin.

Kondyli, Eftimia; Demertzis, Panagiotis G. y Kontominas, Michael G. (1990), "Migration of Dioctylphthalate and Dioctyladipate Plasticizers from Polyvinylchloride Films into Olive Oil", *Food Chemistry*, 36, 1-10.

Kondyli, Efthimia; Demertzis, Panagiotis G. y Kontominas, Michael G. (1992), "Migration of dioctylphthalate and dioctyladipate plasticizers from food-grade PVC films into ground-meat products", *Food Chemistry*, 45, 163-168.

Koszinowski, J. y Piringer, O. (1987), "Food/Package Compatibility and Migration", *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 3, 96-111.

Kroes, R.; Munro, I. y Poulsen, E. (1993), "Workshop on the scientific evaluation of the safety factor for the acceptable daily intake (ADI): editorial summary", *Food Additives and Contaminants*, 10(3), 269-273.

Larroque, M.; Vian, L.; Blaise, A. y Brun, S. (1988), Méthodes de dosage des monomères résiduels des résines époxydiques dans des simulants du vin", *Journal of Chromatography*, 445(1), 107-11.

Larsen, F.N. y Spieker, D.A. (1987), "Characterization of DGEBA Epoxy Resins", *Int. GPC Symp. '87*, 1987, 388-401.

Lederer, Jean (1985), "Enciclopedia moderna de la higiene alimentaria", Tomo III Tecnología e higiene alimentara. 5ª Edición, Ed. Maloine, París.

Lee, H.; Neville, K. (1982) "Handbook of Epoxy Resins". McGraw-Hill, New York.

Lickly, T.D.; Quinn, T.; Blanchard, F.A. y Murphy, P.G. (1988), "Determination of Migration of Phosphorous-based Additives from Food Packaging Material into Food-simulating Solvents by Neutron Activation/Cerenkov Counting", *Appl. Radiat. Isot.*, 39(6), 465-470.

Lickly, T.D.; Markham, D.A. y Rainey, M.L. (1991), "The migration of acrylonitrile from acrylonitrile/butadiene /styrene polymers into food-simulating liquids", *Food Chem. Toxicol.*, 29(1), 25-29.

Linszen, J.P.H.; Janssens, J.L.G.M.; Reitsma, J.C.E. y Roozen, J.P. (1991), "Sensory analysis of polystyrene packaging material in cocoa powder for drinks and chocolate flakes", *Food Additives and Contaminants*, 8(1), 1-7.

Linssen, Jozef P.H.; Janssens, Anneloes L.G.M.; Reitsma, Hanneke C.E.; Bredie, Wender L.P. y Roozen, Jacques P. (1993a), "Taste Recognition Threshold Concentrations of Styrene in Oil-in-Water Emulsions and Yoghurts", *J. Sci. Food Agric.*, 61, 457-462

Linssen, J.P.H.; Janssens, J.L.G.M.; Roozen, J.P. y Posthumus M.A. (1993b), "Combined gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages", *Food Chemistry*, 46(4), 367-371.

Lloria, José (1994), "Los plásticos en el sector del embalaje", *Perspectives*, nº de Septiembre-Octubre, 28-31.

López de Sa, A.; Martínez Castro, I. y Sanz, J. (1989), "Análisis por CG y CG/MS de plastificantes y otros aditivos presentes en plásticos utilizados en el envasado de alimentos", *CICC* (Centro de Investigación y Control de Calidad, SOIVRE de La Coruña), 4, 8-11.

López-Delgado, A.; González, J. y López de Sa, A. (1992), "Materiales poliméricos utilizados en el Envasado de Productos Alimenticios en España", *Alimentaria*, nº 236, 89-94.

Macías-Matos, C.; García-Pino, C. y Arias-Verdes, J.A. (1989), "Determinación de estabilizadores orgánicos de estaño en salsa de soja envasada en botellas de PVC", *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 29(2), 281-284.

MAFF Food Surveillance Paper No. 30. HMSO, London, 1990: "Plasticizer migration in foods" (1991), *Information Section-Food Chem. Toxicol.*, 29 (2), 139-142.

MAFF Food Surveillance Paper No. 38. HMSO, London, 1993, (1993) *Information Section-Food Chem. Toxicol.*, 32(4), 392-393.

May, C.A. (1988) "Epoxy Resins. Chemistry and Technology". Marcel Dekker, New York.

Maynard, J.B.; Twichel, J.E. y Walker, J.Q. (1979), "Determination of Carboxyl-Terminated-Butadiene-Nitrile Polymer in commercial Cresol-Novalac Epoxi Resin

Systems by Pyrolysis Capillary Gas Chromatography and Mass Spectrometry", *Journal of Chromatographic Science*, 17(2), 82-86.

Mcgorrin, Robert J., Pofahl, Thomas R. y Croasmun, William R. (1987), "Identification of the Musty Component From an Off-Odor Packaging Film", *Analytical Chemistry*, 59, 1109A.

Mcneal, Timothy; Brumley, William C.; Breder, Charles y Sphon, James A. (1979), "Gas-Solid Chromatographic-Mass Spectrometric Confirmation of Low Levels of Acrylonitrile After Distillation from Food-Simulating Solvents", *Journal of the A.O.A.C.*, 62(1), 41-46.

Mcneal, Timothy P. y Breder, Charles V. (1987) "Headspace Gas Chromatographic determination of Residual 1,3-Butadiene in Rubber-Modified Plastics and its Migration from Plastic Containers into Selected Foods", *Journal of the A.O.A.C.*, 70(1), 18-21.

Mestan, S.A. y Morris C.E.M. (1984), "Chromatography of Epoxy Resins", *JMS-Rev. Macromol. Chem. Phys.*, C24(1), 117-172.

Ministerio de Sanidad y Consumo (1984), "Los Alimentos: Inspección y Control", Ed. Servicio de publicaciones del Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid.

Mori, Sadao (1986), "Semimicro size exclusion chromatography for oligomers. II. Separation of oligomers and comparison with conventional columns", *Journal of Chromatography*, 9(6), 1329-1340.

Morrow, Darrell R. (1989), "Recycling of Plastic Packaging Materials", *Food Technology*, nº de Diciembre, 89-90.

Mukoyama, Yoshiyuki y Mori, Sadao (1989), "Combination of Size Exclusion and adsorption phenomena on a hydrophilic polymer gel column using organic solvents", *Journal of Liquid Chromatography*, 12(8), 1417-1430.

Murphy, P.G.; McDonald, D.A. y Lickly, T.D. (1992), "Styrene migration from general-purpose and high-impact polystyrene into food-simulating solvents", *Food Chem. Toxicol.*, 30(3), 225-232.

Nerín, C.; Gancedo, P. y Cacho, J. (1993), "Determination of Styrene in Olive Oil by Coevaporation, Cold Trap, and GC/MS/SIM", *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 41, 2003-2005.

Nieto de Castro, C. (1994), "European Community Measurements & Testing Newsletter", *Measurements & Testing Newsletter*, 2(1), 1-16.

Noël, D.; Cole, K.C. y Hechler, J.-J. (1986a), "High-Speed Reverse-Phase Liquid Chromatography with 3 µm Packing for Analysis of Fiber-Reinforced Epoxy Composite Formulations", *Journal of Applied Polymer Science*, 32, 3097-3108.

Noël, D.; Cole, K.C. y Hechler, J.-J. (1988a), "Quantitative analysis of resins used in fiber-reinforced composites by reversed-phase liquid chromatography", *Journal of Chromatography*, 447, 141-153.

Noël, D.; Cole, K.C. y Hechler, J.-J. (1986b), "Pyrolysis-Capillary Gas Chromatography of Fibre-Epoxy Composites", *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 10, 13-30.

Noël, D.; Cole, K.C.; Hechler, J.-J.; Chouliotis, A. y Overbury, K.C. (1986c), "High-Performance Size Exclusion Chromatography of Fiber-Reinforced Organic-Matrix Composites", *Journal of Chromatography*, 408, 129-144.

Noël, D.; Cole, K.C.; Hechler, J.-J.; Chouliotis, A. y Overbury, K.C. (1989), "Room Temperature Aging of Narmco 5208 Carbon-Epoxy Prepreg. Part I: Physicochemical Characterization", *Polymer Composites*, 10(3), 150-161.

Noël, D.; Hechler, J.-J. y Cole, K.C.; Chouliotis, A. y Overbury, K.C. (1988b), "Quantitative thermal characterization of carbon-epoxy composites using differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis", *Termochimica Acta*, 125, 191-208.

Overton, B.W. (1994), "Impact of recycling and environmental legislation", *Food Additives and Contaminants*, 11(2) 285-293.

Page, B. Denis (1985), "Determination of Acrylonitrile in Foods by Headspace-Gas Chromatography with Nitrogen-Sensitive Detection: Collaborative Study", *Journal of the A.O.A.C.*, 68(4), 776-782.

Page, B. Denis y Lacroix, Gladys M. (1992), "Studies into the transfer and migration of phthalate esters from aluminium foil-paper laminates to butter and margarine", *Food Additives and Contaminants*, 9(3), 197-212.

Palliere, M. (1972), "Contribution à l'étude de la détermination de la migration globale des matériaux destinés à l'emballage des denrées alimentaire ayant un contact gras", *Ann Ist. Super. Sanità*, 8, 365-384.

Paseiro Losada, P.; López Mahía, P.; Vázquez Odériz, L.; Simal Lozano, J. y Simal Gándara, J. (1991a), "Sensitive and Rapid Reversed-Phase Liquid Chromatography-Fluorescence Method for Determining Bisphenol A Diglycidyl Ether in Aqueous-Based Food Simulants", *Journal of the Association Official of Analytical Chemist*, 74(6), 925-928.

Paseiro Losada, P.; Paz Abuín, S.; Vázquez Odériz, L.; Simal Lozano, J. y Simal Gándara, J. (1991b), "Quality control of cured epoxy resins. Determination of residual free monomers (*m*-xylylenediamine and bisphenol A diglycidyl ether) in the finished product", *Journal of Chromatography*, 585, 75-81.

Paseiro Losada, P.; Simal Lozano, J.; Paz Abuín, S.; López Mahía, P. y Simal Gándara, J. (1993), "Kinetics of the hydrolysis of bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) in water-based food simulants", *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 345, 527-532.

Paseiro Losada, P.; Simal Lozano, J.; Paz Abuín, S.; López Mahía, P. y Simal Gándara, J. (1992), "Kinetics of the Hydrolysis of Bisphenol F Diglycidyl Ether (BADGE) in Water-Based Food Simulants. Comparison with Bisphenol A Diglycidyl Ether", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(5) 868-872.

Paz Abuín, S.; Pazos Pellín, M. y Núñez Regueiro, L. (1991), "Kinetic effects on the impurities in epoxy resin/*m*-xylylenediamine reaction", *Journal of Applied Polymer Science*, 41, 2155-2167.

Pérez Lamela C.; Simal Lozano, J.; Paseiro Losada, P.; Paz Abuín, S. y Simal Gándara, J. (1993), "Simultaneous determination of phenol, formaldehyde and benzyl alcohol in Mannich products used as curing agents for epoxy resins by direct gas chromatographic-FID analysis", *Analisis*, 21, 367-371.

Petitjean-Jacquet, M.-P. y Vernaug, J.-M. (1983), "Analysis of Peanut oil in plasticized PVC and plasticizer in peanut oil", *Instrumental Analysis of Foods*, 1, 379-389.

Pfab, W. (1972), "Méthodes de détermination de la migration globale dans les produits alimentaires gras", *Ann Ist. Super. Sanità*, 8, 385-394.

Piringer, O.G.; Wolff, E. y Pfaff, K. (1993), "Use of high temperature-resistant sorbents as simulants for testing", *Food Additives and Contaminants*, 10(6), 621-629.

Piringer, O.G. (1986), "Interactions between packaging and food Consequences for manufacturers and consumers", Paper presented at a meeting on "Food packagings" at SIK-The Swedish Food Institute, May 29, 1986. SIK-Dokument, Nr. 36.

Piringer, O.G. (1994), "Evaluation of plastics for food packaging", *Food Additives and Contaminants*, 11 (2), 221-230.

Piringer, O.G. (1988), "Wechselwirkungen zwischen Lebensmittel und Verpackung", *Chem.-Ing.-Tech.*, 60, Nr. 4, S. 255-265.

Plastics Institute of America, Inc. (1991), "FOODPLAS VIII-91: Plastics in food Packaging", Marzo 5-7, 1991. Orlando, Florida.

Podzimeck, S. (1992), " A Review of the application of HPLC and GPC to the Analysis of Synthetic Resins", *Chromatographia*, 33(7/8), 377-384.

Podzimek, S.; Dobas, I.; Svestka, S.; Tkaczyk, M.; Kubín, M. y Sterba, V. (1991), "Epoxy Resins Based on aromatic Glycidylamines. IV. Preparation of N,N,N',N'-Tetraglycidyl-4,4'-Diaminodiphenylmethane from Aniline and Analysis of the Product by GPC and HPLC", *Journal of Applied Polymer Science*, 42, 795-800.

Proyecto de Norma Española PNE 53-330 (1977) "Materiales plásticos. Determinación de la migración global de los materiales plásticos en contacto con alimentos simulados".

REAL DECRETO 1125/1982 de la Presidencia del Gobierno, de 30 de Abril , se aprueba la Reglamentación Técnico Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio

de materiales poliméricos en relación con los productos alimenticios y alimentarios (B.O.E. nº 133, de 4 de Junio de 1982).

REAL DECRETO 2814/1983, de la Presidencia del Gobierno, de 13 de Octubre, por el que se prohíbe la utilización de materiales poliméricos recuperados o regenerados que hayan de estar en contacto con los alimentos (B.O.E. nº 270, de 11 de Noviembre de 1982).

REAL DECRETO 1425/1988 del Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno, de 25 de Noviembre, por el que se modifica el ámbito de aplicación del Real Decreto 1125/1988 (B.O.E. nº 288, de 1 de Diciembre de 1988).

REAL DECRETO 668/1990, de 25 de Mayo, por el que se modifica la reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de materiales poliméricos en relación con los productos alimenticios y alimentarios, aprobada por el Real Decreto 1125/1982, de 30 de Abril (BOE nº 130, de 31 de Mayo de 1990).

REAL DECRETO 2207/1994 del Ministerio de la Presidencia, de 16 de Noviembre, por el que se aprueba la lista de sustancias permitidas para la fabricación de materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos y se regulan determinadas condiciones de ensayo.

Renwick, A.G. (1991), "Safety factors and establishment of acceptable daily intakes", *Food Additives and Contaminants*, 8(2), 135-150.

Renwick, A.G. (1993), "Data-derived safety factors for the evaluation of food additives and environmental contaminants", *Food Additives and Contaminants*, 10(3), 275-305.

Riera Tuebols, J. (Nov.-Dic. 1985), "Grandes envases para la fermentación y conservación del vino", *Alimentación equipos y tecnología*, 81-90.

Riera Tuebols, J. y Teixido Subirats, J. (1988), "Control de calidad de envases vinarios", *Alimentación equipos y tecnología*, 1(1), 89-95.

Riera Tuebols, J. y Teixido Subirats, J. (1989), "Aplicaciones de la cromatografía de líquidos HPLC/GPC, espectrofotometría FT-IR y análisis térmico al análisis de recubrimientos", *Pinturas y Acabados Industriales*, 31(171), 75-78, 80-81.

Risch, Sara J. (1988), "Migration of Toxicants, Flavors, and Odor-Active Substances from Flexible Packaging Materials to Food", *Food Technology*, nº de Julio, 95-102.

Risch, Sara J. y Hotchkiss, Joseph H. (1991) *Food and Packaging Interactions II*. ACS Symposium Series 473. Washington DC.

Roberts, David (1992), "Materials in contact with food", *British Food Journal*, 94(2), 9-11.

Rosenkranz, Herbert S.; Ennever, Fanny K.; Dimayuga, Mario y Klopman Gilles (1990), "Significant Differences in the Structural Basis of the Induction of Sister Chromatid Exchanges and Chromosomal Aberrations in Chinese Hamster Ovary Cells", *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 16(16), 149-177.

Rossi, L.; Sampaolo, A. y Gramiccioni, L. (1972), "Méthodes de détermination de la migration globale dans les aliments gras: comparaison entre la méthode iodométrique et gas-chromatographique", *Ann. Ist. Super. Sanità*, 8, 432-439.

Rossi, L. (1987), "Activities of the Commission of the European Communities concerning materials and articles intended to come into contact with foodstuffs-a review", *Food Additives and Contaminants*, 5,(1), 21-31

Rossi, L. (1993), "European Community controls for high temperature testing of food contact materials", *Food Additives and Contaminants*, 10(6), 615-629.

Rossi, Luigi (1977), "Interlaboratory Study of Methods for Determining Global Migration of Plastic Materials in Liquids Simulating Fatty Foodstuffs", *Journal of the A.O.A.C.*, 60(6), 1282-1290.

Rossi, Luigi (1981), "Fourth Interlaboratory Study of methods for Determining Total Migration of Plastic Materials in liquids Simulating Fatty Foodstuffs", *Journal of the A.O.A.C.*, 64(3), 697-703.

Rossi, Luigi (1988), "European legal system applicable to materials and articles intended to come into contact with foodstuffs", *Food Additives and Contaminants*, 5, 543-553.

Rossi, Luigi (1994), "Future European Community Directives and petition procedures", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 123-129.

Russell, David J. (1988), "Calibration of high performance size exclusion chromatography for small epoxy molecules", *Journal of Liquid Chromatography*, 11(2), 383-394.

Rynewicz, J.F. (1974), "Evaluation of Paint Coating Tested in the Deep Atlantic and Pacific Oceans", *Corrosion in Natural Enviroments, ASTM American Society for Testing and Materials STP 588*, pp. 209-235.

Sabas, Javier (1994), "Envases y medio ambiente en España. Nuevos mercados", *Perspectives*, nº de Septiembre-Octubre, 32-36.

Saito, Jun; Toda, Shozo y Tanaka, Shigeyuki (1980a), "Field desorption mass spectrometry of epoxy resin prepolymer", *Bunseki kagaku*, 29, 462-467.

Saito, Jun; Toda, Shozo y Tanaka, Shigeyuki (1980b), "Analysis of Various Epoxy Resins by Field Desorption Mass Spectrometry", *Netsukokaseijushi*, 1(2), 79-86.

Saito, Jun; Waki, Hiroshi; Teramae, Norio y Tanaka, Shigeyuki (1988), "Application of field desorption mass spectrometry to polymer and oligomer analysis", *Progress in Organic Coatings*, 15, 311-335.

Salvatore, Giuseppe (1975), "Ricerche sperimentali per la definizione del metodo di determinazione della migrazione globale da materie plastiche e gomme negli alimenti grassi", *Rassegna chimica*, Nº2, 57-69 y *Rassegna chimica* Nº3, 109-116.

Sánchez, José Juan (1992), "Migraciones de los envases a los alimentos. Contaminaciones potenciales", *Alimentaria*, nº 235 de Septiembre, 82-85.

Schwartz, Patricia S. (1994), "Update on migration research and regulatory initiatives", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 261-270.

Sheperd, M.J. (1982), "Trace contamination of foods by migration from plastics packaging-A review", *Food Chemistry*, 8, 129-145.

Shiono, Satoru; Karino, Isamu; Ishimura, Atsuko y Enomoto, Junzo (1980), "Separation and Characterization of by-product oligomers in epoxy resins by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography*, 193, 243-253.

Sicre Canut, Luis (Mayo 1992), "Envase y embalaje ¿o <<PACKAGING>>?", *Alimentaria*, pág 66.

Simal Gándara, J.; Paz Abuín, S.; López Mahía, P.; Paseiro Losada, P. y Simal Lozano, J. (1992a), "Identification of RP-HPLC Peaks of Bisphenol F and of Bisphenol F Diglycidyl Ether and Its Hydrolysis Products by Thermospray Mass Spectrometry and Gas Chromatography/Mass Spectrometry", *Chromatographia*, 34(1/2) 67-72.

Simal Gándara, J.; Paz Abuín, S.; Paseiro Losada, P. y Simal Lozano, J. (1993a), "Determination of Bisphenols A and F in Noncured Epoxy Resins by RP-HPLC-Fluorescence Techniques", *Journal of Chromatographic Science* 31, 450-454.

Simal Gándara, J.; Paseiro Losada, P.; López Mahía, P.; Simal Lozano, J. y Paz Abuín, S. (1992b), "RP-HPLC-TSP-MS of Epoxy Resins Bisphenol A Diglycidyl Ether Type" *Journal of Chromatographic Science* 30, 11-16.

Simal Gándara, J.; López Mahía, P. Paseiro Losada, P.; Simal Lozano, J. y Paz Abuín, S. (1993b), "Overall migration and specific migration of bisphenol A diglycidyl ether monomer and *m*-xylylenediamine hardener from an optimized epoxy-amine formulation into water-based food simulants", *Food Additives and Contaminants*, 10(5), 555-565.

Snyder, Roger C. y Breder, Charles (1985), "New FDA Migration Cell Used to Study Migration of Styrene from Polystyrene into Various Solvents", *Journal of the A.O.A.C.*, 68(4), 770-775.

Soler, Xoán A. (1994), "Hablemos del reciclado", *La Voz de Galicia*, 29 de Noviembre, Pág. 42, expone y critica brevemente la situación actual del reciclado en Santiago de Compostela.

Startin, James R.; Sharman, Matthew; Rose, Martin D.; Parker, Ian; Mercer, Angela J.; Castle, Laurence y Gilbert, John (1987), "Migration from plasticized films into foods. 1. Migration of di-(2-ethylhexyl)adipate from PVC films during home-use and microwave cooking", *Food Additives and Contaminants*, 4(4), 385-398.

Svensson, K. (1994), "Legislation, control and research in the Nordic countries on plastics for packaging food", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 241-248.

Tamaresevly, K.; Sheela, M.S.; Kalliyankrishnan, V. y Pal, S.N. (1991), "Evaluation of DGEBA", *Journal of Applied Polymer Science*, 42, 1891-1897.

Tan, Shigeru; Tatsuno, Takashi y Okada, Taro (1991), "Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Determination of α -Methylstyrene in Styrene-Based Polymers and Food Simulants", *Journal of the A.O.A.C.*, 74(5), 815-818.

Tan, Shigeru; Tatsuno, Takashi y Okada, Taro (1988), "Gas chromatographic determination of calcium stearate in polyethylene food packaging sheets", *Journal of Chromatography*, 447(1), 198-201.

Tatsuno, Takashi; Inoue, Takiko y Tanimura, Akio (1980), "Hygienic chemical studies on plastics. V. Migration of acrylonitrile-butadiene-styrene copolymer and acrylonitrile-styrene copolymer into various food simulating solvents during a long period of time", *Eisei Shikensho Hokoku*, (98), 110-115.

Thorsheim, H.R. y Armstrong, D.J. (1993), "Recycled plastics for food packaging", *Chemtech.*, (nº de agosto) 55-58.

Tice, P.A. y McGuinness, J.D. (1987), "Migration from food contact plastics. Part I. Establishment and aims of the PIRA project", *Food Additives and Contaminants*, 4(3), 267-276.

Tice, P.A. (1988), "Pira project on migration of monomers and overall migration", *Food Additives and Contaminants*, 5(1), 373-380.

Tice, P.A. (1989), "Detection of Migration From Packaging Materials", *Analytical Proceedings*, 26(), 429-430.

Tice, P.A. (1994), "Testing polymeric coatings on metal and paper substrates", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 187-196.

Till, D.; Schwöpe, A.D.; Ehntholt, D.J.; Sidman, K.R.; Whelan, R.H.; Schwartz, P.S. y Reid, R.C. (1987), "Indirect Food Additive Migration from Polymeric Food Packaging Materials", *CRC Critical Reviews in Toxicology*, 3(18), 215-243.

Truhaut, R. (1991), "The concept of the acceptable daily intake: an historical review", *Food Additives and Contaminants*, 8(2), 151-162.

Tsuge, Morio (1990), "Application of Solid State High Resolution ^{13}C -NMR Spectroscopy to Analysis of Thermosetting Resins", *Journal of Thermosetting Plastics*, 11(1), 11-31.

