

Aplicación de recubrimientos activos sobre queso: estudio de la difusión y la efectividad de natamicina
González Forte L.¹, Bértola N.², Amalvy J.^{1,3,4}

¹ Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), (CCT La Plata CONICET-UNLP), Diag. 113 y 64. La Plata, Bs. As., Argentina.

² Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, CCT La Plata CONICET-UNLP), 47 y 116, La Plata, Bs. As., Argentina.

³ Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CICPBA). Cno. Gral. Belgrano y 526, La Plata, Bs. As., Argentina

⁴ Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Materiales (CITEMA), Facultad Regional LP (UTN) 60 y 124. La Plata, Bs. As., Argentina.

Dirección de e-mail: lucia.g.forte@gmail.com

RESUMEN

En la última edición del CICyTAC se presentó el desarrollo de películas compuestas de almidón de maíz con alcohol polivinílico (PVA) y un poliuretano (PU) sintetizado en el laboratorio con el fin de obtener películas con un 70% de almidón. En este trabajo se presentan ensayos con queso Tybo comercial tipo barra marca “Cayelac” como sistema testigo. El CAA establece que la natamicina es un conservante permitido en superficie de quesos pero no debe ser detectable a 2 mm de profundidad. Se estudió el espesor final de los recubrimientos luego de la inmersión (3 capas) de cubos de queso en las dispersiones concentradas conteniendo colorante. Luego se llevó a cabo la evaluación de la eficiencia de los recubrimientos conteniendo 1% de natamicina sobre queso Tybo almacenados a 13°C y 80% de humedad relativa. Se encontró que el recubrimiento Almidón/PVA/PU en relación 70:25:5 tuvo un efecto antifúngico sin la presencia de natamicina y que los recubrimientos con natamicina mostraron una mejora en el tiempo de conservación de un 60%. Además se estudió la difusión de natamicina hacia la masa del queso al recubrirlo con mezclas con 1% de natamicina. En todos los casos se encontró natamicina en la masa y se pudo cuantificar.

122

Palabras Clave: Películas activas, almidón, natamicina, queso.

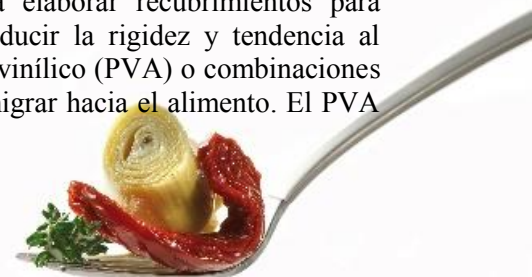
ABSTRACT

In the last edition of CICyTAC the development of composite films of starch, poly(vinyl alcohol) (PVA) and a polyurethane (PU) dispersion pursuing the goal of maximizing the starch content (70 wt. %) was presented. In this work, three studies with Tybo cheese “Cayelac” are presented using the cheese as a model system. The CAA (Código Alimentario Argentino) establishes natamycin as an allowed food preservative in the surface of cheeses, but it can't be detectable at 2 mm into the cheese. The coating thickness was studied by immersion of cheese cubes in concentrated dispersions with a colouring substance (3 layers). It was also evaluated the coating efficiency with 1% natamycin on Tybo cheese stored at 13°C and 80% relative humidity. We found that the 70:25:5 coating had a protective effect even without natamycin, and that the coatings with natamycin showed an 60% improvement in the storage time. It was also found that there was diffusion of natamycin into the cheese coated with blends with 1% natamycin, and it was quantified.

Keywords: Active films, starch, natamycin, cheese.

INTRODUCCIÓN

Hoy en día hay una tendencia creciente de utilizar polímeros naturales por las características de ser renovables, biocompatibles, biodegradables y en muchos casos económicamente viables. En particular los almidones provenientes de diferentes fuentes han sido empleados para elaborar recubrimientos para alimentos. Sin embargo requieren de la adición de plastificantes para reducir la rigidez y tendencia al agrietado. Una práctica común es la incorporación de glicerol o alcohol polivinílico (PVA) o combinaciones de ellos. Sin embargo la plastificación por glicerol es temporaria y puede migrar hacia el alimento. El PVA



es un polímero de amplio uso en la industria por ser no-tóxico, soluble en agua, biocompatible y biodegradable con resistencia química y propiedades físicas excelentes. La plastificación empleando PVA como único plastificante requiere de la incorporación de cantidades importantes, que supera en algunos casos el 50 % p/p. Es por esto que en este trabajo se reemplaza parte del PVA por un poliuretano de muy baja temperatura de transición vítrea, de tal manera que pueda actuar como plastificante en pequeñas cantidades o proporciones y lograr películas conteniendo como mínimo 70% p/p de almidón. Las películas obtenidas se proponen como recubrimiento para alimentos.

Todos los envases o recubrimientos plásticos, además del polímero “base”, contienen un número de otras sustancias agregadas deliberadamente durante la manufactura y procesamiento del mismo o bien de manera no-intencional en forma de residuos provenientes del proceso de polimerización. El propio polímero, al ser de alto peso molecular, inerte y con solubilidad limitada en sistemas acuosos o grasos, es difícil que se transfiera al alimento en una cantidad significativa. El interés de la “seguridad en el uso de envases/recubrimientos plásticos” radica principalmente en la posible toxicidad de otros constituyentes de bajo peso molecular presentes en el material final y que pueden migrar al producto alimenticio durante el almacenamiento.

Los procesos de migración dependen de varios factores. Además de la temperatura y del tamaño molecular de la especie que migra (migrante), la estructura química y polaridad de cada compuesto condicionan su difusión a través de la masa polimérica, razón por la cual moléculas diferentes (plastificantes y antioxidantes por ejemplo) se comportan de forma muy distinta en el mismo material y por tanto, presentan migraciones muy diferentes. También la naturaleza del polímero en el que difunden (grado de cristalinidad, densidad, etc.) influye en el proceso de migración. En consecuencia, no puede establecerse un patrón general que permita evaluar la migración específica en todas las moléculas y en todos los polímeros existentes (Nerín 2002).

Katan (1996) ha definido la *migración* como “la transferencia de masa de una fuente externa al producto envasado mediante un proceso submicroscópico”. Las consecuencias básicas de dicha migración son básicamente:

En el *envase o recubrimiento*, alteración de las propiedades físico-químicas y mecánicas del material por pérdida de componentes presentes inicialmente en el mismo.

En el *producto*, cambios en la composición, por la incorporación de sustancias “migrantes” que pueden afectar sensiblemente sus características sensoriales modificando su calidad y aceptación comercial, o que, en algunos casos, son de carácter tóxico para el organismo humano, limitando su aptitud para el consumo.

El primer aspecto puede tener algún interés tecnológico por afectar la estabilidad del envase, pero no tiene incidencia en la calidad y salubridad del alimento envasado, como sí puede tener la incorporación al mismo de componentes del material por migración (Catalá et al. 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

En este trabajo se utilizó almidón de maíz comercial (Maizena Duryea®, Unilever Argentina S. A.), conteniendo 0,11g de agua, 0,006g de lípidos, 0,003g de cenizas, 0,0078 g de proteínas/g almidón, y una relación amilosa/amilopectina de 25/75