Twichel, J.E.; Walker, J.Q. y Maynard, J.B. (1979), "An Exploration of Experimental Parameters in the Analysis of Epoxy Resin by Reverse Phase Liquid Chromatography", *Journal of Chromatographic Science*, 17(5), 259-263.

van Battum, D. (1980), "Migration experiments with waxed papers II", *Third International Symposium on Migration*, 22-24 October 1980. Hamburg, Unilever Forschungsgesellschaft, 1980, pp. 160-176.

van Battum, D. y Rijk, M.A.H. (1972), "The use of "Fettsimulans HB 307" for the determination of the global migration in fatty foodstuffs", *Ann Ist. Super. Sanità*, 8, 421-431.

van Battum, D.J. y van Lierop, J.B.H. (1988), "Testing of food contact materials in The Netherlands", *Food Additives and Contaminants*, 1(5), 381-395.

van der Maeden, F.B.P.; Biemond, M.E.F. y Janssen, P.C.G.M. (1978), "Oligomer separations by gradient elution High-Performance Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography*, 149, 539-552.

van Lierop, J.B.H. (1979), "Determination of potentially carcinogenic compounds in food: Trace analysis of monomers in foodstuffs and packaging materials by gaschromatography mass-fragmentography". Thesis, Wageningen.

van Lierop, J.B.H. (1994), "Enforcement of European Community legislation at the national level", *Food Additives and Contaminants*, 11(2), 241-248.

Varner, Sandra L. y Breder, Charles V. (1984), "Determination of Residual Levels and Migration of Benzene from Styrene-Containing Polymers", *Journal of the A.O.A.C.*, 67(3), 516-520.

Vogt, H. (1988), "Reliability of analytical methods for verifying migration data", *Food Additives and Contaminants*, 5(1), 455-465.

vom Bruck, C. G.; Rudolph, F.B.; Figge, K. y Eckert, W.R. (1979), "Application of the diffusion theory to migration of plastics components into packed goods: survey of recent migration studies", *Food Cosmet. Toxicol.*, 17, 153-157.

vom Bruck, C.G.; Figge, K. y Rudolph, F. (1981), "Interaction of Fat-Containing Food with Plastics Packaging", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58(8), 811-815.

Wagstaffe, P.J. (1993), The measurement and testing programme (BCR): support to development and implementation of methods required by Community legislation and European norms. Paper presented at Materials for Food Packaging held in Gothenburg, Sweden, March 10-11, 1993.

Walker, Ronald F. (1993), "European Community Measurement and Testing Programme", *Analytical Proceedings*, 30(6), 255-257.

Werner, W. y Barber, O. (1982), "Charakterisierung von Novolaken und Resolen durch HPLC", *Chromatographia*, 15(2), 101-106.

Wright, D.W.; Mahler, K.O. y Davis, John (1992), "The Application of Multidimensional GC Techniques to the Analysis of Sub-PPB Levels of Vinyl Chloride Monomer in Polyvinylchloride", *Journal of Chromatographic Science*, 30, 291-295.

Zeiger, Errol; Haseman, Joseph. K.; Shelby, Michael D.; Margolin. Barry H. y Tennant, Raymond W. (1990), "Evaluation of Four In Vitro Genetic Toxicity Tests for Predicting Rodent Carcinogenicity: Confirmation of Earlier Results With 41 Additional Chemicals", *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 16(18), 1-14.

TABLAS

TABLA 1: Diferencias principales entre impurezas y constituyentes de mezclas.

Sustancia	Impureza	Constituyente de mezclas
Presencia deliberada	no	sí
Cumple una función tecnológica	no	sí
Requiere una autorización	no (*)	sí
Figura en la lista positiva	no (*)	sí

(*) En algunos casos especiales una impureza puede aparecer incluida en los criterios de pureza (que serán establecidos posteriormente) o dentro de la propia lista positiva.

TABLA 2: Materiales de envasado consumidos a nivel mundial.

Regiones	Cantidad total en millones de toneladas	Valor total en billones de libras esterlinas
Estados Unidos	55	44
Europa	45	35
Japón	18	22
Resto del mundo	42	14
Total	160	115

TABLA 3: Evolución del consumo de plásticos en España.

AÑO	PRODUCCIÓN x 1000 Tm	CONSUMO kg/hab
1960	28	1,29
1965	101	6,04
1970	404	15,86
1975	723	23,60
1980	1197	30,80
1985	1448	30,38
1990	2078	57,88
1991	1988	57,39
1992	2069	59,11

TABLA 4: Consumo del envase-embalaje flexible en España por parte de los tres sectores principales.

SECTORES	MILLONES de ptas./año	PORCENTAJE
Alimentación	28.900	82,6
Productos farmacéuticos	4.800	13,7
Detergentes	1.300	3,7

TABLA 5: Resumen de las Reglamentaciones nacionales en algunos países europeos.

PAÍS	CARÁCTER DE LA REGLAMENTACIÓN	SUSTANCIAS(a)	RESTRICCIONES(b)
Bélgica	Obligatoria	M A AP	MG LME
Dinamarca			
España	Obligatoria	M A	MG LME
Francia	Obligatoria	A Colorantes	MG LME QM
Grecia			
Irlanda			
Italia	Obligatoria	Polímeros A	MG LME QM
Luxemburgo			
Países-Bajos	Obligatoria	M A AP	MG LME
Portugal			
Alemania	Opcional	M A AP	QM
Reino-Unido	Opcional	M A AP	QM

(a): M = monómeros
 A = aditivos
 AP = auxiliares de
 polimerización

(b): LME = límite de migración específica
 QM = nivel residual en producto terminado
 MG = límite de migración global

TABLA 6: Situación de los monómeros y aditivos evaluados por el Comité Científico para la Alimentación (SCF) (hasta 1993)

LISTA	MONÓMEROS	ADITIVOS	OPINIÓN DEL SCF
0	20	37	}
1	29	157	}
2	86	275	} Datos suficientes para que el } SCF emita una opinión
3	111	155	
4	33	4	}
5	5	14	}
6	126	85	}
7	148	137	} Datos insuficientes para que el } SCF emita una opinión
8	430	291	
9	178	544	}
-----	-----	-----	-----
Totales	1166	1699	

TABLA 7: Descripción de las listas del Comité Científico para la Alimentación (SCF)

LISTA	ADI	TDI	EXPLICACIÓN
0	-	-	Constituyentes de alimentos ó metabolitos
1	+	+	Aditivos alimentarios
2	-	+	Sustancias tóxicas con TDI establecida por el SCF
3	-	-	Sustancias con niveles de migración muy bajos
4	-	-	Migración no detectada por métodos validados
5	-	-	Sustancias muy tóxicas o con tasas altas de bioacumulación
6 A / B			Se sospecha acerca de su toxicidad: carcinogénicas / toxicidad de otro tipo
7			Existen algunos datos de la toxicidad pero no es posible determinar ADI o TDI
8			Datos insuficientes para evaluar la toxicidad
9			Especificación química inadecuada

TABLA 8: Situaciones en las que el consumidor puede estar expuesto a sustancias que no figuran como tales en la lista positiva.


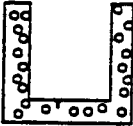
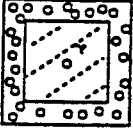


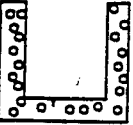
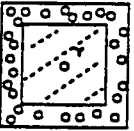


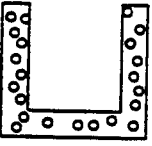
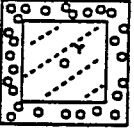


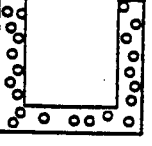
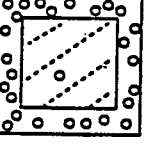

STARTING SUBSTANCES	POLYMER PROCESS	FOOD PROCESS, MIGRATION	INGESTION	COMMENT : ORIGIN OF Y
 <p>Impurity Y</p>				<p>IMPURITY : - OF STARTING SUBSTANCES - SIDE PRODUCT OF SYNTHESIS</p>
	 <p>Impurity Y</p>			<p>CONTAMINANT FORMED DURING POLYMER PROCESS</p>
		 <p>Impurity Y</p>		<p>CONTAMINANT FORMED BY REACTION WITH FOOD DURING FOOD PROCESS</p>
			 <p>Xenobiotic Y</p>	<p>XENOBIOTIC FORMED IN THE GASTRO INTESTINAL TRACTUS</p>

TABLA 9: Lista de simulantes de alimentos propuestos por la legislación Comunitaria.

Simulantes acuosos	Simulantes oleosos
Simulante A: agua destilada o de calidad equivalente (*)	Simulante D: aceite de oliva rectificado ó
Simulante B: ácido acético al 3%(p/v) en solución acuosa (*)	aceite de girasol ó
Simulante C: etanol al 15%(v/v) en solución acuosa	mezcla de triglicéridos sintéticos (HB 307) ó
	isooctano

(*) Si el pH del producto alimenticio es superior a 4,5 se utilizará el simulante A y si es igual o inferior entonces habrá que usar el simulante B.

TABLA 10: Condiciones de tiempos y temperaturas para los ensayos de migración.

Condiciones del contacto en uso real			Condiciones de ensayo
<i>Duración del contacto</i>			<i>Duración del ensayo</i>
t	≤	0,5 horas	0,5 horas
0,5 horas	< t ≤	1 hora	1 hora
1 hora	< t ≤	2 horas	2 horas
2 horas	< t ≤	24 horas	24 horas
t	>	24 horas	10 días
<i>Temperatura de contacto</i>			<i>Temperatura del ensayo</i>
T	>	5° C	5° C
5° C	< T ≤	20° C	20° C
20° C	< T ≤	20° C	40° C
40° C	< T ≤	70° C	70° C
70° C	< T ≤	100° C	100° C o temperatura de reflujo
100° C	< T ≤	121° C	121° C (*)
121° C	< T ≤	130° C	130° C (*)
130° C	< T ≤	150° C	150° C (**)
T	>	150° C	175° C (**)

(*) Utilizar el simulante a temperatura de reflujo.

(**) Utilizar el simulante D a 150° C o a 175° C, los simulantes A, B y C a 100° C o a temperatura de reflujo cuando sea necesario.

TABLA 11: Condiciones de tiempos y temperaturas para los ensayos de migración en simulantes oleosos.

Condiciones del test en aceite de oliva		Condiciones del test en isooctano	
10 días	5° C	0,5 horas	5° C
10 días	20° C	1 hora	20° C
10 días	40° C	2 días	20° C
2 horas	70° C	0,5 horas	40° C
1 hora	100° C	0,5 horas	60° C
0,5 horas	121° C	1 hora	60° C *
0,5 horas	130° C	1 hora	60° C *
2 horas	150° C	2 horas	60° C *
2 horas	175° C	3 horas	60° C *

* Antes de someter el material a la prueba de migración con isooctano asegurarse primero de que el material, una vez sumergido en aceite de oliva, puede resistir esas temperaturas altas especificadas en la tabla para los ensayos.

TABLA 12: Estudios toxicológicos para las sustancias incluidas en las listas 6 a 9.

ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS aconsejados por el SCF	MIGRACIÓN mg/kg		
	< 0.05	0.05 - 5	5 - 60
3 test de mutagenicidad	}	}	}
i) Mutación genética en bacterias	}	}	}
ii) Aberraciones cromosómicas en cultivos de células de mamíferos	}	}	}
iii) Mutación genética en cultivos de células de mamíferos	}	}	}
Estudios de Toxicidad oral a 90 días		}	}
Estudios de bioacumulación		}	}
Estudios de absorción, distribución, metabolismo y excreción.			}
Datos sobre reproducción.			}
Datos sobre teratogenicidad.			}
Datos sobre toxicidad a largo plazo y carcinogenicidad			}

TABLA 13a: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en agua destilada por HPLC (Método Corto).

BADGE: MÉTODO CORTO

Simulante: Agua Destilada

Recta de Calibrado del BADGE

1ª y 2ª series

Puntos de calibración	10.0	No.	Xi µg/L	Yi áreas
Sum Xi	210.0			
Sum Xi ²	6050.0	1	40	60 951
Sum Yi	317503.0	2	30	43 374
Sum Yi ²	13885988120.6	3	20	29 479
Sum Xi * Yi	9162455.0	4	10	16 019
Valor medio X	21.0	5	5	6 705
Valor medio Y	31750.3	6	40	60 657
Pendiente B	1521.3	7	30	46 680
Término Independiente A (blanco)	-196.5	8	20	31 478
Sum (Xi - X) ²	1640.0	9	10	14 572
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)	2494892.0	10	5	7 588
Sum (Yi - Y) ²	3805172619.7			
Error estándar de los estimados Sr	1104.2			
Magnitud P	0.3			
Raiz cuadrada de la magnitud W	1.2			
Valor superior del intervalo de confianza Ysup	2782.7			
Valor inferior del intervalo de confianza Yin	-3175.7			
Grados de libertad f = n - 2	8.0			
t-Valor (95%) #	2.306			
Magnitud N	3795418348.6			
Límite de detección Intra-laboratorio LDI	2.0			
Error estándar del procedimiento Sr (x)	0.7			
Raiz cuadrada de sum (xi-x) ²	40.5			
Error estándar de la pendiente B	27.3			
Coefficiente de correlación R	0.999			
# = elegidos de la tabla-t de valores !				

TABLA 13b: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en ácido acético 3% (p/v) por HPLC (Método Corto).

BADGE: MÉTODO CORTO

Simulante: Ácido acético 3%(P/V)

Recta de Calibrado del BADGE

1ª y 2ª series

Puntos de calibración	10.0	No.	X i µg/L	Y i áreas
Sum X i	210.0			
Sum X i ^2	6050.0	1	40	58 507
Sum Y i	312090.7	2	30	44 853
Sum Y i ^2	13388027115.6	3	20	30 041
Sum X i * Y i	8998705.0	4	10	15 162
Valor medio X	21.0	5	5	7 821
Valor medio Y	31209.1	6	40	60 501
Pendiente B	1490.7	7	30	44 792
Término Independiente A (blanco)	-96.3	8	20	28 925
Sum (X i - X) ^2	1640.0	9	10	14 310
Sum (X i - X) * (Y i - Y)	2444801.0	10	5	7 178
Sum (Y i - Y) ^2	3647968693.5			
Error estándar de los estimados S r	654.3			
Magnitud P	0.3			
Raíz cuadrada de la magnitud W	1.2			
Valor superior del intervalo de confianza Y sup	1669.0			
Valor inferior del intervalo de confianza Y inf	-1861.6			
Grados de libertad f = n - 2	8.0			
t-Valor (95%) #	2.306			
Magnitud N	3644543859.5			
Límite de detección Intra-laboratorio LDI	1.2			
Error estándar del procedimiento S r (x)	0.4			
Raíz cuadrada de sum (x i - x) ^2	40.5			
Error estándar de la pendiente B	16.2			
Coefficiente de correlación R	1.000			

= elegidos de la tabla-t de valores !

TABLA 13c: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en etanol 15% (v/v) por HPLC (Método Corto).

BADGE: MÉTODO CORTO

Simulante: Etanol 15%(V/V)

Recta de Calibrado del BADGE

1ª y 2ª series

Puntos de calibración	10.0	No.	Xi µg/L	Yi áreas
Sum Xi	210.0			
Sum Xi ²	6050.0	1	40	50 922
Sum Yi	274192.3	2	30	38 837
Sum Yi ²	10407006236.8	3	20	25 171
Sum Xi*Yi	7931038.3	4	10	12 409
Valor medio X	21.0	5	5	6 598
Valor medio Y	27419.2	6	40	54 814
Pendiente B	1325.0	7	30	39 713
Término Independiente A (blanco)	-405.8	8	20	25 944
Sum (Xi - X) ²	1640.0	9	10	13 364
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)	2172999.3	10	5	6 422
Sum (Yi - Y) ²	2888862670.9			
Error estándar de los estimados Sr	1097.7			
Magnitud P	0.3			
Raíz cuadrada de la magnitud W	1.2			
Valor superior del intervalo de confianza Ysup	2555.8			
Valor inferior del intervalo de confianza Yin	-3367.4			
Grados de libertad f = n - 2	8.0			
t-Valor (95%) #	2.306			
Magnitud N	2879223233.3			
Límite de detección Intra-laboratorio LDI	2.2			
Error estándar del procedimiento Sr (x)	0.8			
Raíz cuadrada de sum (xi-x) ²	40.5			
Error estándar de la pendiente B	27.1			
Coefficiente de correlación R	0.998			
# = elegidos de la tabla-t de valores !				

TABLA 14: Confirmación del BADGE mediante la relación A_{FL} / A_{UV} **MÉTODO CORTO**

Simulante	Relación A_{FL} / A_{UV}	SD
Agua destilada	2.94	0.04
Ácido acético 3% (p/v)	3.11	0.04
Etanol 15% (v/v)	3.13	0.09

MÉTODO LARGO

Simulante	Relación A_{FL} / A_{UV}	SD
Agua destilada	2.86	0.49
Ácido acético 3% (p/v)	3.16	0.16
Etanol 15% (v/v)	3.13	0.06

 A_{FL} = Áreas de fluorescencia A_{UV} = Áreas de ultravioleta

TABLA 15a: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en agua destilada por HPLC (Método Largo).

BADGE: MÉTODO LARGO

Simulante: Agua Destilada

Recta de Calibrado del BADGE

1ª y 2ª series

Puntos de calibración	10.0	No.	Xi µg/L	Yi áreas
Sum Xi	210.0			
Sum Xi ^2	6050.0	1	40	58 355
Sum Yi	324486.7	2	30	48 830
Sum Yi ^2	14325700729.6	3	20	31 620
Sum Xi * Yi	9303076.7	4	10	15 941
Valor medio X	21.0	5	5	7 486
Valor medio Y	32448.7	6	40	61 851
Pendiente B	1517.6	7	30	46 950
Término Independiente A (blanco)	579.2	8	20	29 977
Sum (Xi - X) ^2	1640.0	9	10	15 052
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)	2488856.7	10	5	8 424
Sum (Yi - Y) ^2	3796541045.1			
Error estándar de los estimados Sr	1559.8			
Magnitud P	0.3			
Raíz cuadrada de la magnitud W	1.2			
Valor superior del intervalo de confianza Ysup	4787.5			
Valor inferior del intervalo de confianza Yinfi	-3629.2			
Grados de libertad f = n - 2	8.0			
t-Valor (95%) #	2.306			
Magnitud N	3777077748.3			
Límite de detección Intra-laboratorio LDI	2.8			
Error estándar del procedimiento Sr (x)	1.0			
Raíz cuadrada de sum (xi-x)^2	40.5			
Error estándar de la pendiente B	38.5			
Coefficiente de correlación R	0.997			
# = elegidos de la tabla-t de valores !				

TABLA 15b: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en ácido acético 3% (p/v) por HPLC (Método Largo).

BADGE: MÉTODO LARGO

Simulante: Ácido acético 3%(P/V)

Recta de Calibrado del BADGE

1ª y 2ª series

Puntos de calibración	10.0	No.	Xi µg/L	Yi áreas
Sum Xi	210.0			
Sum Xi ²	6050.0	1	40	61 380
Sum Yi	319112.7	2	30	47 556
Sum Yi ²	14016619609.6	3	20	28 227
Sum Xi * Yi	9203545.0	4	10	16 986
Valor medio X	21.0	5	5	8 427
Valor medio Y	31911.3	6	40	60 640
Pendiente B	1525.7	7	30	45 173
Término Independiente A (blanco)	-128.8	8	20	29 430
Sum (Xi - X) ²	1640.0	9	10	13 847
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)	2502179.0	10	5	7 446
Sum (Yi - Y) ²	3833330206.8			
Error estándar de los estimados Sr	1401.3			
Magnitud P	0.3			
Raíz cuadrada de la magnitud W	1.2			
Valor superior del intervalo de confianza Ysup	3651.8			
Valor inferior del intervalo de confianza Yin	-3909.5			
Grados de libertad f = n - 2	8.0			
Valor-t (95%) #	2.306			
Magnitud N	3817621797.6			
Límite de detección Intra-laboratorio LDI	2.5			
Error estándar del procedimiento Sr (x)	0.9			
Raíz cuadrada de sum (xi-x) ²	40.5			
Error estándar de la pendiente B	34.6			
Coefficiente de correlación R	0.998			
# = elegidos de la tabla-t de valores !				

TABLA 15c: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en etanol 15% (v/v) por HPLC (Método Largo).

BADGE: MÉTODO LARGO

Simulante: Etanol 15%(V/V)

Recta de Calibrado del BADGE

1ª y 2ª series

Puntos de calibración	10.0	No.	Xi µg/L	Yi áreas
Sum Xi	210.0			
Sum Xi ²	6050.0	1	40	50 742
Sum Yi	280132.7	2	30	38 985
Sum Yi ²	10567718117.8	3	20	27 159
Sum Xi * Yi	7988855.0	4	10	15 274
Valor medio X	21.0	5	5	8 253
Valor medio Y	28013.3	6	40	53 134
Pendiente B	1284.2	7	30	41 868
Término Independiente A (blanco)	1045.3	8	20	25 710
Sum (Xi - X) ^2	1640.0	9	10	12 359
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)	2106069.0	10	5	6 649
Sum (Yi - Y) ^2	2720287024.4			
Error estándar de los estimados Sr	1400.8			
Magnitud P	0.3			
Raíz cuadrada de la magnitud W	1.2			
Valor superior del intervalo de confianza Ysup	4824.7			
Valor inferior del intervalo de confianza Yin	-2734.0			
Grados de libertad f = n - 2	8.0			
Valor-t (95%) #	2.306			
Magnitud N	2704589410.2			
Límite de detección Intra-laboratorio LDI	2.9			
Error estándar del procedimiento Sr (x)	1.1			
Raíz cuadrada de sum (xi-x) ²	40.5			
Error estándar de la pendiente B	34.6			
Coefficiente de correlación R	0.997			
# = elegidos de la tabla-t de valores !				

TABLA 16a: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en agua destilada por espectrofluorimetría.

BADGE por Espectrofluorimetría

Simulante: Agua Destilada

Recta de Calibrado del BADGE

Puntos de calibración	5.0	No.	X _i µg/L	Y _i intensidad
Sum X _i	105.0			
Sum X _i ²	3025.0	1	40	97.6
Sum Y _i	297.8	2	30	78.5
Sum Y _i ²	21201.1	3	20	57.2
Sum X _i * Y _i	7930.7	4	10	41.6
Valor medio X	21.0	5	5	23.0
Valor medio Y	59.6			
Pendiente B	2.0			
Término independiente A (blanco)	16.6			
Sum (X _i - X) ²	820.0			
Sum (X _i - X) * (Y _i - Y)	1677.6			
Sum (Y _i - Y) ²	3468.1			
Error estándar de los estimados S _r	3.5			
Magnitud P	0.5			
Raíz cuadrada de la magnitud W	1.3			
Valor superior del intervalo de confianza Y _{sup}	31.1			
Valor inferior del intervalo de confianza Y _{inf}	2.0			
Grados de libertad f = n - 2	3.0			
t-Valor (95%) #	3.182			
Magnitud N	3432.0			
Límite de detección Intra-laboratorio LDI	7.1			
Error estándar del procedimiento S _r (x)	1.7			
Raíz cuadrada de sum (x _i -x) ²	28.6			
Error estándar de la pendiente B	0.1			
Coefficiente de correlación R	0.995			
# = elegidos de la tabla-t de valores !				

TABLA 16b: Parámetros de la recta de calibración del BADGE en etanol 15% (v/v) por espectrofluorimetría.

BADGE por Espectrofluorimetría

Simulante: Etanol 15%(V/V)

Recta de Calibrado del BADGE

Puntos de calibración	5.0	No.	Xi µg/L	Yi intensidad
Sum Xi	105.0			
Sum Xi ^2	3025.0	1	40	102.9
Sum Yi	285.0	2	30	77.2
Sum Yi ^2	20811.1	3	20	52.5
Sum Xi * Yi	7916.5	4	10	34.0
Valor medio X	21.0	5	5	18.4
Valor medio Y	57.0			
Pendiente B	2.4			
Término Independiente A (blanco)	7.6			
Sum (Xi - X) ^2	820.0			
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)	1930.8			
Sum (Yi - Y) ^2	4562.3			
Error estándar de los estimados Sr	2.3			
Magnitud P	0.5			
Raíz cuadrada de la magnitud W	1.3			
Valor superior del intervalo de confianza Ysup	17.2			
Valor inferior del intervalo de confianza Yin	-2.1			
Grados de libertad f = n - 2	3.0			
t-Valor (95%) #	3.182			
Magnitud N	4546.3			
Límite de detección Intra-laboratorio LDI	4.1			
Error estándar del procedimiento Sr (x)	1.0			
Raíz cuadrada de sum (xi-x)^2	28.6			
Error estándar de la pendiente B	0.1			
Coefficiente de correlación R	0.998			
# = elegidos de la tabla-t de valores !				

TABLA 17: Intensidades relativas de fluorescencia ó respuestas (en porcentaje) del BADGE y de sus dos productos de hidrólisis (PH) en los tres simulantes acuosos de alimentos.

SIMULANTES	BADGE	1 ^{er} PH	2 ^o PH
Agua destilada	100	68.4	71.7
Ácido acético 3% (p/v)	100	78.7	61.5
Etanol 15% (v/v)	100	76.1	75.8

TABLA 18: Parámetros de las rectas de calibrado del fenol, formol y alcohol bencílico.

	Formol	Fenol	Alcohol bencílico
Ordenada en el origen	0.04175	-0.31256	0.04844
Intervalo de confianza de $\pm 95\%$ [adimensional]	0.05841	0.75774	0.09540
Pendiente	0.00028	0.00392	0.00288
Intervalo de confianza de $\pm 95\%$ [ppm ⁻¹ (p/v)]	0.00011	0.00144	0.00135
Índice de error [%]	2.71	3.95	2.18
Coefficiente de correlación (R)	0.99001	0.99272	0.99802
Límite de Cuantificación [ppm (p/v)]	75	86	79
Límite de Detección [ppm (p/v)]	18	50	26

TABLA 19: Resultados de la precisión Intra-laboratorio (Repetibilidad) del BADGE por HPLC

MÉTODO CORTO

Simulante	Sr	r (2.8 x Sr)	Media Rec. P	SD de Rec.P
Agua destilada	0.6	1.8	100.4	3.2
Ácido acético 3% (P/V)	0.5	1.4	89.0	2.6
Etanol 15% (V/V)	0.2	0.7	95.2	1.2

MÉTODO LARGO

Simulante	Sr	r (2.8 x Sr)	Media Rec. P	SD de Rec.P
Agua destilada	0.5	1.3	100.2	2.3
Ácido acético 3% (P/V)	0.4	1.1	94.2	1.9
Etanol 15% (V/V)	0.6	1.6	96.3	2.9

Rec. P = Recuperación de la Precisión Intra-laboratorio (en porcentaje)

r = Repetibilidad

SD = Desviación estándar

Sr = Desviación estándar

TABLA 20: Resultados de la migración específica del polímero después de 10 días a 40°C

MÉTODO CORTO

Simulante	C medida ($\mu\text{g/L}$)
Agua destilada	< LDI
Ácido acético 3% (p/v)	< LDI
Etanol 15% (v/v)	< LDI

MÉTODO LARGO

Simulante	C medida ($\mu\text{g/L}$)
Agua destilada	< LDI
Ácido acético 3% (p/v)	< LDI
Etanol 15% (v/v)	< LDI

C = Concentración

LDI = Límite de detección Intra-laboratorio

TABLA 21: Sobrecarga con BADGE de la solución de migración después de 10 días a 40°C

MÉTODO CORTO

Simulante	Media Rec. P (%)	SD
Agua destilada	88.1	3.1
Ácido acético 3% (p/v)	100.3	13.8
Etanol 15% (v/v)	87.2	0.8

MÉTODO LARGO

Simulante	Media Rec. P (%)	SD
Agua destilada	87.2	10.4
Ácido acético 3% (p/v)	95.2	5.1
Etanol 15% (v/v)	90.0	3.7

Rec. P = Recuperación de la Precisión Intra-laboratorio

TABLA 22: Resultados de la migración del simulante sobrecargado con BADGE y sometido posteriormente durante 10 días a 40°C.

MÉTODO CORTO

Simulante	Media Rec. P (%)
Agua destilada	<5
Ácido acético 3% (p/v)	<5
Etanol 15% (v/v)	<5

MÉTODO LARGO

Simulante	Media Rec. P (%)
Agua destilada	<5
Ácido acético 3% (p/v)	<5
Etanol 15% (v/v)	<5

Rec. P = Recuperación de la Precisión Intra-laboratorio

TABLA 23a: Intensidades de fluorescencia y desviaciones estándar del BADGE por espectrofluorimetría en agua destilada.

BADGE por Espectrofluorimetría

Simulante: Agua Destilada

<u>C</u> µg/L	<u>Intensidades de fluorescencia a 305 nm</u>			
	Fichero	Valor	Media	SD
40	NBW41	97.2	97.6	0.6
	NBW42	97.3		
	NBW43	98.2		
30	NBW31	78.9	78.5	1.3
	NBW32	79.5		
	NBW33	77.0		
20	NBW21	58.0	57.2	1.0
	NBW22	57.4		
	NBW23	56.1		
10	NBW11	42.2	41.6	1.1
	NBW12	40.3		
	NBW13	42.2		
5	NBW01	23.2	23.0	0.3
	NBW02	23.2		
	NBW03	22.6		

TABLA 23b: Intensidades de fluorescencia y desviaciones estándar del BADGE por espectrofluorimetría en etanol 15%(v/v).

BADGE por Espectrofluorimetría				
Simulante: Etanol 15%(V/V)				
C	Intensidades de fluorescencia a 305 nm			
µg/L	Fichero	Valor	Media	SD
40	NBE41	104.6	102.9	1.4
	NBE42	102.1		
	NBE43	102.1		
30	NBE31	74.9	77.2	4.0
	NBE32	74.9		
	NBE33	81.9		
20	NBE21	52.1	52.5	0.8
	NBE22	53.4		
	NBE23	52.1		
10	NBE11	34.4	34.0	1.3
	NBE12	32.5		
	NBE13	35.0		
5	NBE01	17.9	18.4	0.4
	NBE02	18.6		
	NBE03	18.6		

TABLA 24: Vida media del BADGE

Simulante	Vida media días/Horas
Agua destilada	1.09 / 26.0
Ácido acético 3% (p/v)	0.14 / 3.4
Etanol 15% (v/v)	1.35 / 32.4

TABLA 25: Constantes de velocidad del proceso de hidrólisis del BADGE a 40°C en los tres simulantes acuosos de alimentos.

Constantes de velocidad	SIMULANTE			
	Agua destilada	Ácido acético 3%(p/v)	Etanol 15%(v/v)	
calculadas en días ⁻¹ :				
k1	sin respuesta	0.63	3.39	0.39
	con respuesta	0.72	4.33	0.41
	con ec. (2)*	0.64	4.85	0.51
k2	sin respuesta	0.28	2.70	0.23
	con respuesta	0.28	2.44	0.30

* ec. (2): $\ln [\text{BADGE}] = (\ln [\text{BADGE}]_0) - k_1 t$

TABLA 26: Niveles residuales de formaldehído, fenol y alcohol bencílico en formulaciones Mannich

Muestras	FORMOL(%)	FENOL(%)	ALCOHOL BENCÍLICO(%)
1er PRODUCTO	ND*	< 0.4**	< 0.4**
2º PRODUCTO	ND*	ND*	19.86 ± 0.67
LAB-958	< 0.4**	10.64 ± 0.36	1.79 ± 0.04

* ND = No Detectado en la muestra, i.e. <0.1% para el formol, <0.2% para el fenol y <0.1 % para el alcohol bencílico.

** 0.4% = Límite de cuantificación de los tres componentes.

TABLA 27: Migración de BADGE desde las formulaciones poliméricas tipo 1, 2 y 3.

MÉTODO CORTO

Simulante	10 días a 40°C C medida (µg/L)	30 minutos a 121°C C medida (µg/L)
Agua destilada	<5	<5
Ácido acético 3% (p/v)	<5	<5
Etanol 15% (v/v)	<20	2 formulaciones >20

MÉTODO LARGO

Simulante	10 días a 40°C C medida (µg/L)	30 minutos a 121°C C medida (µg/L)
Agua destilada	<5	<5
Ácido acético 3% (p/v)	<5	<5
Etanol 15% (v/v)	<20	<20

TABLA 28: Parámetros analíticos principales de las rectas de calibrado del BADGE por HPLC.

MÉTODO CORTO

Simulante	Serie	Ordenada en el origen	Pendiente	R	Sr(x)	LDI
Agua destilada	Series 1y2	-196	1521	0.999	0.7	2.0
	Serie 1	-334	1507	0.999	0.9	3.7
	Serie 2	-59	1536	0.999	0.6	2.3
Ácido acético 3% (P/V)	Series 1y2	-96	1491	1.000	0.4	1.2
	Serie 1	716	1455	1.000	0.3	1.2
	Serie 2	-988	1526	1.000	0.3	1.4
Etanol 15% (V/V)	Series 1y2	-406	1325	0.998	0.8	2.2
	Serie 1	-98	1280	1.000	0.3	1.5
	Serie 2	-713	1370	0.999	0.6	2.3

MÉTODO LARGO

Simulante	Serie	Ordenada en el origen	Pendiente	R	Sr(x)	LDI
Agua destilada	Series 1y2	579	1518	0.997	1.0	2.8
	Serie 1	1165	1490	0.996	1.6	6.6
	Serie 2	-7	1546	1.000	0.5	2.1
Ácido acético 3% (P/V)	Series 1y2	-129	1526	0.998	0.9	2.5
	Serie 1	648	1517	0.997	1.1	2.9
	Serie 2	-906	1534	1.000	0.4	1.6
Etanol 15% (V/V)	Series 1y2	1045	1284	0.997	1.1	2.9
	Serie 1	2786	1205	1.000	0.4	1.6
	Serie 2	-696	1364	0.998	0.9	3.8

R = Coeficiente de correlación

LDI = Límite de detección Intra-laboratorio

Sr(x) = Error estándar del procedimiento

FIGURAS



Fig. 1: Símbolo que acompaña a materiales y objetos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios.

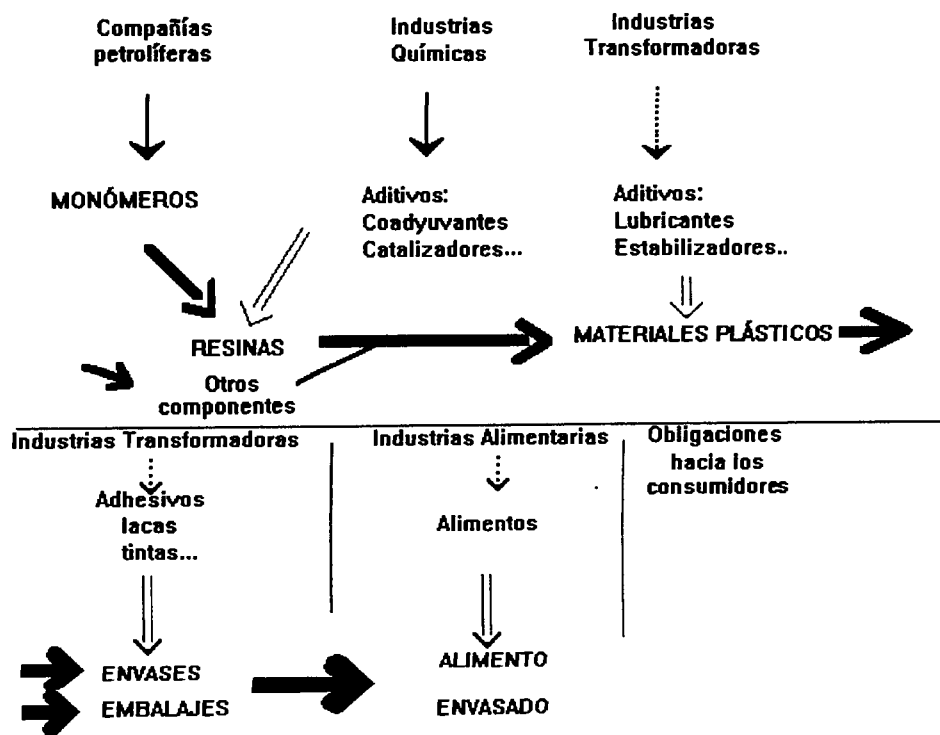
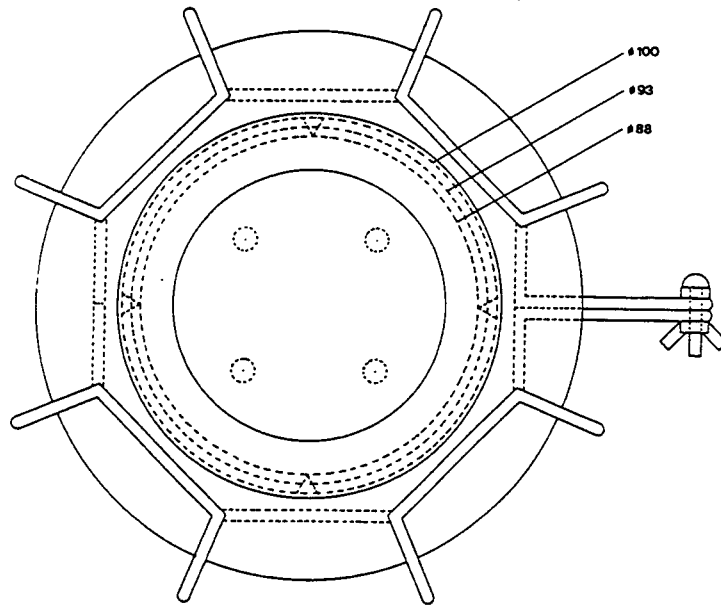
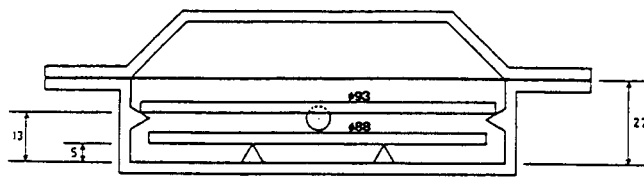
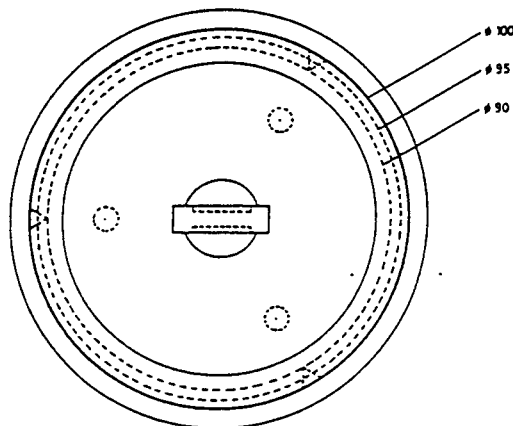
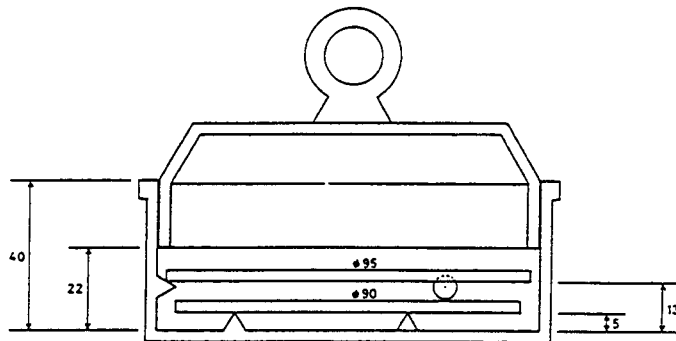


Fig. 2: Estructura de la industria del envasado alimentario.

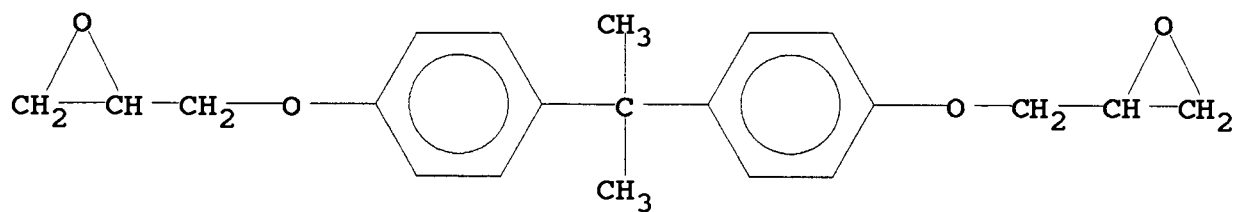


(a)

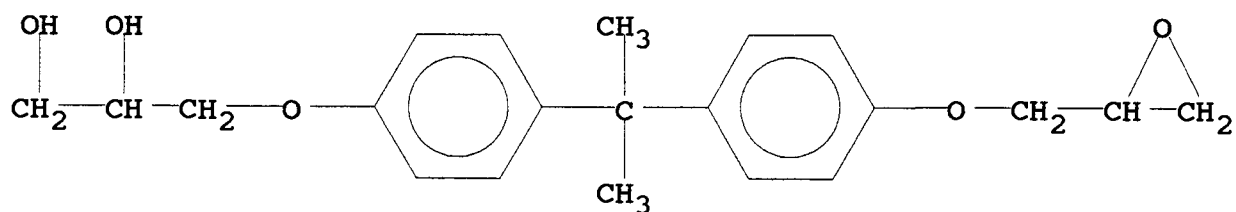


(b)

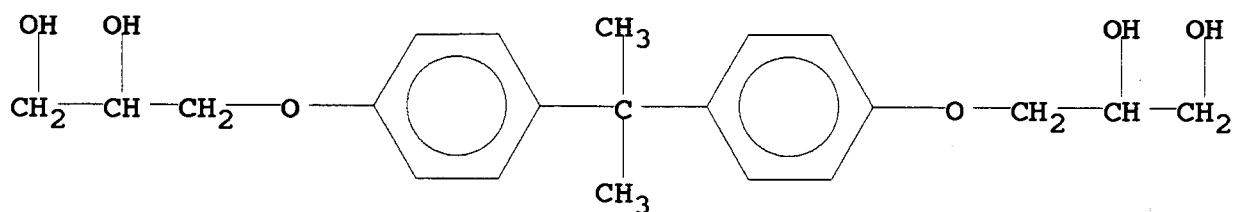
Fig. 3: Cubetas desarrolladas para realizar los ensayos de migración: (a) cubeta tipo reactor con cierre esmerilado adaptado (b) pesafiltros con tapa de vidrio esmerilada.



(a)

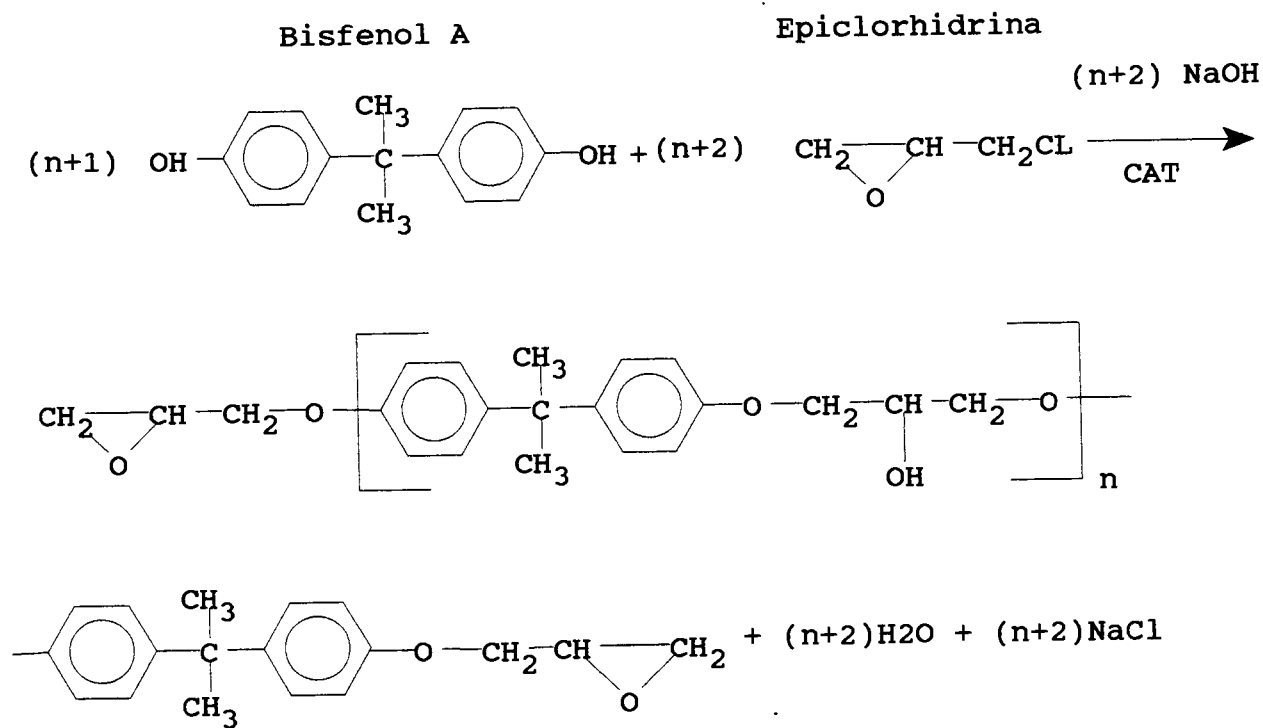


(b)



(c)

Fig. 4: Fórmula química del BADGE ($n = 0$) y de sus productos de hidrólisis: (a) BADGE, (b) 1^{er} producto de hidrólisis, (c) 2^o producto de hidrólisis.



CAT = Catalizador

n = grado de polimerización

Fig. 5: Reacción química entre bisfenol A y epiclorhidrina para dar BADGE.

Recta de calibrado del BADGE con las dos series

C µg/L	Serie 1 (áreas)		Serie 2 (áreas)	
	Media(n=3)	SD	Media(n=3)	SD
40	60 951	1 018	60 657	2 680
30	43 374	748	46 680	1 839
20	29 479	870	31 478	2 954
10	16 019	303	14 572	251
5	6 705	231	7 588	361

Puntos de calibración	10
Término independiente (A)	-196
Pendiente (B)	1 521
Coefficiente de correlación (R)	0.999
Error estándar del procedimiento Sr (x)	0.7
Límite de detección Intra-laboratorio (LDI)	2.0

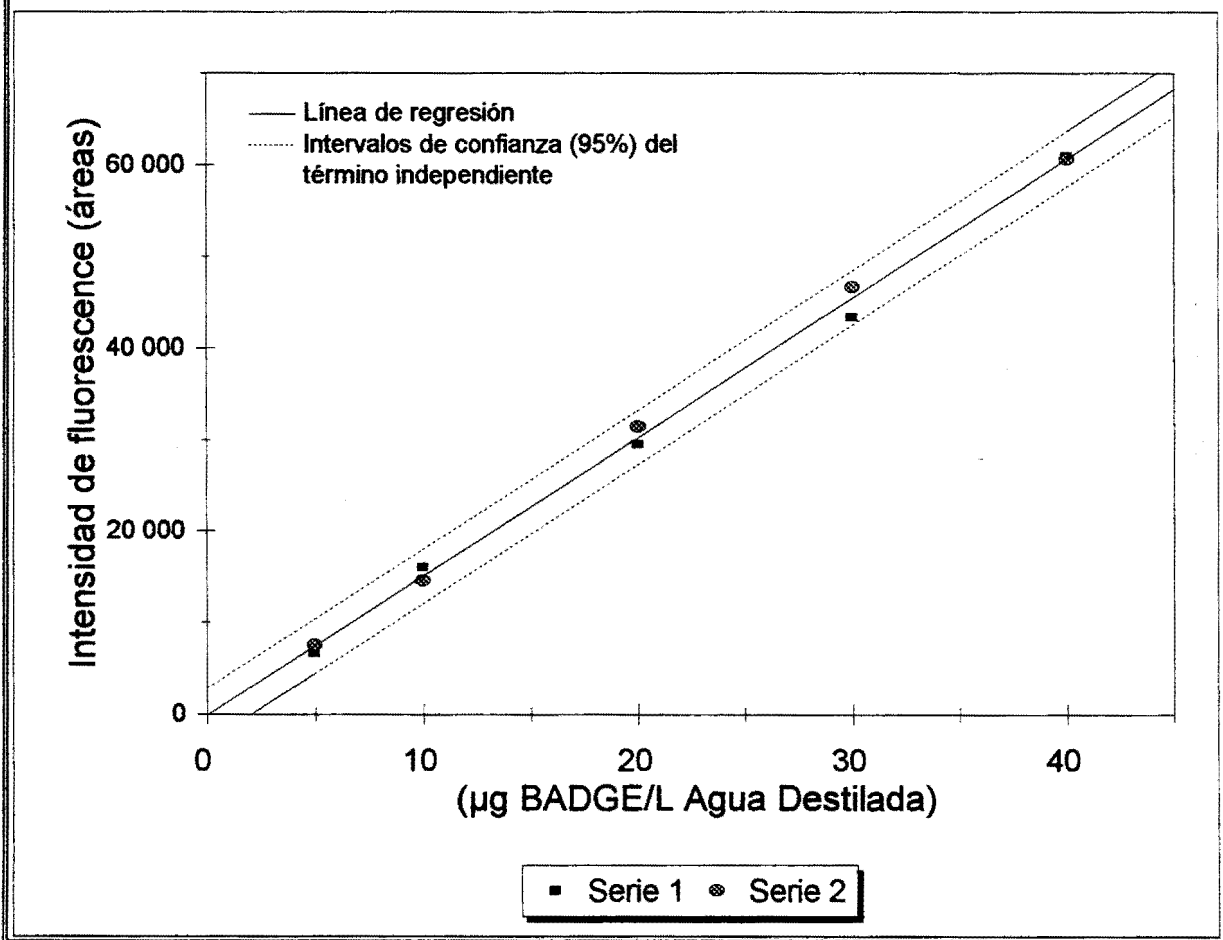


Fig. 6a: Recta de calibrado del BADGE en agua destilada por HPLC (Método Corto).

Recta de calibrado del BADGE con las dos series

C µg/L	Serie 1 (áreas)		Serie 2 (áreas)	
	Media(n=3)	SD	Media(n=3)	SD
40	58 507	788	60 501	3 386
30	44 853	1 596	44 792	818
20	30 041	851	28 925	950
10	15 162	663	14 310	502
5	7 821	824	7 178	234

Puntos de calibración	10
Término independiente (A)	-96
Pendiente (B)	1 491
Coefficiente de correlación (R)	1.000
Error estándar del procedimiento Sr (x)	0.4
Límite de detección Intra-laboratorio (LDI)	1.2

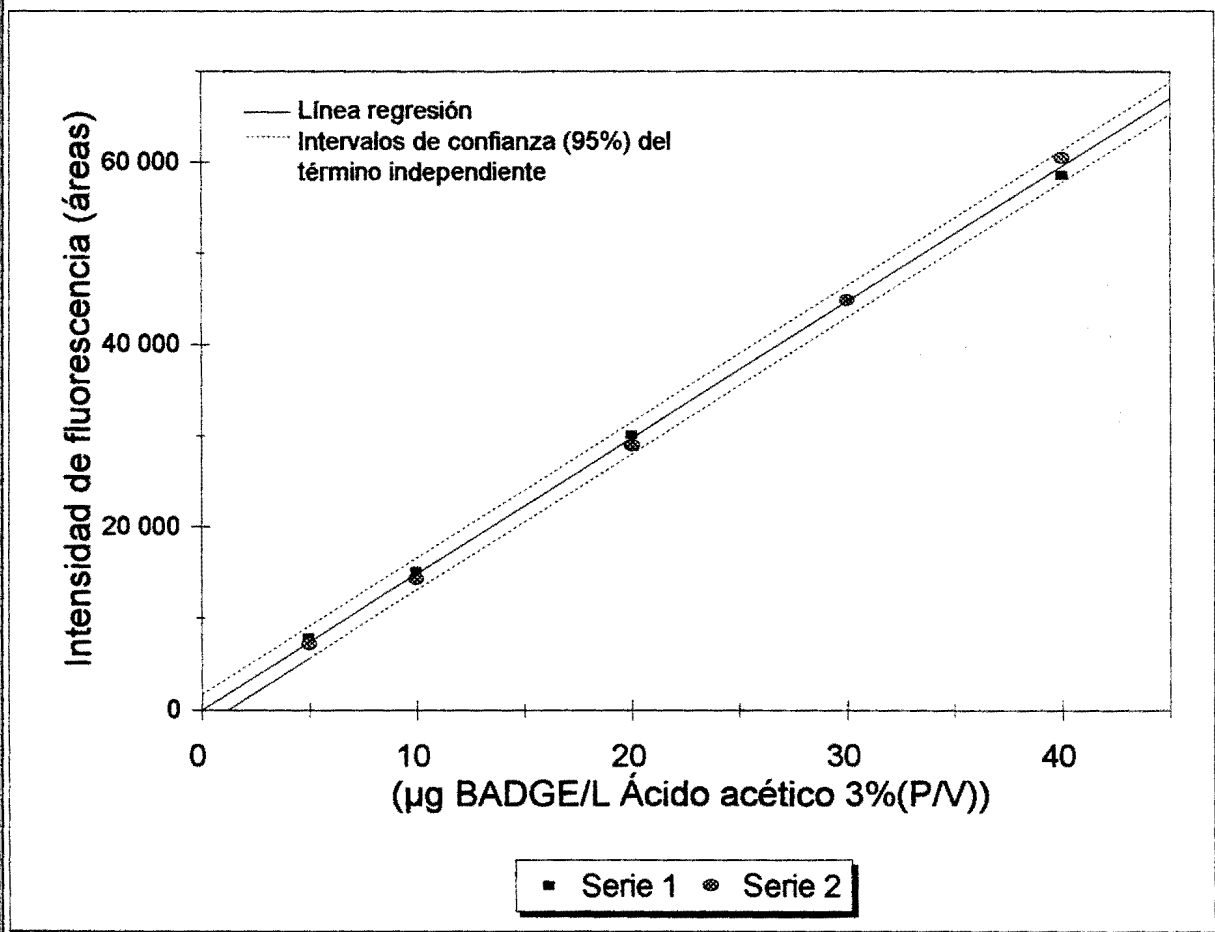


Fig. 6b: Recta de calibrado del BADGE en ácido acético 3% (p/v) por HPLC (Método Corto).

Recta de calibrado del BADGE con las dos series

C µg/L	Serie 1 (áreas)		Serie 2 (áreas)	
	Media(n=3)	SD	Media(n=3)	SD
40	50 922	669	54 814	607
30	38 837	872	39 713	316
20	25 171	175	25 944	523
10	12 409	461	13 364	348
5	6 598	200	6 422	316

Puntos de calibración	10	
Término independiente (A)		-406
Pendiente (B)		1 325
Coefficiente de correlación (R)		0.998
Error estándar del procedimiento Sr (x)		0.8
Límite de detección Intra-laboratorio (LDI)		2.2

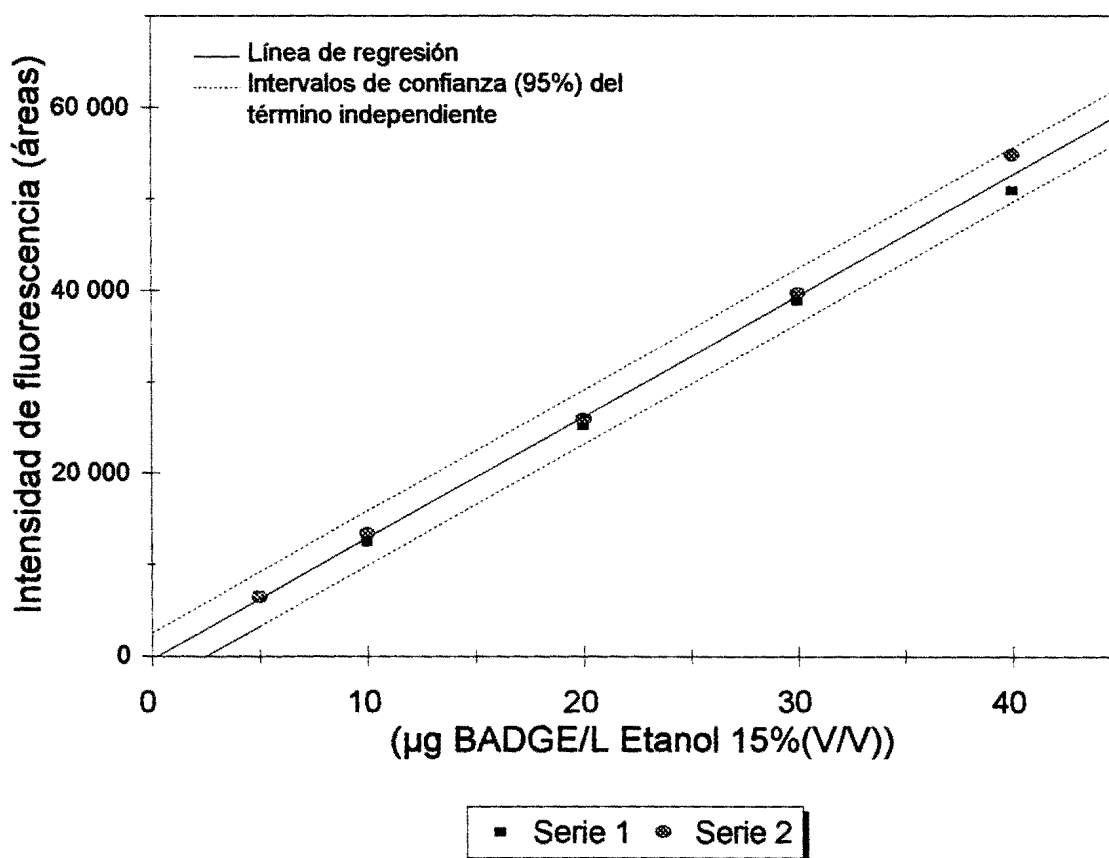


Fig. 6c: Recta de calibrado del BADGE en etanol 15% (v/v) por HPLC (Método Corto).

Recta de calibrado del BADGE con las dos series

<u>C</u> µg/L	<u>Serie 1 (áreas)</u>		<u>Serie 2 (áreas)</u>	
	Media(n=3)	SD	Media(n=3)	SD
40	58 355	1 547	61 851	2 965
30	48 830	538	46 950	3 399
20	31 620	1 318	29 977	1 267
10	15 941	784	15 052	750
5	7 486	597	8 424	776

Puntos de calibración	10	
Término independiente (A)		579
Pendiente (B)		1 518
Coefficiente de correlación (R)		0.997
Error estándar del procedimiento Sr (x)		1.0
Límite de detección Intra-laboratorio (LDI)		2.8

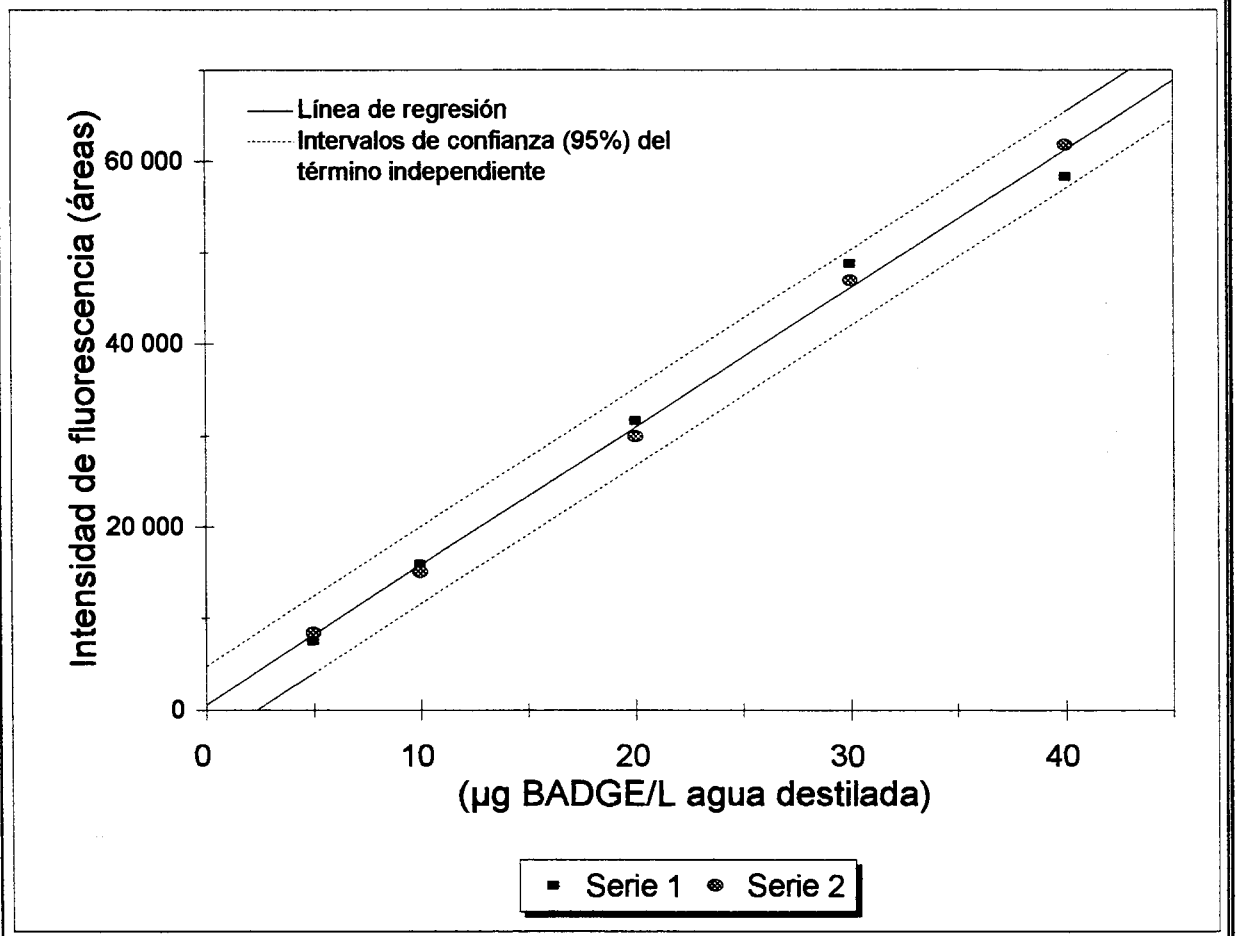


Fig. 7a: Recta de calibrado del BADGE en agua destilada por HPLC (Método Largo).

Recta de calibrado del BADGE con las dos series

C µg/L	Serie 1 (áreas)		Serie 2 (áreas)	
	Media(n=3)	SD	Media(n=3)	SD
40	61 380	3 332	60 640	4 394
30	47 556	1 631	45 173	1 844
20	28 227	893	29 430	1 523
10	16 986	348	13 847	229
5	8 427	1 073	7 446	277

Puntos de calibración	10	
Término independiente (A)		-129
Pendiente (B)		1 526
Coefficiente de correlación (R)		0.998
Error estándar del procedimiento Sr (x)		0.9
Límite de detección Intra-laboratorio (LDI)		2.5

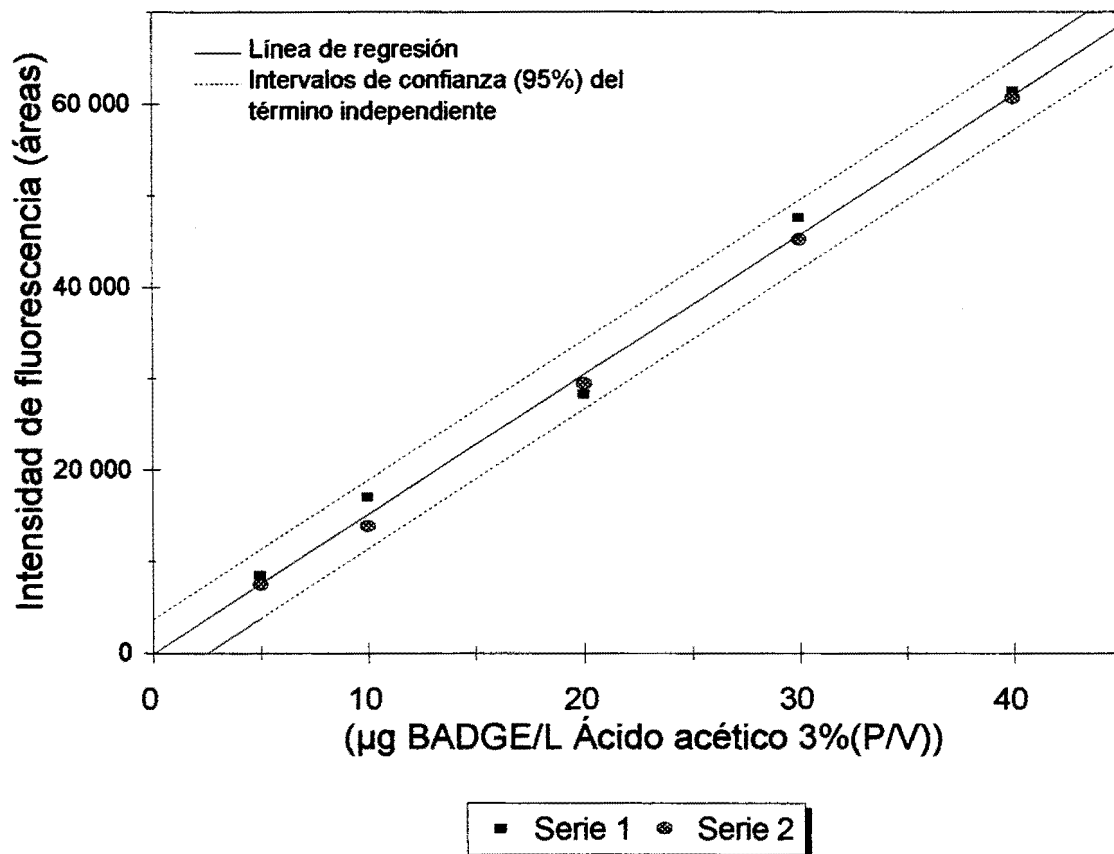


Fig. 7b: Recta de calibrado del BADGE en ácido acético 3% (v/v) por HPLC (Método Largo).

Recta de calibrado del BADGE con las dos series

C	Serie 1 (áreas)		Serie 2 (áreas)	
	Media(n=3)	SD	Media(n=3)	SD
40	50 742	1 584	53 134	1 756
30	38 985	1 676	41 868	1 003
20	27 159	762	25 710	1 597
10	15 274	567	12 359	640
5	8 253	515	6 649	137

Puntos de calibración	10	
Término independiente (A)		1 045
Pendiente (B)		1 284
Coefficiente de correlación (R)		0.997
Error estándar del procedimiento Sr (x)		1.1
Límite de detección Intra-laboratorio (LDI)		2.9

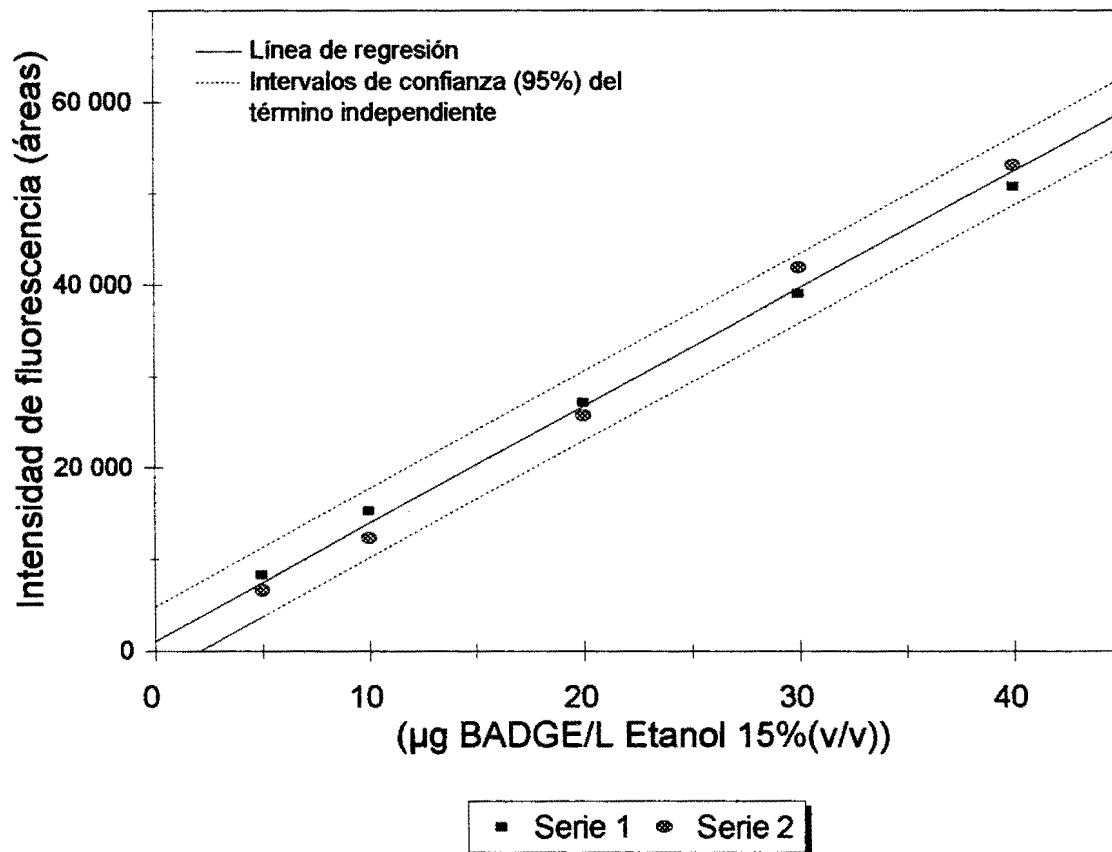


Fig. 7c: Recta de calibrado del BADGE en etanol 15% (v/v) por HPLC (Método Largo).

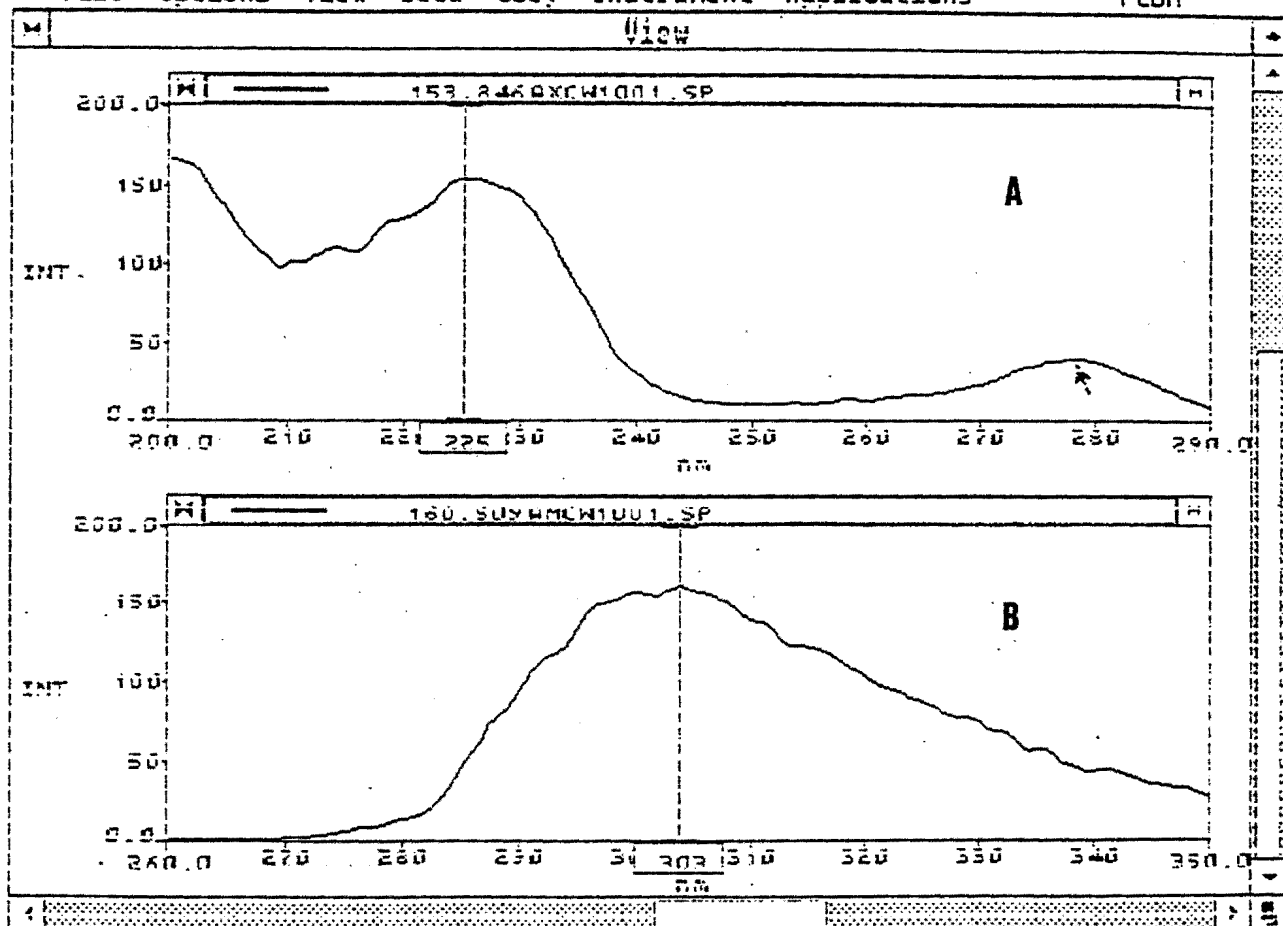
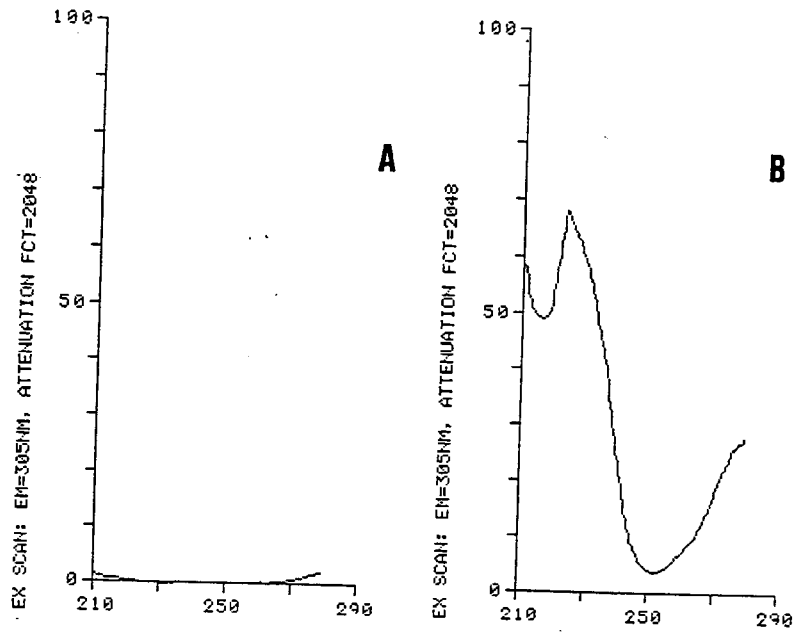


Fig. 8: Espectros de fluorescencia de excitación (A) y de emisión (B) de $40 \mu\text{g} / \text{L}$ de BADGE en acetonitrilo:agua (65:35) (v/v) obtenidos con un espectrofluorímetro convencional.

EXCITATION SPECTRUM (emision Wavelength 305 nm)



EMISSION SPECTRUM (excitation wavelength 225 nm)

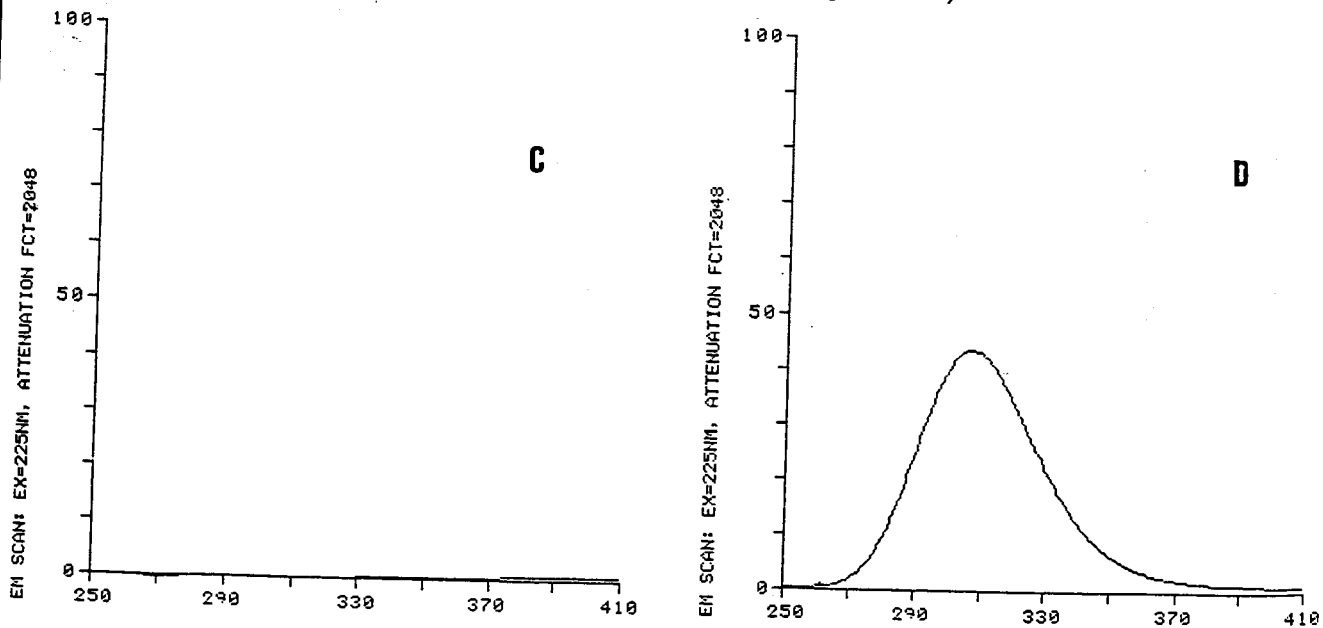


Fig. 9: Espectros de fluorescencia de excitación (A y B) y de emisión (C y D) de 1 mg de BADGE / L de agua destilada obtenidos por HPLC parando el flujo al tiempo de retención del BADGE. Los espectros A y C son los blancos respectivos de B y D.

20 PPB BADGE/water C18
CBADGE

1: Scan AP+
382
2.99e5
Area

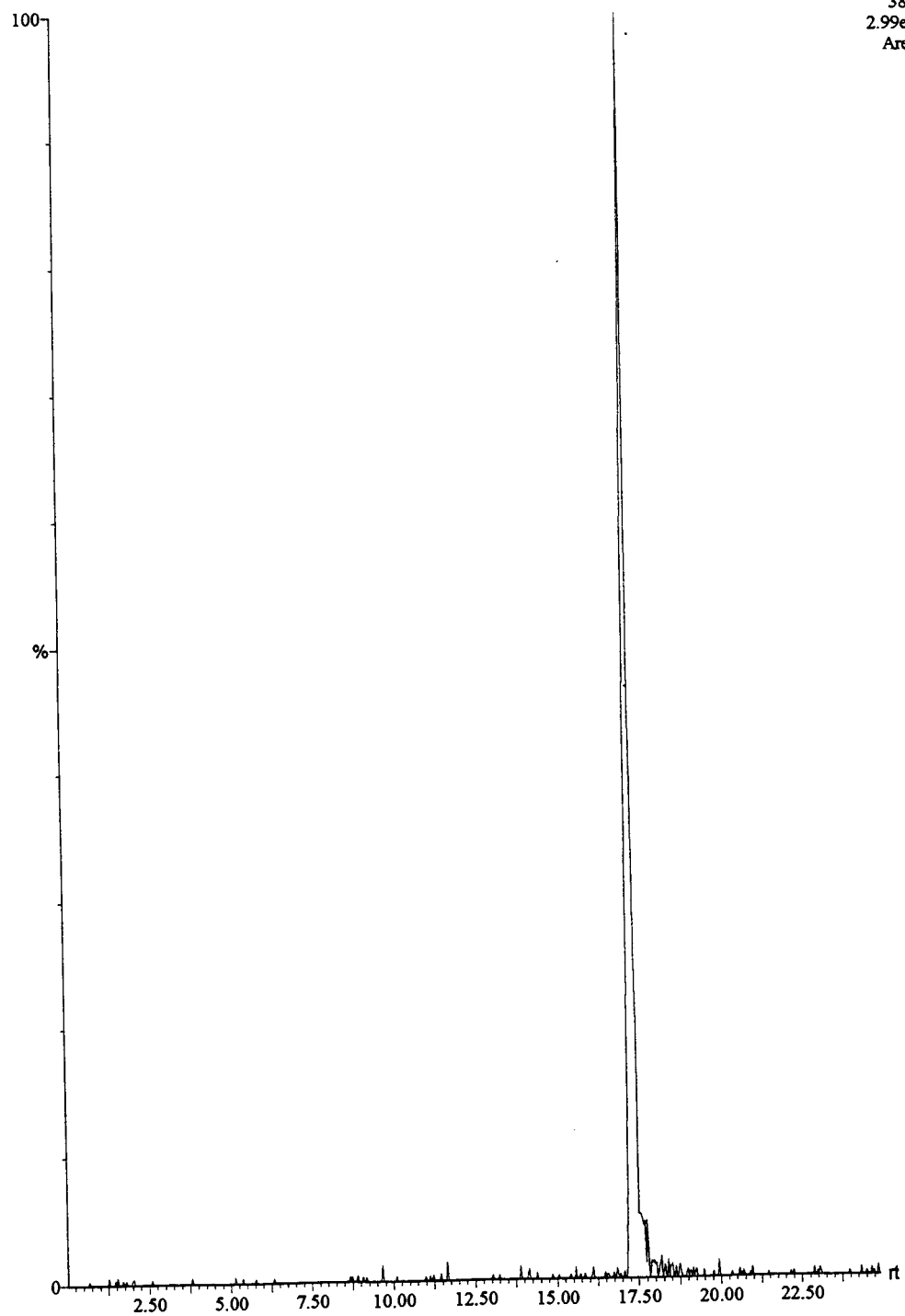


Fig. 10: Cromatograma de BADGE (20 μg / L en agua destilada) obtenido por HPLC-MS utilizando el Método Largo.

CBADGE 524 (17.325)

1: Scan AP+
2.99e5

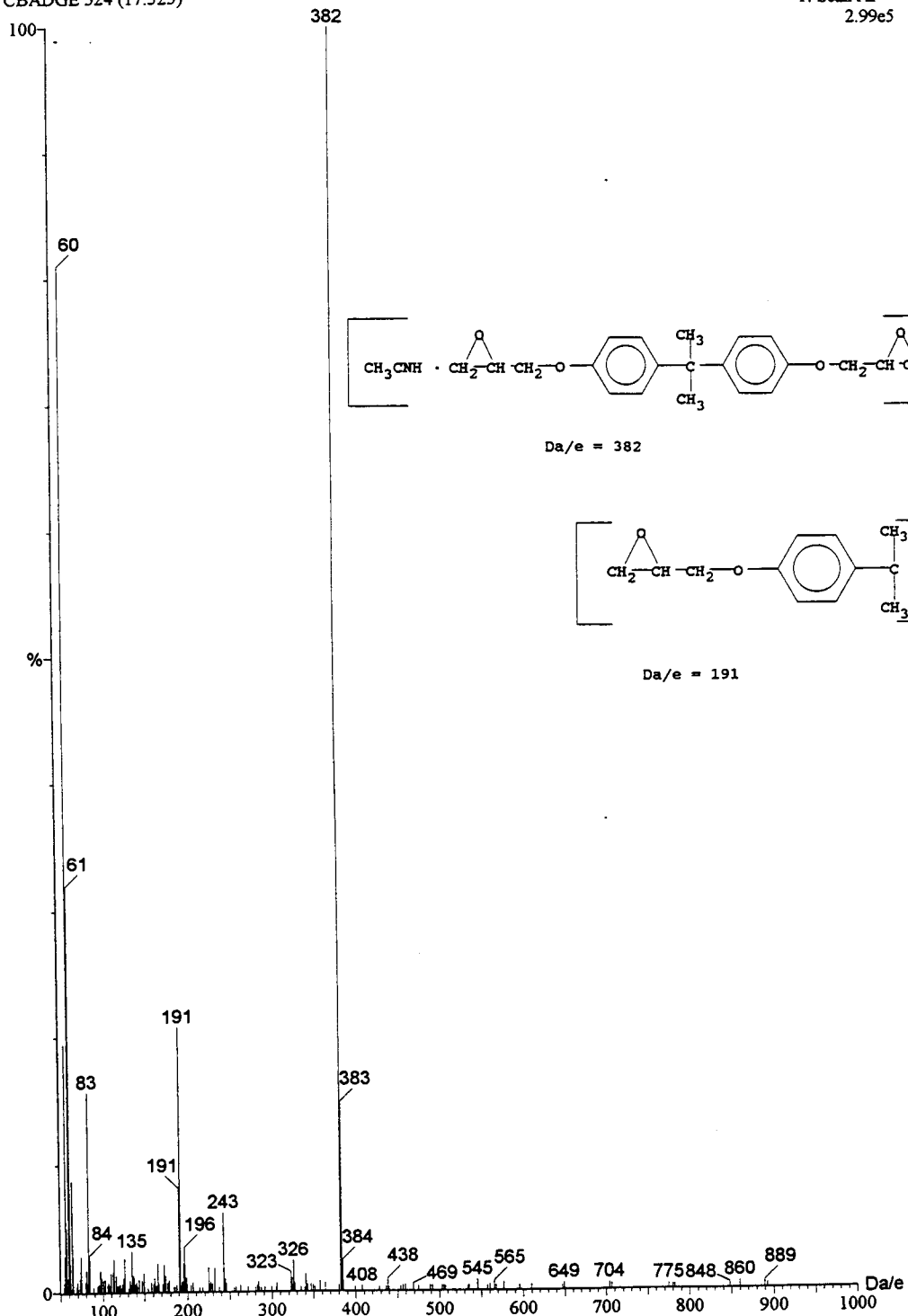


Fig. 11: Espectro de masas del BADGE correspondiente a los 17.3 min del cromatograma representado en la figura 10. Da / e = daltons / carga.

BADGE por Espectrofluorimetría

Simulante: Agua Destilada

Recta de calibrado

<u>C</u> µg/L	<u>Intensidades</u>	
	Media(n=3)	SD
40	97.6	0.6
30	78.5	1.3
20	57.2	1.0
10	41.6	1.1
5	23.0	0.3

Puntos de calibración	5	
Término independiente (A)	16.6	
Pendiente (B)	2.0	
Coefficiente de correlación (R)		0.995
Error estándar del procedimiento Sr (x)		1.7
Límite de detección Intra-laboratorio (LDI)		7.1

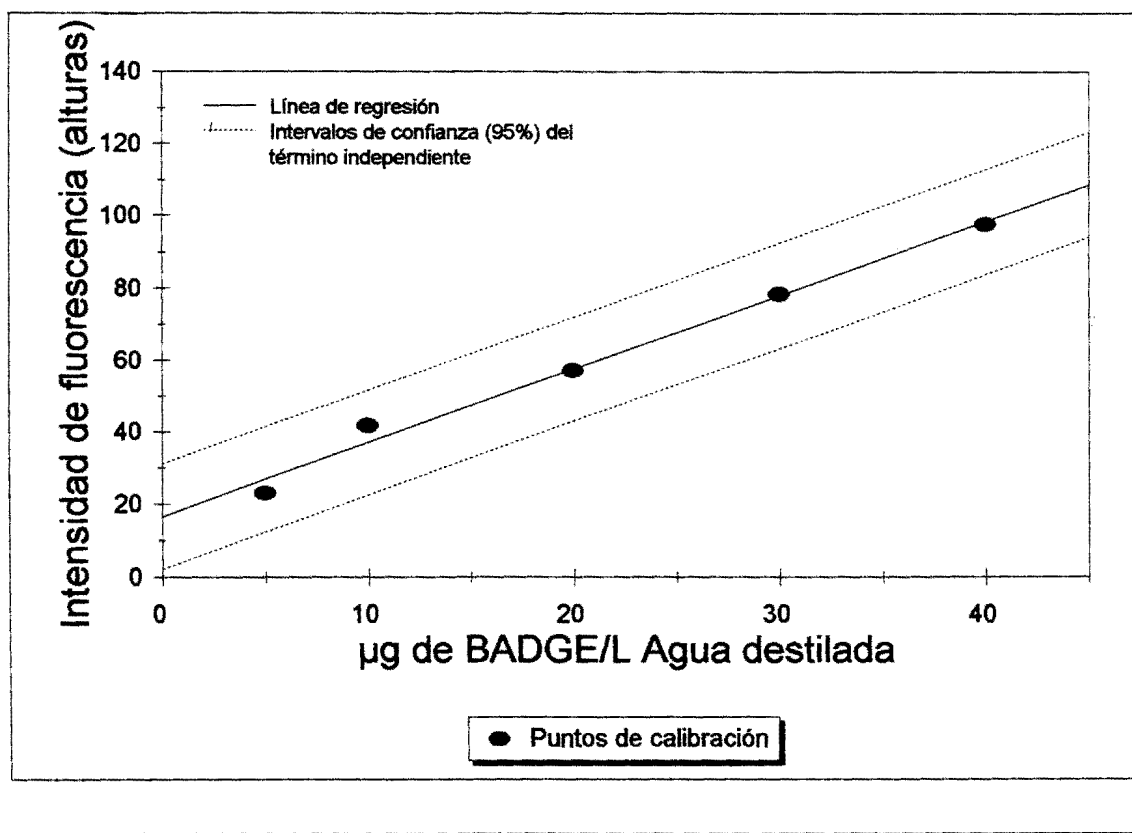


Fig. 12: Recta de calibrado del BADGE en agua destilada por espectrofluorimetría.

BADGE por Espectrofluorimetría

Simulante: Etanol 15%(V/V)

Recta de calibrado

C µg/L	Intensidades	
	Media(n=3)	SD
40	102.9	1.4
30	77.2	4.0
20	52.5	0.8
10	34.0	1.3
5	18.4	0.4

Puntos de calibración	5	
Término independiente (A)	7.6	
Pendiente (B)	2.4	
Coefficiente de correlación (R)		0.998
Error estándar del procedimiento Sr (x)		1.0
Límite de detección Intra-laboratorio (LDI)		4.1

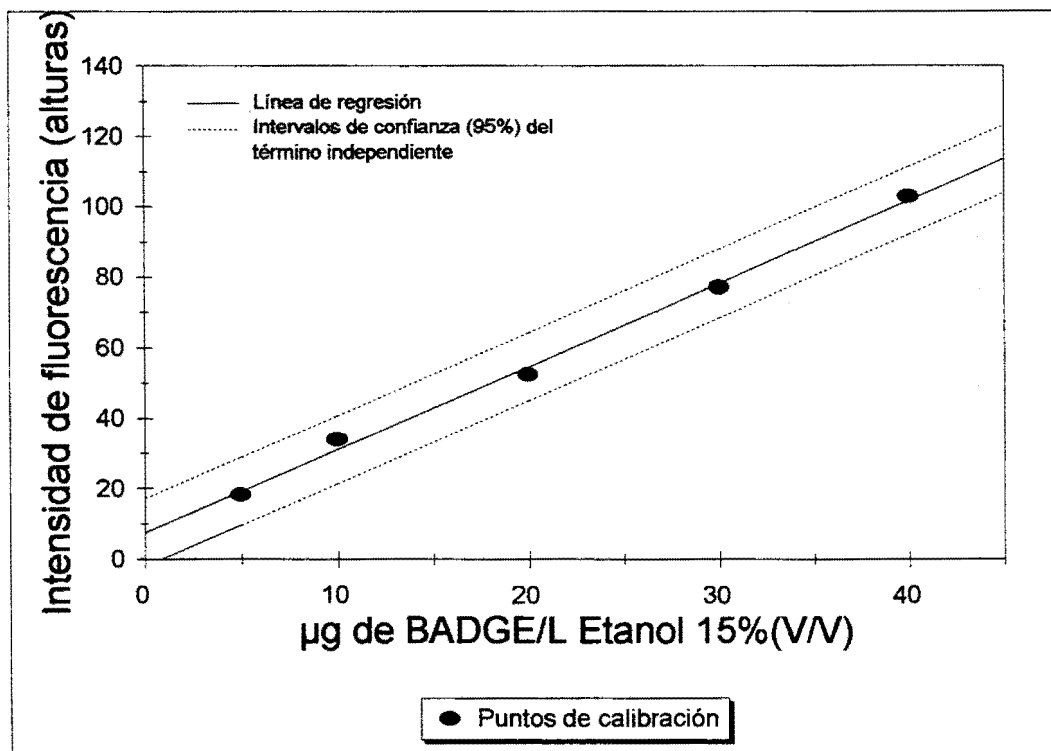


Fig. 13: Recta de calibrado del BADGE en etanol 15% (v/v) por espectrofluorimetría.

BADGE: MÉTODO

Simulante: Agua destilada

Cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C

Run	Tiempo (min)	Tiempo (días)	BADGE Áreas	1er PH(*) Áreas	2º PH(*) Áreas	Total Áreas	BADGE (µg/L)	1er PH (µg/L)	2º PH (µg/L)	BADGE (%)
1	0	0.0	59 607	0	0	59 607	38.9	-0.4	-0.38208	100.0
2	665	0.5	48 399	10 651	1 156	60 206	31.5	6.6	0.37945	81.0
3	1 410	1.0	34 159	19 906	5 701	59 766	22.1	12.7	3.37352	56.9
4	2 135	1.5	23 332	22 346	6 827	52 505	15.0	14.3	4.11528	38.5
5	2 845	2.0	14 415	22 752	10 339	47 506	9.1	14.6	6.42885	23.4
6	4 285	3.0	8 970	22 803	16 523	48 296	5.5	14.6	10.50264	14.2
7	5 695	4.0	3 814	18 201	20 640	42 655	2.1	11.6	13.21476	5.5
8	7 870	5.5	1 645	13 601	30 554	45 800	0.7	8.6	19.74572	1.8
9	11 515	8.0	1 112	7 811	36 075	44 998	0.4	4.8	23.38274	0.9
10	18 725	13.0	0	1 790	42 067	43 857	-0.4	0.8	27.33004	-1.0
11	28 795	20.0	0	0	43 006	43 006	-0.4	-0.4	27.94862	-1.0

(*) PH = producto de hidrólisis

$$[BADGE] = [BADGE]_0 \times \text{EXP}(-k_1 \times \text{tiempo})$$

Vida media del BADGE calculada con $k_1 =$

1.09 Días

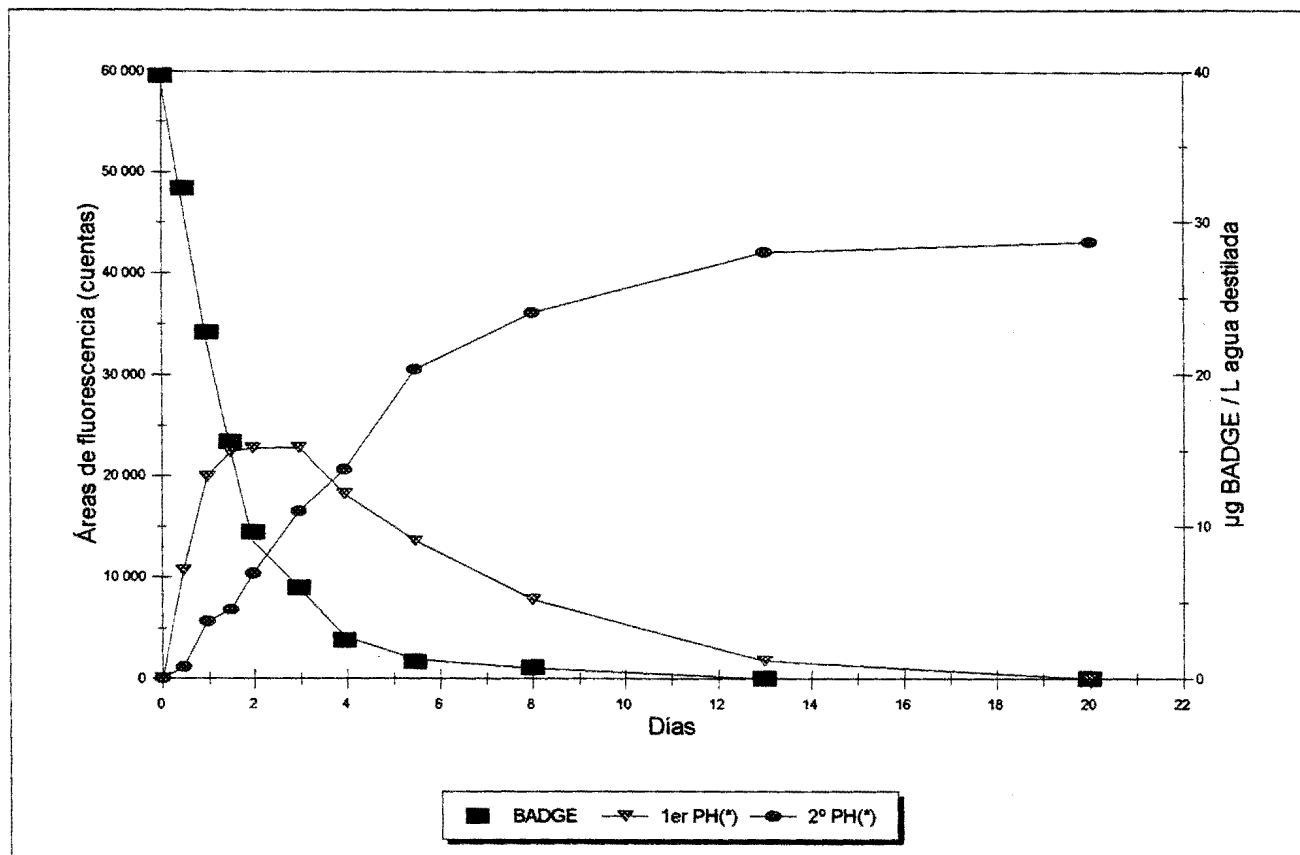


Fig. 14: Cinética de hidrólisis del BADGE en agua destilada.

BADGE: MÉTODO LARGO

Simulante: **Ácido acético 3%(P/V)**

Cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C

Run	Tiempo (min)	Tiempo (días)	BADGE Áreas	1er PH(*) Áreas	2º PH(*) Áreas	Total Áreas	BADGE (µg/L)	1er PH (µg/L)	2º PH (µg/L)	BADGE (%)
1	0	0.0	59 900	0	0	59 900	39.3	0.1	0.1	100.0
2	80	0.1	52 339	6 204	0	58 543	34.4	4.2	0.1	87.4
3	205	0.1	36 919	16 505	2 331	55 755	24.3	10.9	1.6	61.7
4	320	0.2	25 701	24 228	5 664	55 593	16.9	16.0	3.8	
5	530	0.4	10 768	23 326	16 777	50 871	7.1	15.4	11.1	18.2
6	635	0.4	8 656	22 251	18 786	49 693	5.8	14.7	12.4	14.6
7	810	0.6	3 357	17 940	24 846	46 143	2.3	11.8	16.4	5.8
8	930	0.6	3 189	15 628	29 196	48 013	2.2	10.3	19.2	5.5
9	1 430	1.0	0	6 385	36 203	42 588	0.1	4.3	23.8	0.2
10	1 730	1.2	0	4 868	41 292	46 160	0.1	3.3	27.1	0.2
11	2 075	1.4	0	2 017	43 346	45 363	0.1	1.4	28.5	0.2
12	2 900	2.0	0	0	42 041	42 041	0.1	0.1	27.6	0.2
14	11 005	7.6	0	0	44 094	44 094	0.1	0.1	29.0	0.2
15	14 090	9.8	0	0	43 716	43 716	0.1	0.1	28.7	0.2
16	31 180	21.7	0	0	45 448	45 448	0.1	0.1	29.9	0.2

(*) PH = producto de hidrólisis

$$[BADGE] = [BADGE]_0 \times \text{EXP}(-k_1 \times \text{tiempo})$$

Vida media del BADGE calculada con $k_1 =$

0.14 Días

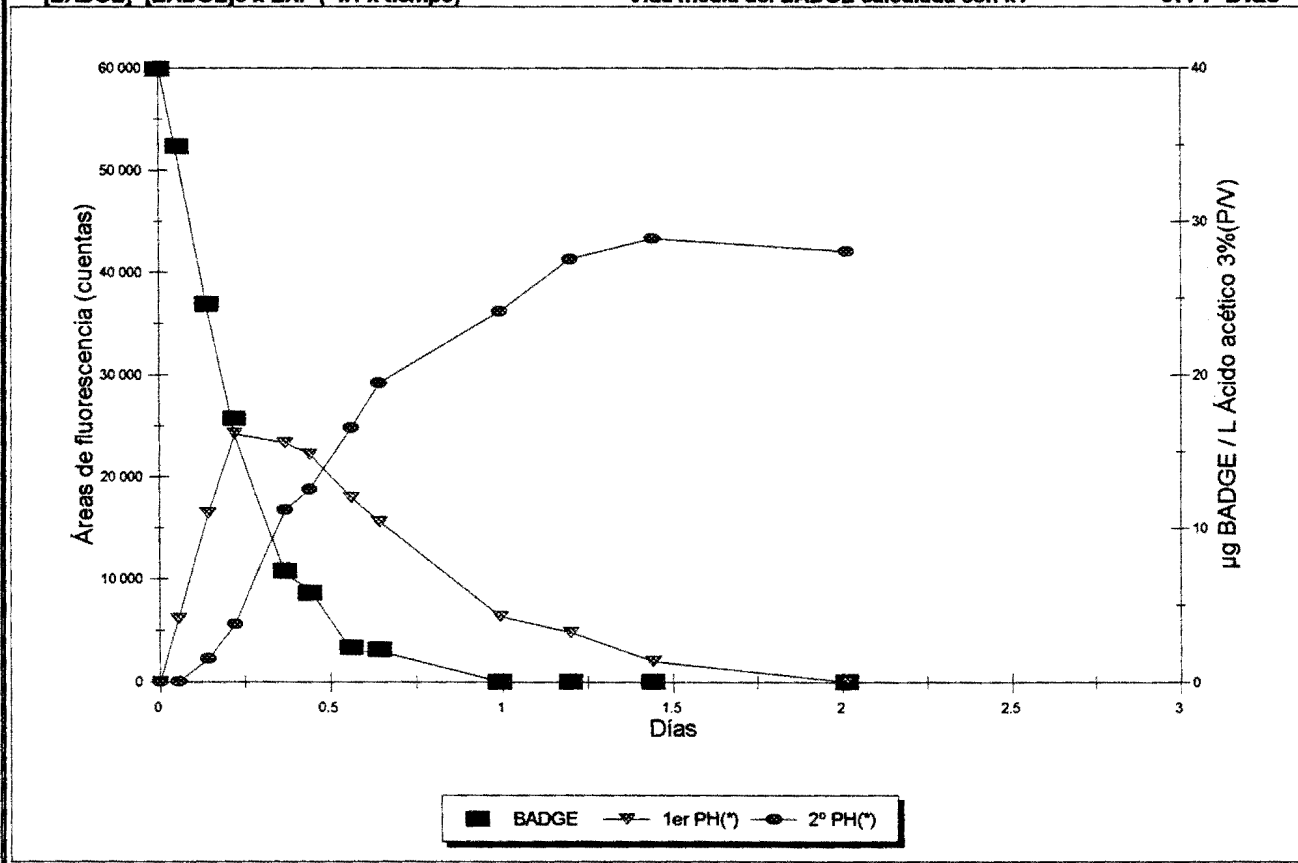


Fig. 15: Cinética de hidrólisis del BADGE en ácido acético 3% (p/v).

BADGE: MÉTODO LARGO

Simulante: Etanol 15%(V/V)

Cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C

Run	Tiempo (min)	Tiempo (días)	BADGE Áreas	1er PH(*) Áreas	2º PH(*) Áreas	Total Áreas	BADGE (µg/L)	1er PH (µg/L)	2º PH (µg/L)	BADGE (%)
1	0	0.0	52 210	0	0	52 210	39.8	-0.8	-0.8	100.0
2	735	0.5	49 379	7 498	0	56 877	37.6	5.1	-0.8	94.5
3	1 425	1.0	34 499	13 286	1 889	49 674	26.1	9.6	0.7	65.4
4	2 145	1.5	26 483	17 225	2 841	46 549	19.8	12.6	1.5	49.8
5	2 840	2.0	23 423	20 374	5 587	49 384	17.5	15.1	3.6	43.8
6	4 380	3.0	12 290	19 411	9 813	41 514	8.8	14.3	6.9	22.1
7	5 705	4.0	6 909	17 020	11 560	35 489	4.6	12.5	8.2	11.6
8	7 885	5.5	3 238	14 277	17 511	35 026	1.8	10.3	12.9	4.4
9	11 530	8.0	2 181	9 341	23 791	35 313	0.9	6.5	17.7	2.4
10	18 645	12.9	0	3 222	28 438	31 660	-0.8	1.7	21.4	-1.9
11	29 035	20.2	0	0	31 823	31 823	-0.8	-0.8	24.0	-1.9

(*) PH = producto de hidrólisis

$$[BADGE] = [BADGE]_0 \times \exp(-k_1 \times \text{tiempo})$$

Vida media del BADGE calculada con $k_1 =$

1.35 Días

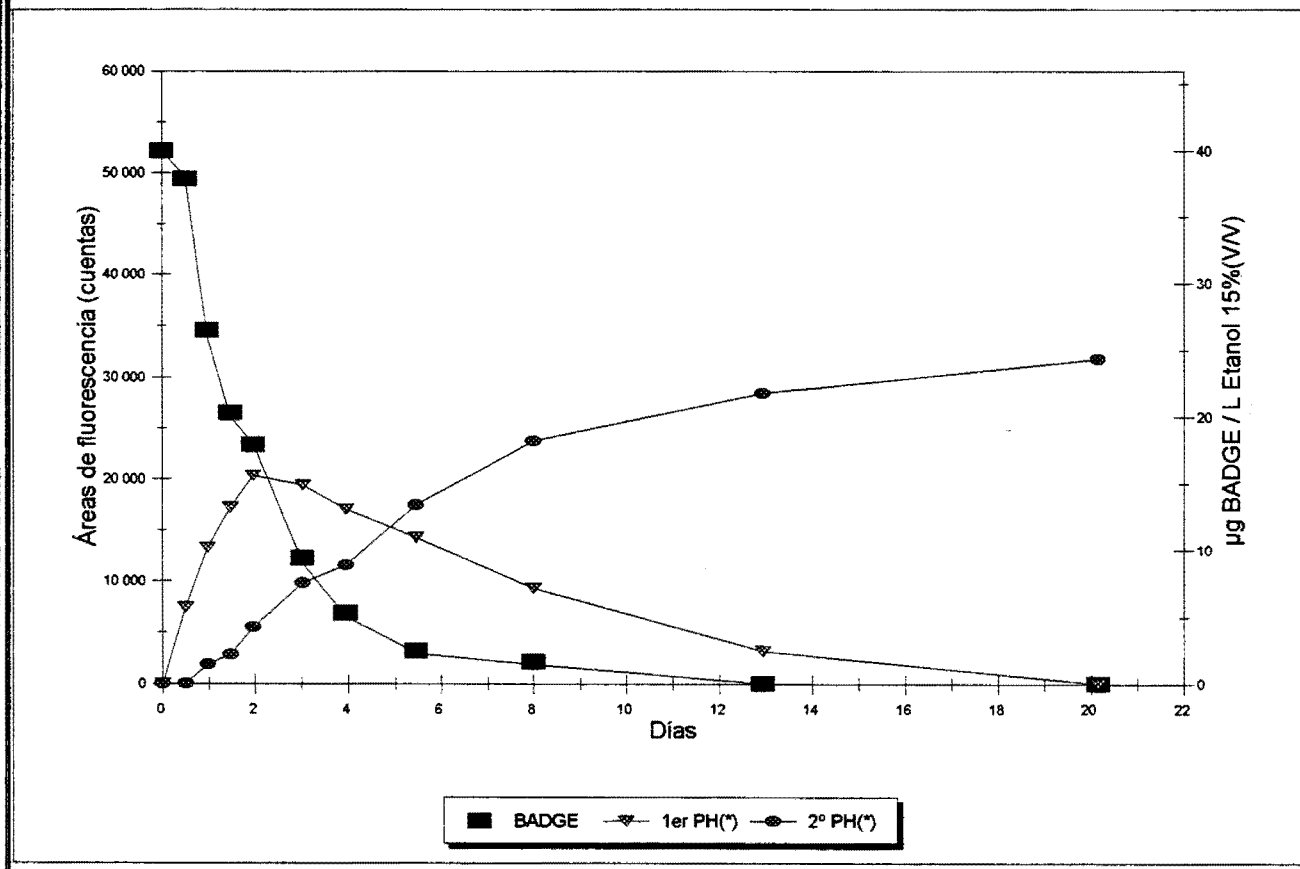


Fig. 16: Cinética de hidrólisis del BADGE en etanol 15% (v/v).

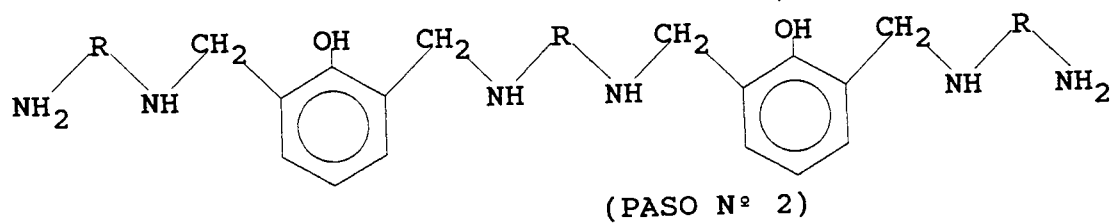
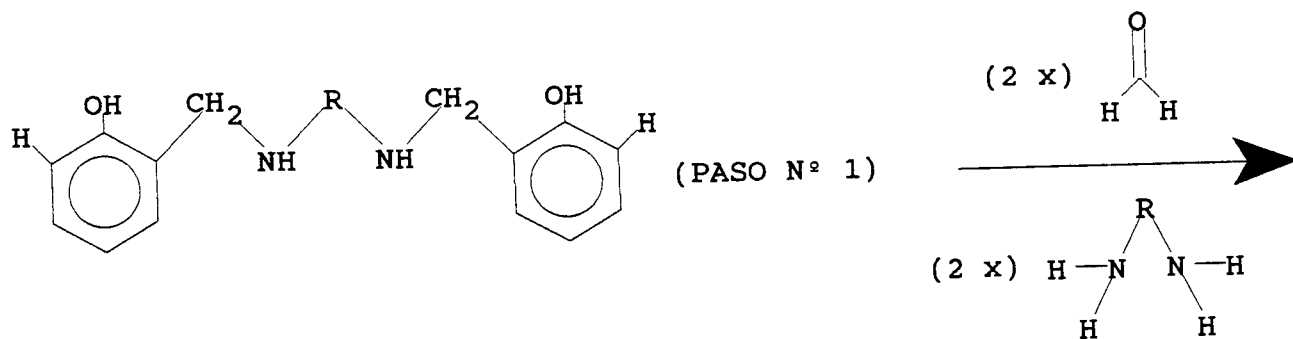
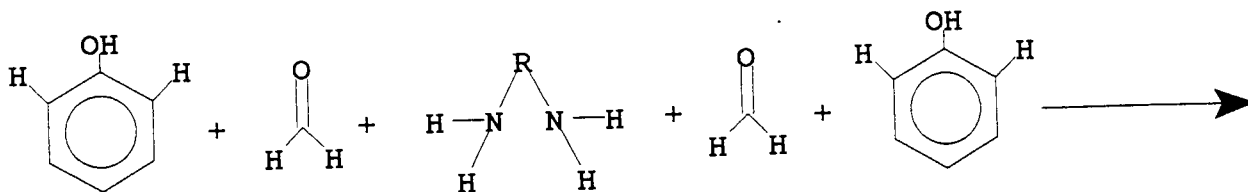


Fig. 17: Proceso de síntesis química para la obtención de un producto de Mannich.

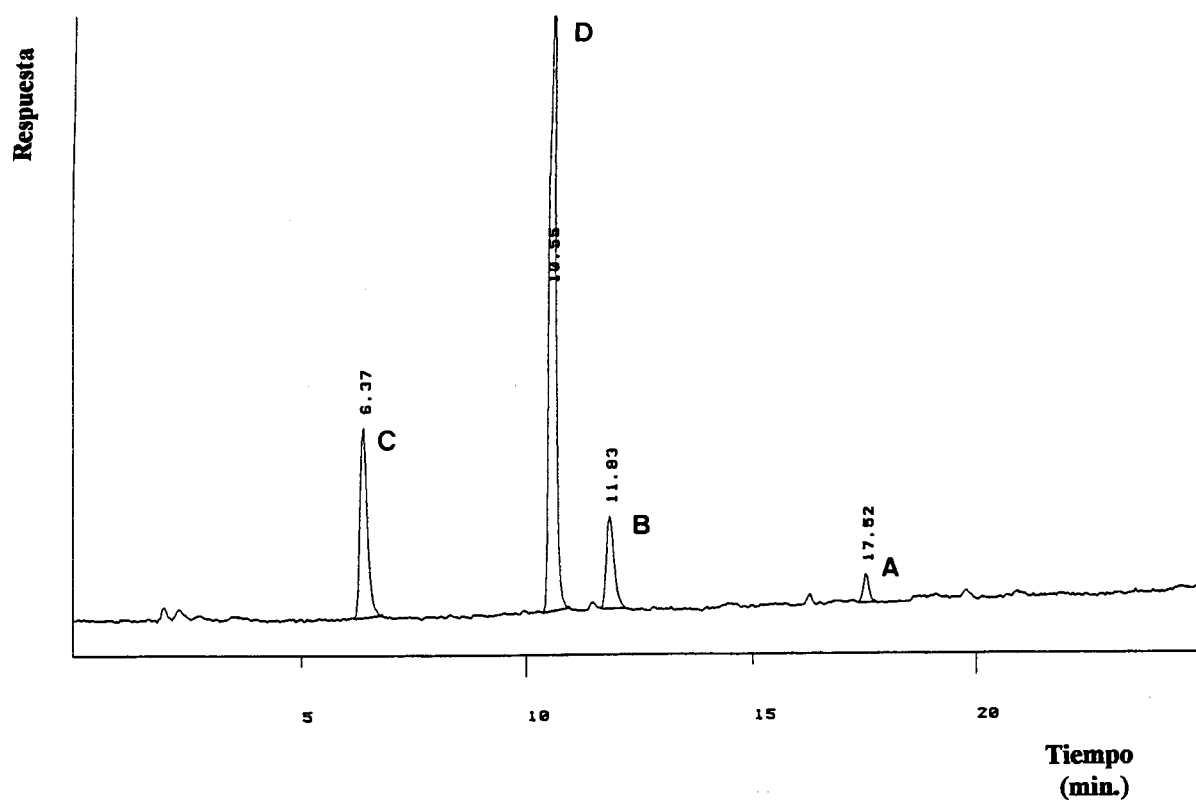


Fig. 18: Cromatograma donde se separan el BADGE (A), sus dos PH (B = 1^{er} producto de hidrólisis, C = 2^o producto de hidrólisis) y el bisfenol A (D) por el Método Largo.

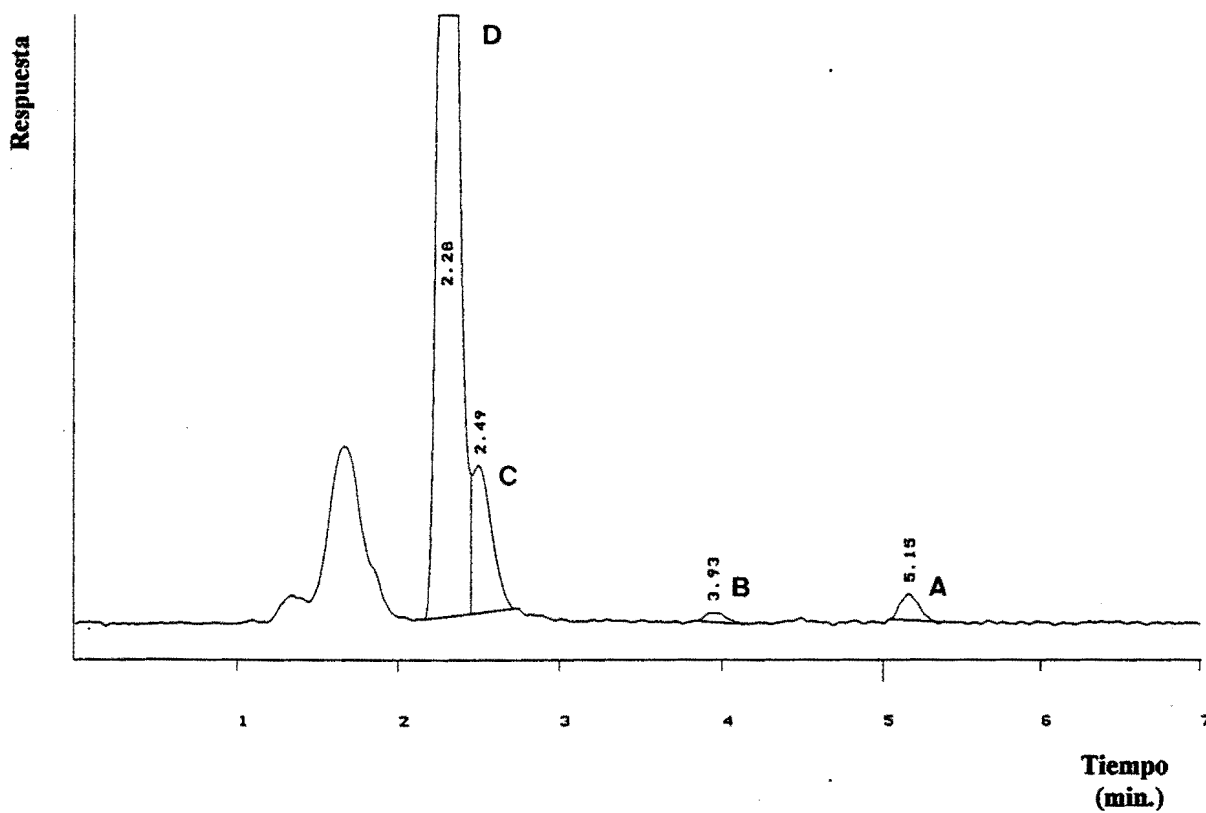


Fig. 19: Cromatograma de una mezcla de BADGE (A), sus dos PH (B = 1^{er} producto de hidrólisis, C = 2^o producto de hidrólisis) y el bisfenol A (D) por el Método Corto.

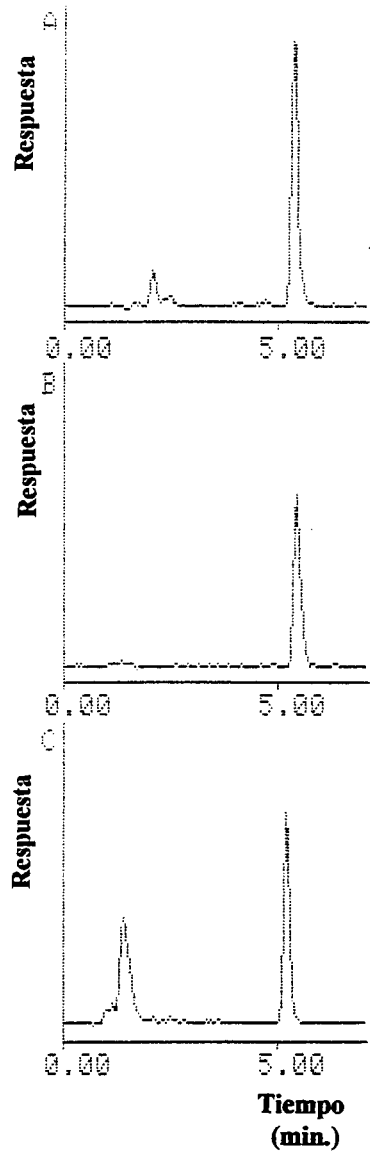


Fig. 20: Cromatogramas de tres soluciones patrón de 20 $\mu\text{g/L}$ de BADGE por el Método Corto en ácido acético 3% (p/v) (A), etanol 15%(v/v) (B) y agua destilada (C).

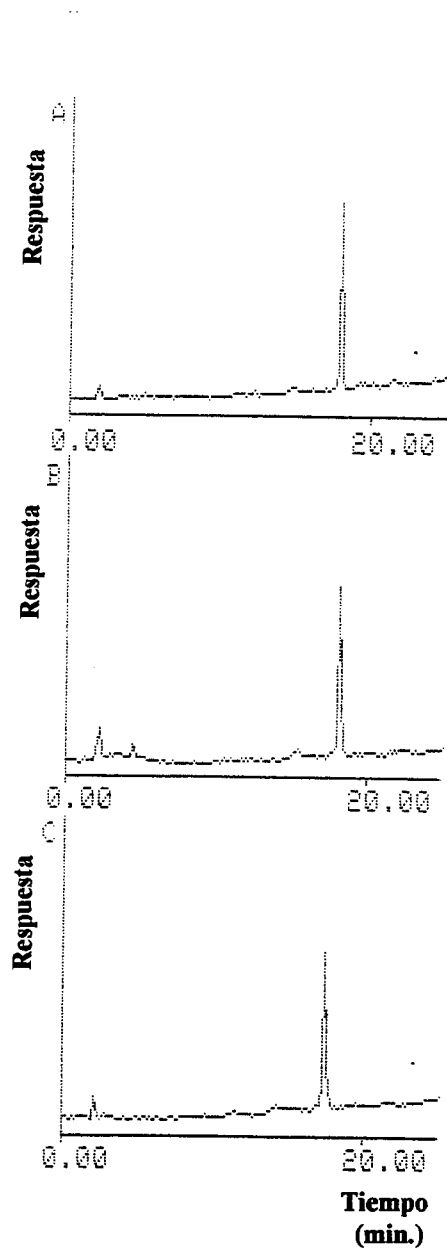


Fig. 21: Cromatogramas de tres soluciones patrón de 20 $\mu\text{g/L}$ de BADGE por el Método Largo en ácido acético 3% (p/v) (A), etanol 15%(v/v) (B) y agua destilada (C).

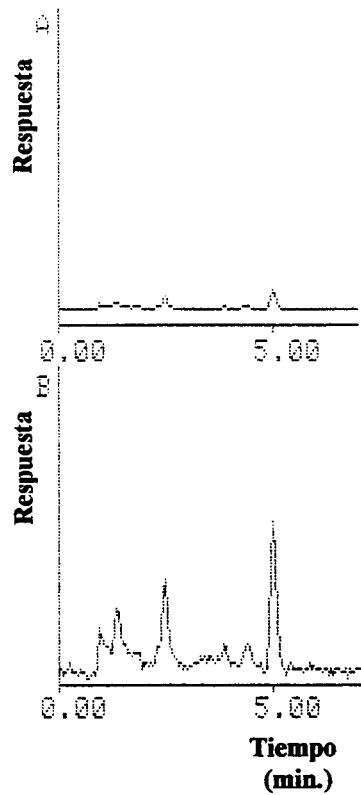


Fig. 22: Relación señal-ruido en un cromatograma de 1.5 $\mu\text{g} / \text{L}$ de BADGE en agua destilada (A) y en el mismo cromatograma con una atenuación 8 veces menor (B).

DISK FILE: 864820U3.RAW *

PEAK WIDTH: 6

ATTENUATION: 4.0

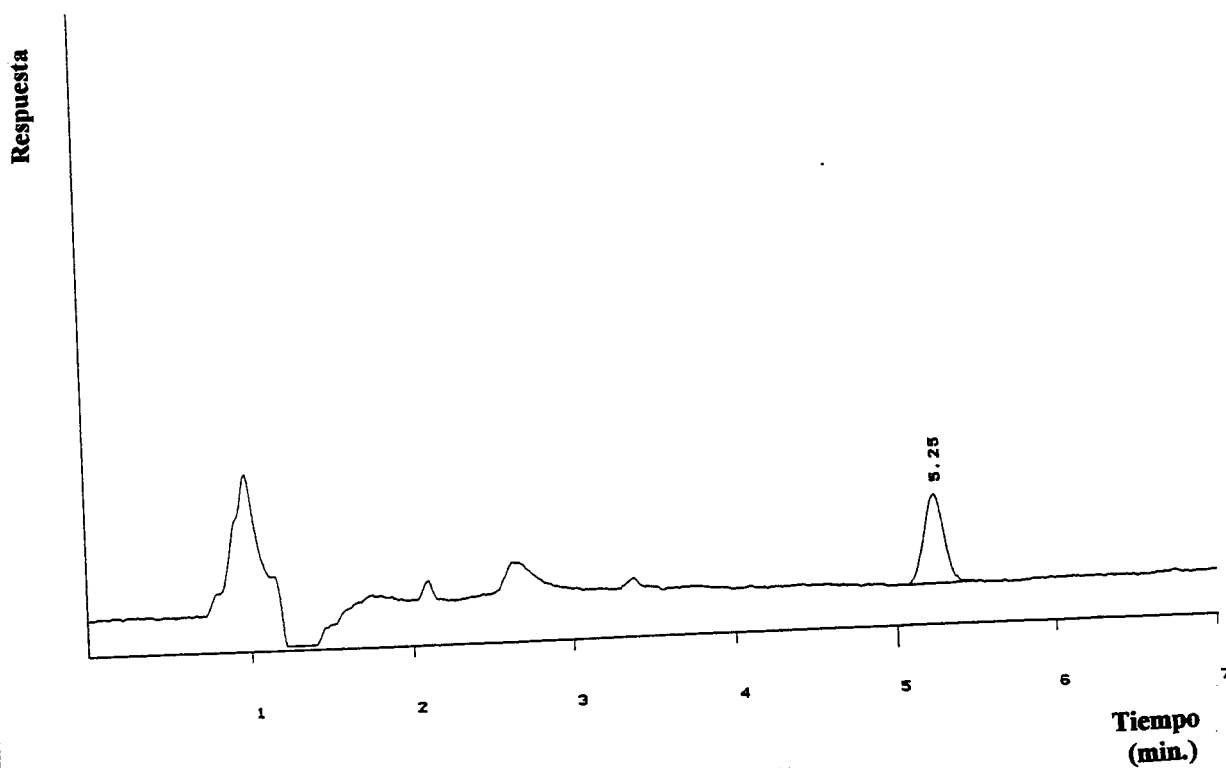


Fig. 23a: Cromatograma de 20 $\mu\text{g/L}$ de BADGE en agua destilada obtenido con el detector ultravioleta.

DISK FILE: BMA020U2.RAW

PEAK WIDTH: 6

ATTENUATION: 4.0

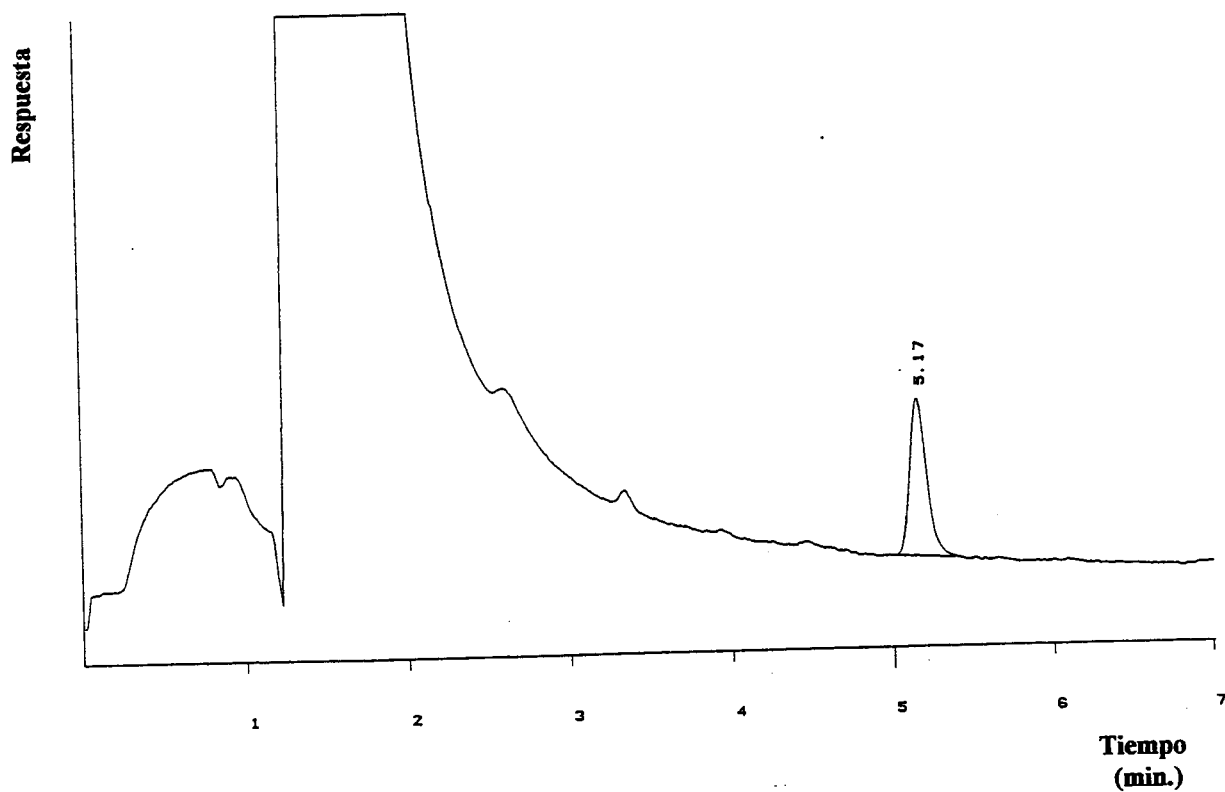


Fig. 23b: Cromatograma de 20 $\mu\text{g/L}$ de BADGE en ácido acético 3%(p/v) obtenido con el detector ultravioleta.

DISK FILE: BGE020U3.RAW

PEAK WIDTH: 6

ATTENUATION: 4.0

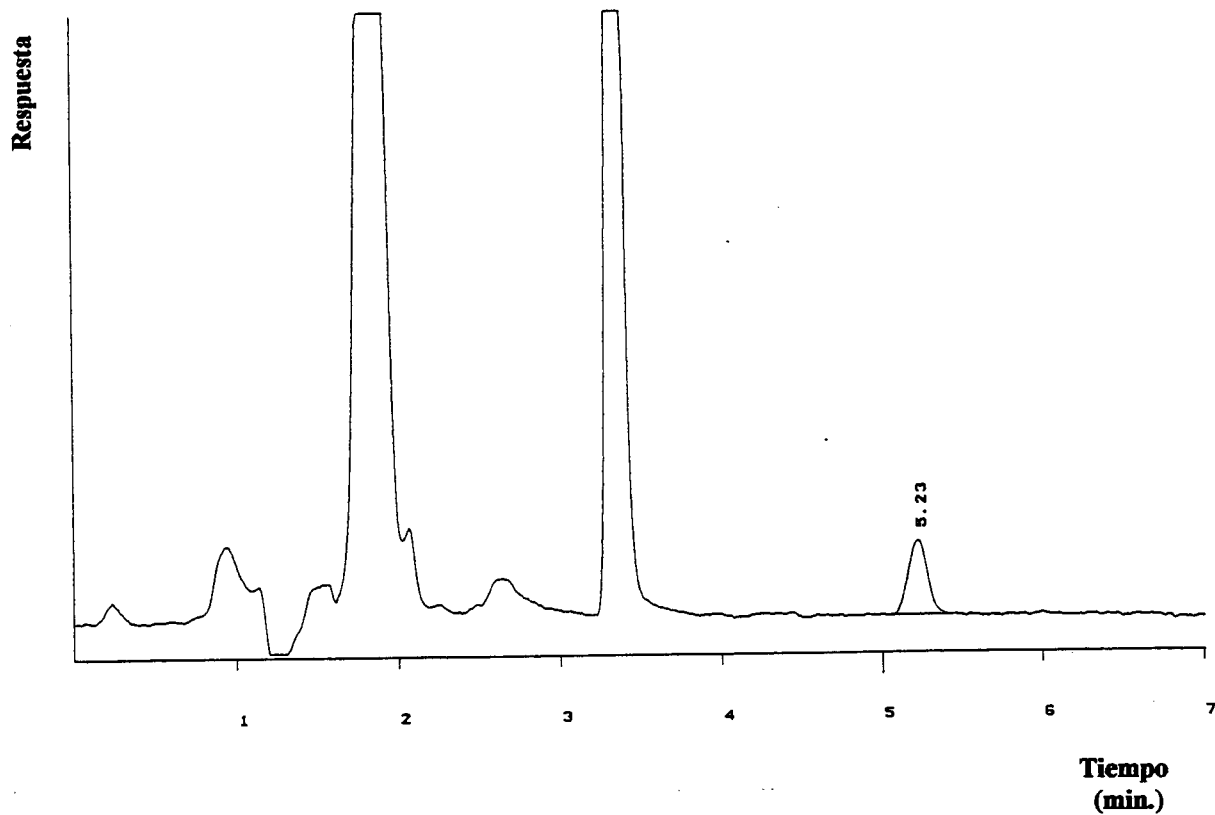


Fig. 23c: Cromatograma de 20 $\mu\text{g/L}$ de BADGE en etanol 15%(v/v) obtenido con el detector ultravioleta.

DISK FILE: RMIZA2FZ.RAW

PEAK WIDTH: 6

ATTENUATION: 4.0

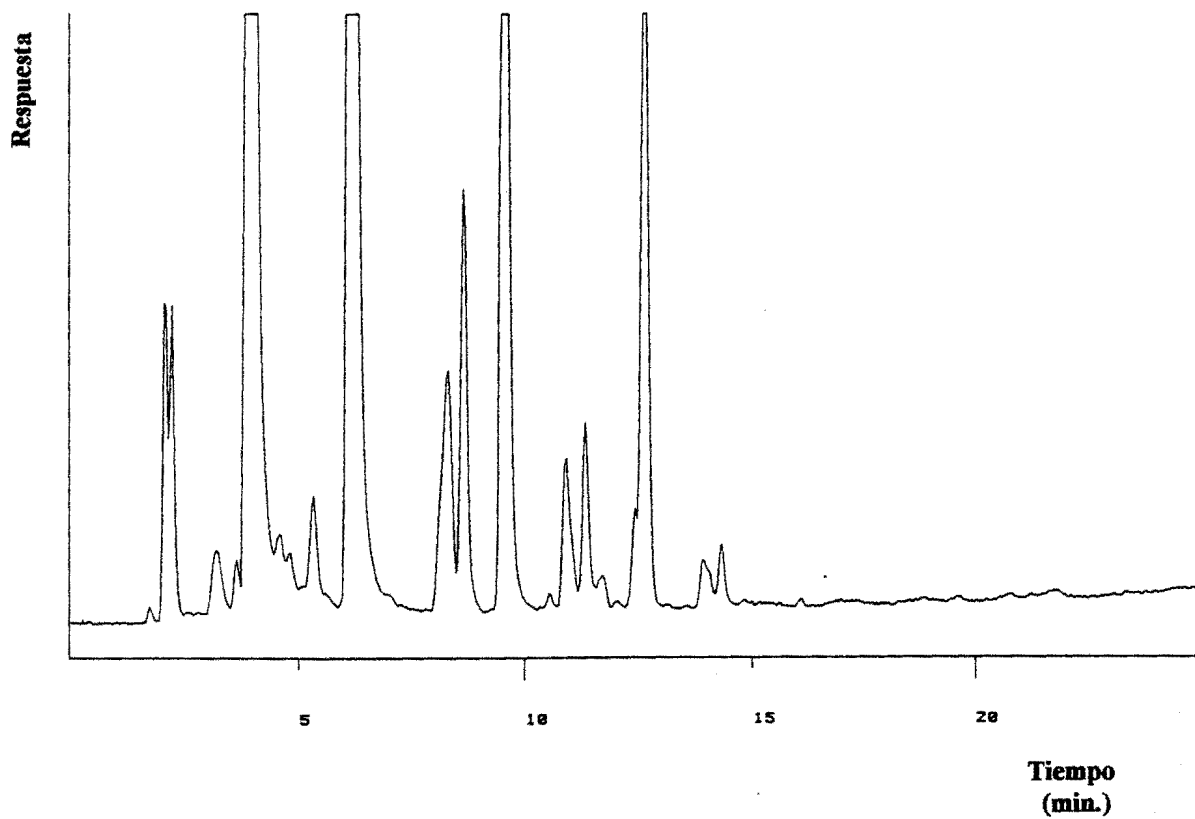


Fig. 24: Cromatograma de la migración del polímero LAB 958 en ácido acético 3%(v/v) (10 días a 40°C)

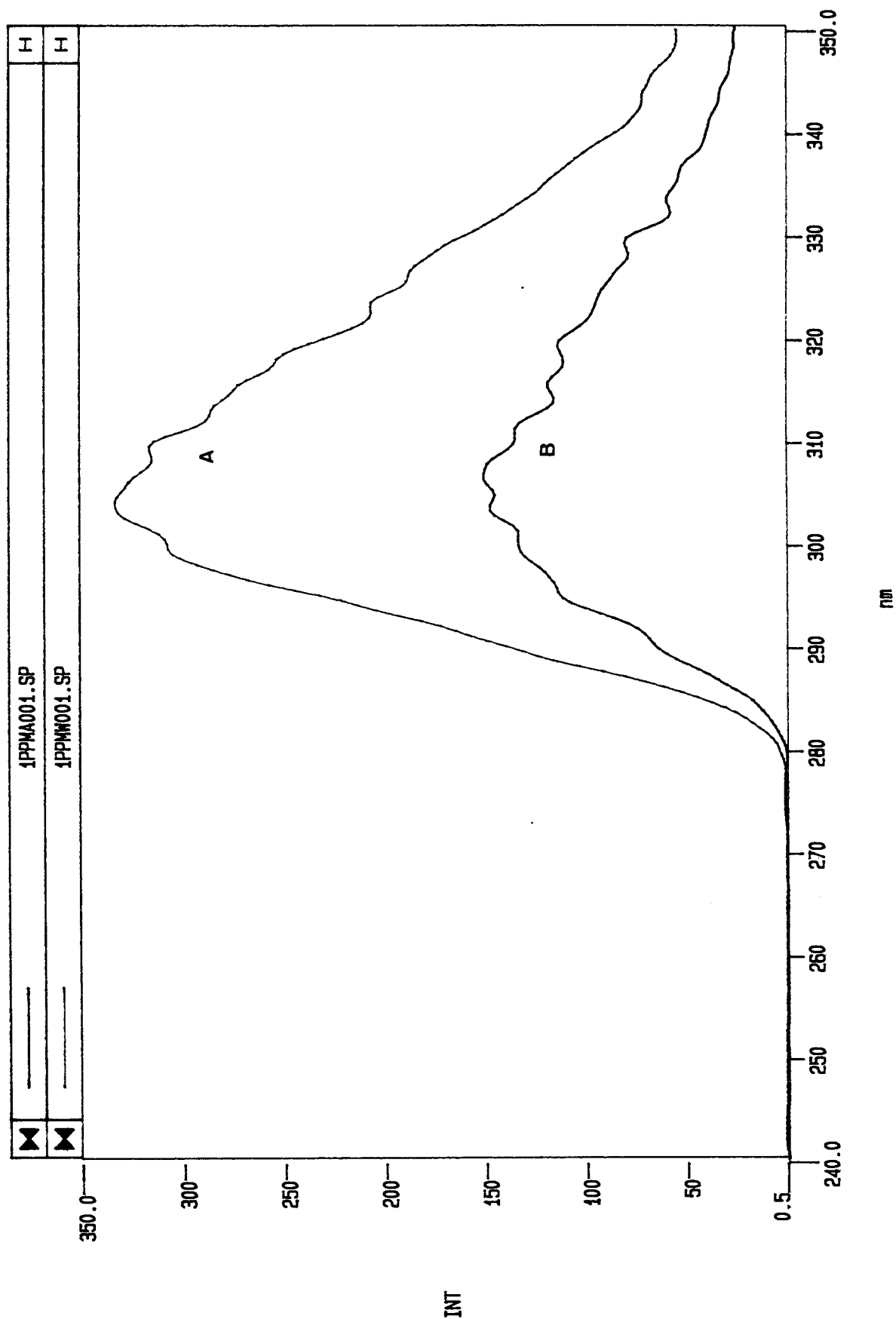


Fig. 25: Espectros de emisión de sendas soluciones de 1mg/L de BADGE en agua destilada (A) y en ácido acético 3% (p/v) (B) respectivamente.

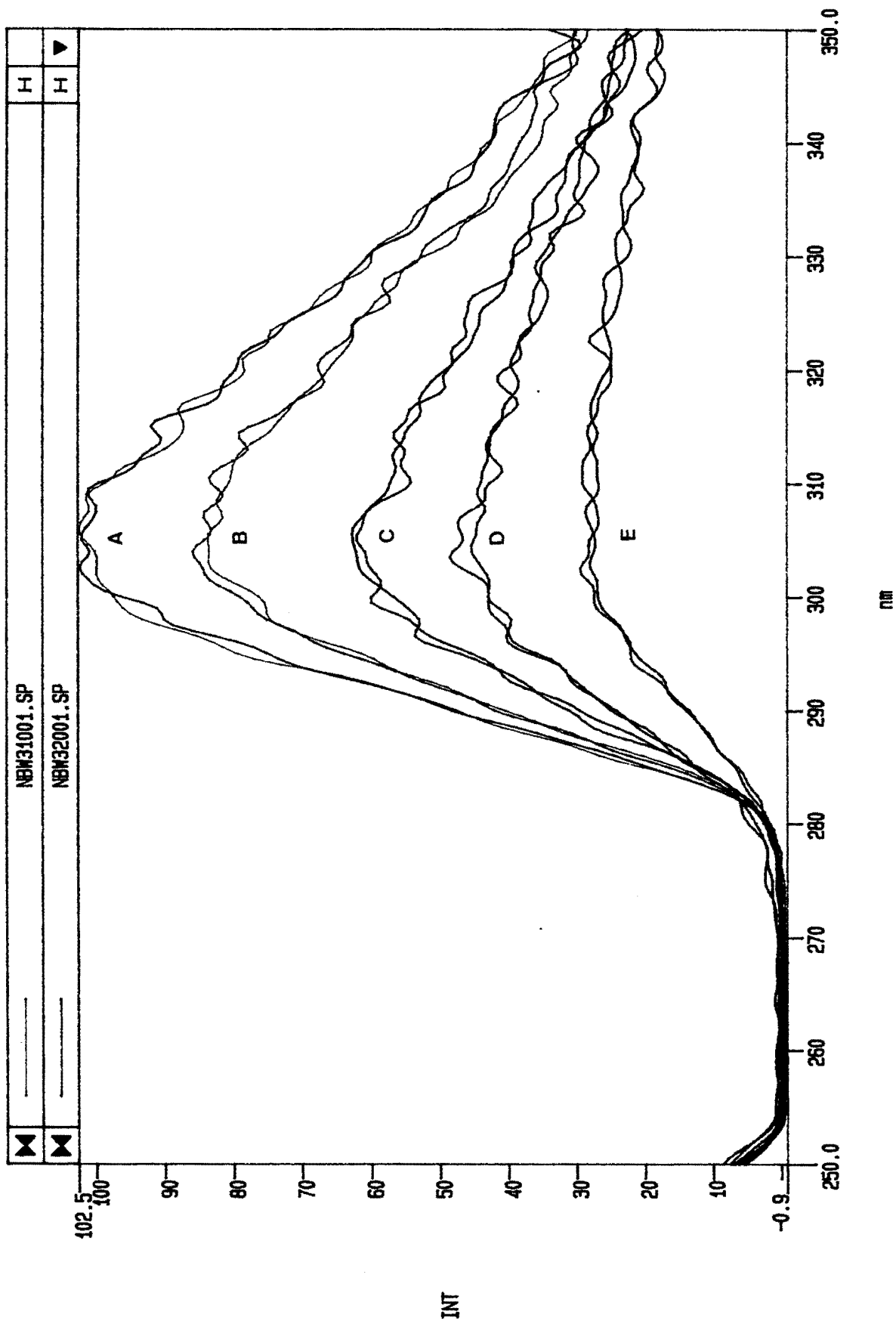


Fig. 26a: Escala patrón de BADGE en agua destilada por espectrofluorimetría: solución de 40 $\mu\text{g/L}$ (A), solución de 30 $\mu\text{g/L}$ (B), solución de 20 $\mu\text{g/L}$ (C), solución de 10 $\mu\text{g/L}$ (D), solución de 5 $\mu\text{g/L}$ (E).

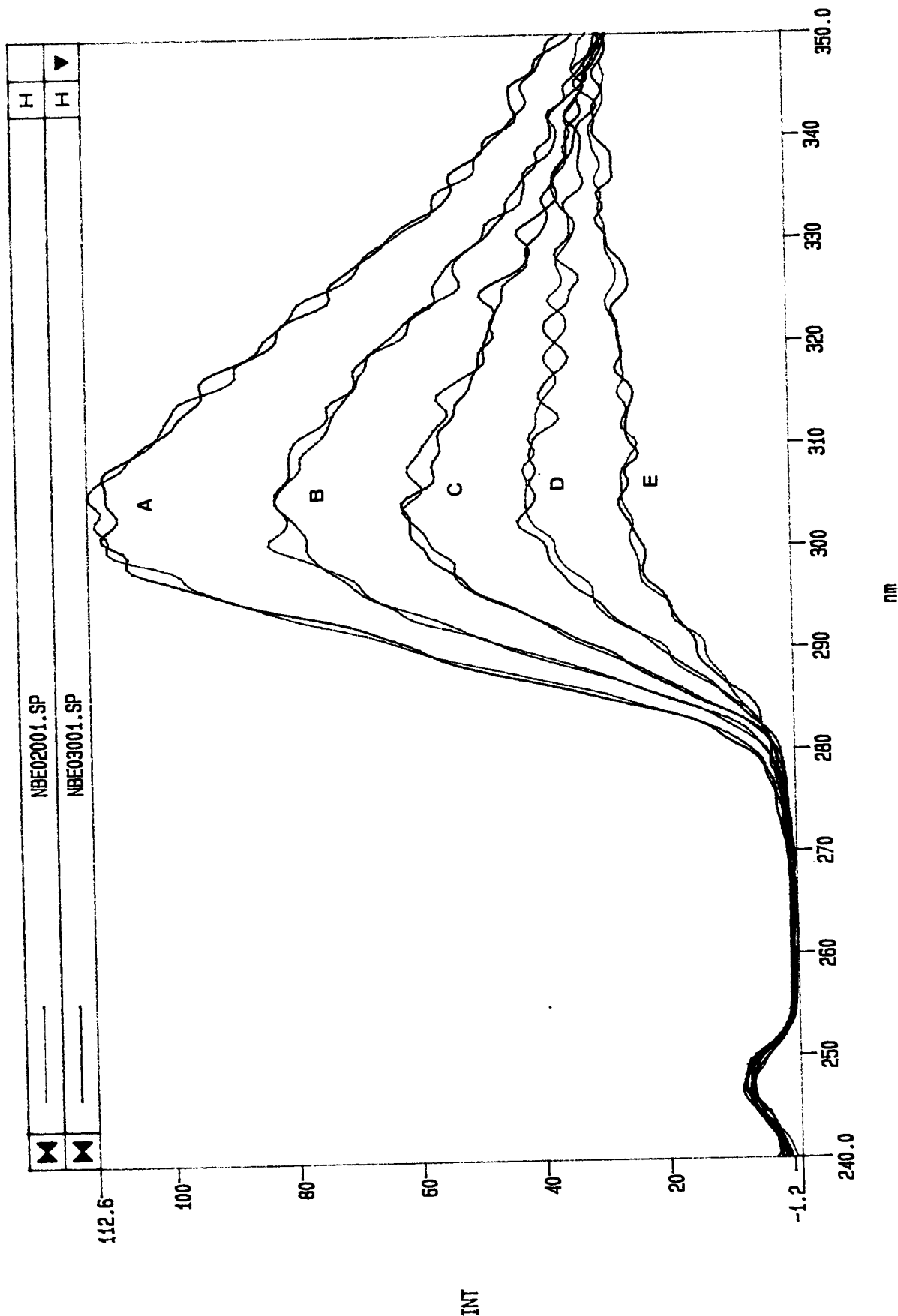


Fig. 26b: Escala patrón de BADGE en etanol 15%(v/v) por espectrofluorimetría: solución de 40 µg/L (A), solución de 30 µg/L (B), solución de 20 µg/L (C), solución de 10 µg/L (D), solución de 5 µg/L (E).

BADGE: MÉTODO LARGO**Simulante: Agua Destilada**

Resultado de la regresión:

Constante	3.588925
Err estándar de est.Y	0.289112
R cuadrado	0.974235
Núm.de observaciones	9
Grado de libertad	7

Coefficiente(s) X	-0.63709	k1	0.64
Err estándar de coef.	0.039159	t 1/2 (Días)	1.09

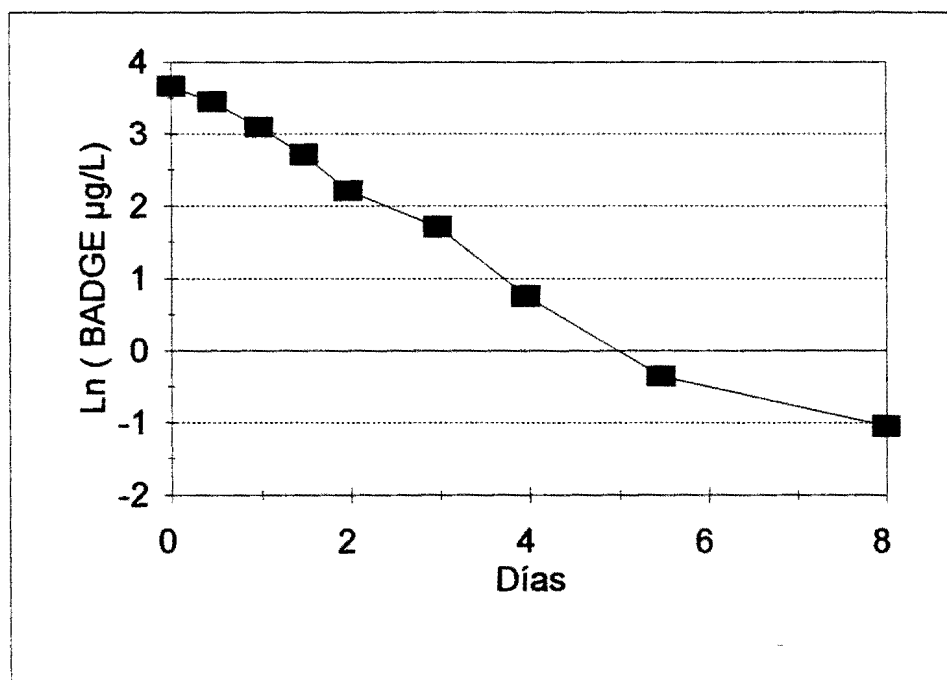


Fig. 27: Datos de la cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C en agua destilada usando la ecuación (2).

BADGE: MÉTODO LARGO**Simulante: Ácido acético 3%(W/V)**

Resultado de la regresión:

Constante	3.797474
Err estándar de est. Y	0.139449
R cuadrado	0.987573
Núm. de observaciones	8
Grado de libertad	6

Coefficiente(s) X	-4.85438	k1	4.85
Err estándar de coef.	0.222305	t 1/2 (Días)	0.14

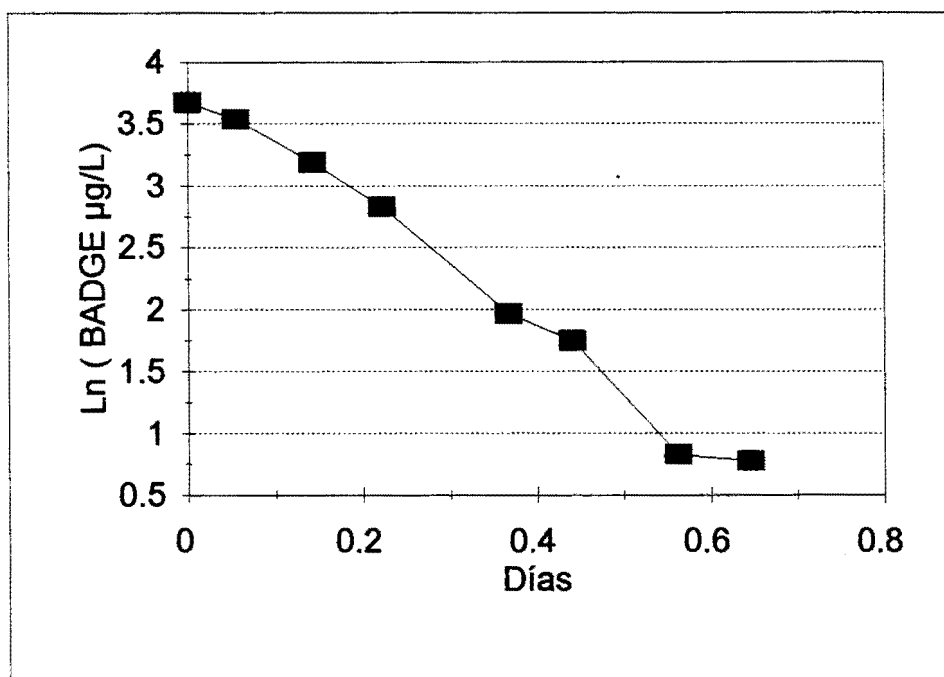


Fig. 28: Datos de la cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C en ácido acético 3%(p/v) usando la ecuación (2).

BADGE: MÉTODO LARGO**Simulante: Etanol 15%(V/V)**

Resultado de la regresión:

Constante	3.740735
Err estándar de est.Y	0.207528
R cuadrado	0.979342
Núm.de observaciones	9
Grado de libertad	7

Coefficiente(s) X	-0.5124	k1	0.51
Err estándar de coef.	0.028128	t 1/2 (Días)	1.35

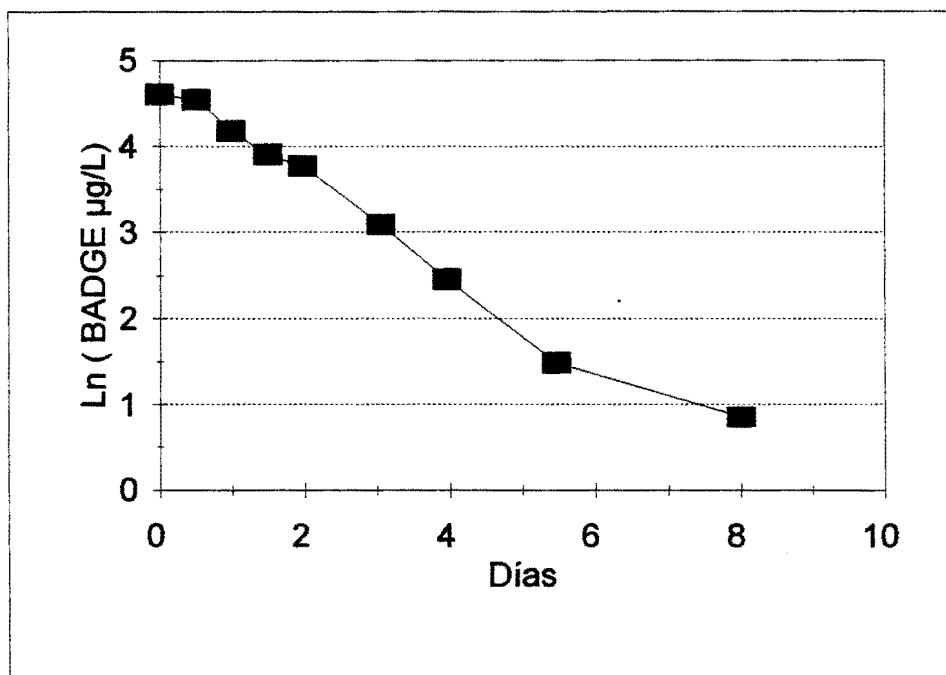


Fig. 29: Datos de la cinética de hidrólisis del BADGE a 40°C en etanol 15%(v/v) usando la ecuación (2).

Respuesta

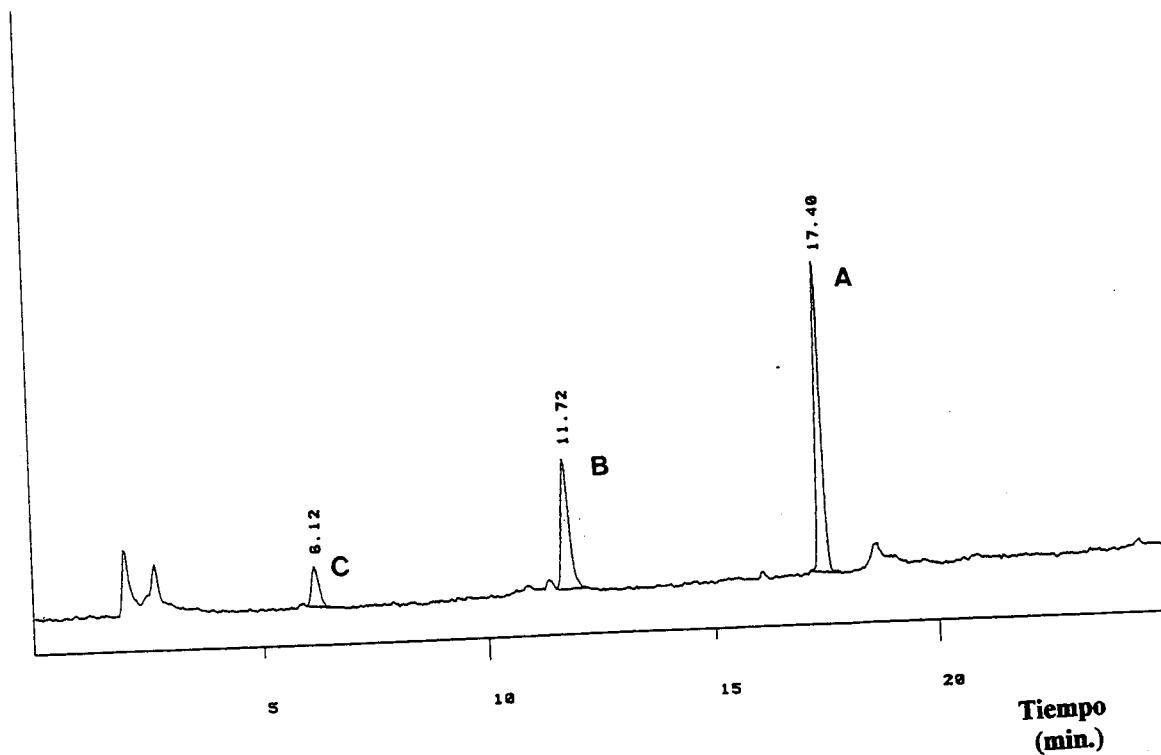


Fig. 30: Cromatograma de 40 $\mu\text{g} / \text{L}$ de BADGE en agua destilada inyectado al tiempo de vida media del BADGE por HPLC (Método Largo) donde se distinguen el BADGE (A) y los dos PH (B = 1^{er} producto de hidrólisis, C = 2^o producto de hidrólisis).

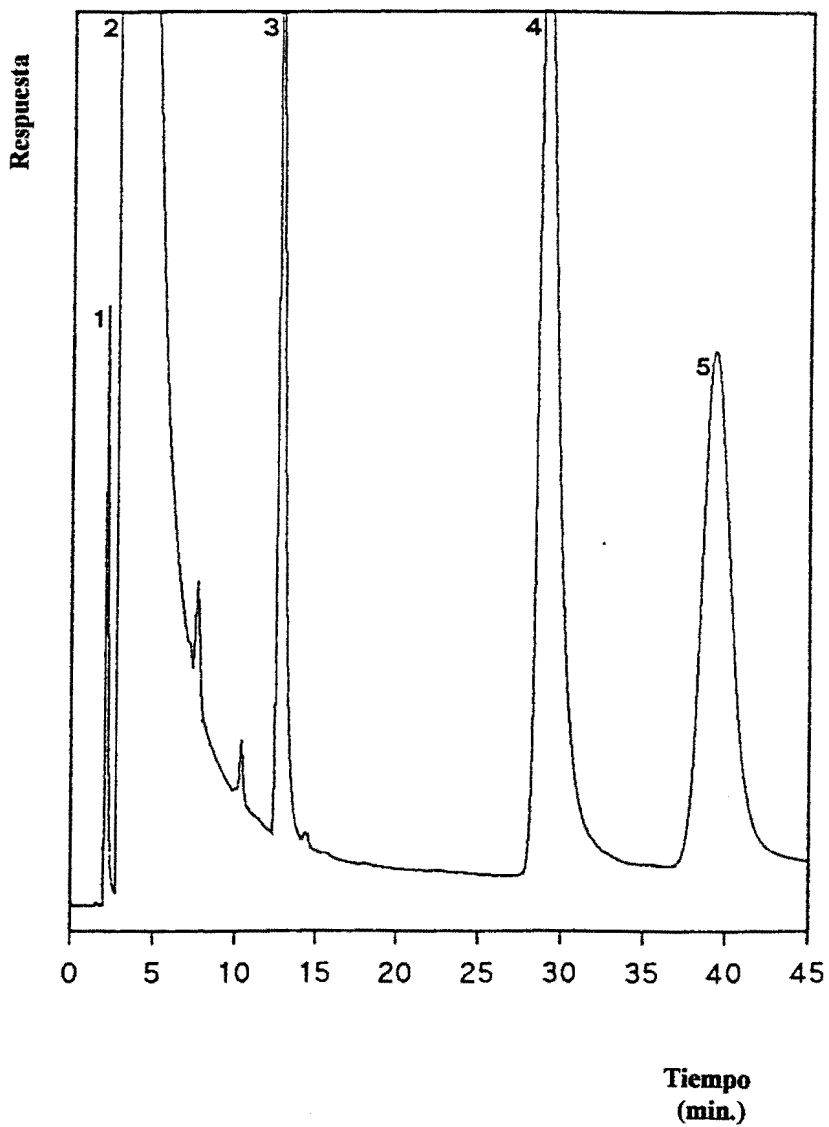


Fig. 31: Cromatograma obtenido por GC-FID de un patrón de calibración que contiene formol (1), solvente (2), y alcohol amílico usado como estándar interno (3), fenol (4) y alcohol bencílico (5).

APÉNDICE DE ECUACIONES:

$$[\text{BADGE}] = [\text{BADGE}]_0 \exp(-k_1 t) \quad \text{ec. (1)}$$

$$\ln [\text{BADGE}] = (\ln [\text{BADGE}]_0) - k_1 t \quad \text{ec. (2)}$$

$$[\text{1er PH}] = [\text{BADGE}]_0 (k_1/(k_2 - k_1)) (\exp(-k_1 t) - \exp(-k_2 t)) \quad \text{ec. (3)}$$

$$[\text{2° PH}] = [\text{BADGE}]_0 (1 - (k_2/(k_2 - k_1)) (\exp(-k_1 t)) + (k_1/(k_2 - k_1)) (\exp(-k_2 t)) \quad \text{ec. (4)}$$

$$C \times R = A \quad \text{ec. (5)}$$

$$A_{\text{BADGE}}/R_{\text{BADGE}} + A_{\text{1PH}}/R_{\text{1PH}} + A_{\text{2PH}}/R_{\text{2PH}} = 40/340 \quad \text{ec. (6)}$$

$$\text{Magnitud P} = \overline{X} / \text{Sum } (X_i - \overline{X})^2 \quad (\text{Sum} = \text{sumatorio})$$

$$\text{Magnitud W} = 1 + 1/n + \text{magnitud P} \quad (n = \text{n° de puntos de calibración})$$

$$\text{Magnitud N} = \text{Sum } (X_i - \overline{X}) \cdot (Y_i - \overline{Y}) / \text{Sum } (X_i - \overline{X})^2$$

Las actividades científicas realizadas por la Comunidad Económica Europea han sido promovidas en aquellas áreas de conocimiento consideradas de mayor interés para todos los Estados Miembros. Una de estas áreas se incluye en el programa denominado "Measurement and Testing". Nuestro laboratorio ha sido invitado a participar en un proyecto de investigación enmarcado en dicho programa con el fin de establecer un método de análisis para determinar bisfenol A diglicidil éter (BADGE). El desarrollo de métodos de medida para componentes tóxicos que pueden ser ingeridos con los alimentos, como consecuencia de la migración desde el material de envasado al producto alimenticio hace posible la realización de controles de calidad de esos materiales. Y, en definitiva, supone una mejora de la calidad de vida.

Se han propuesto dos métodos alternativos basados en RP-HPLC con detección de fluorescencia para cuantificar y determinar el bisfenol A diglicidil éter: monómero utilizado en la fabricación de resinas epoxi (con propiedades tóxicas manifiestas: carcinogenicidad, mutagénesis). Estas resinas se utilizan como recubrimientos de materiales plásticos de envases o grandes contenedores destinados a entrar en contacto con alimentos. La determinación se ha realizado tanto en muestras como en los simulantes acuosos de alimentos propuestos por la Legislación Comunitaria. Por otro lado, en las muestras se han hecho los ensayos de migración siguiendo las pautas que aconseja la CEE.

Con uno de los métodos establecidos pueden caracterizarse y cuantificarse los productos de hidrólisis del BADGE que se han determinado una vez estudiada la cinética de hidrólisis en los simulantes acuosos de alimentos.

Los dos métodos cromatográficos establecidos para determinar BADGE y sus productos de hidrólisis son adecuados, por sus características analíticas, para ser propuestos como métodos CEN (Comité Europeo de Normalización). Todas las rectas de calibrado tienen coeficientes de correlación mayores que 0.997, los límites de detección intra-laboratorio son inferiores a 3 (μg BADGE)/L y los errores estándar del procedimiento menores que 1.5 (μg BADGE)/L. Las recuperaciones son superiores al 89% y las desviaciones estándar dan valores más bajos del 6%.

FE DE ERRATAS

Páginas	Correcciones
xvii	En la línea 4 en lugar de poner Fig. 2: "Estructura..." debe decir "Esquema de las industrias implicadas en la obtención de materiales plásticos para uso alimentario".
xviii	En la línea 18 debe sustituirse "Método Corto" por "Método Largo". En la línea 19 debe suprimirse "por el Método Largo".
44	En la línea 18 debe sustituirse "10.3.2." por "I.11.3.2.".
53	En la línea 13, después del paréntesis debe incluirse "Técnica de ionización APcI".
60	La línea 19 debe sustituirse por: "Barrido de emisión desde 240 nm a 400 nm".
61	En la línea 9 la palabra "área" debe sustituirse por "intensidad".
64	La ecuación que figura en la tercera línea debe sustituirse por: $[2^\circ \text{PH}] = [\text{BADGE}]_0 (1 - (k_2/(k_2 - k_1)) \exp(-k_1 t) + (k_1/(k_2 - k_1)) \exp(-k_2 t)) \quad (4)$
68	En la línea 19, después de la palabra "patrón" debe añadirse: "fenol, formaldehído y alcohol bencílico".
101	En la línea 22 debe sustituirse "BADGE" por "BFDGE".
142	En el pie de página debe hacerse la misma corrección hecha en la página xvii.
179	En la quinta línea debe de corregirse toda la fórmula de la misma forma que en la página 64. La expresión "LAB 985" debe corregirse en todo el texto; en concreto figura en las páginas: 56, 57, 58, 59, 74 y 170 por "LAB 889".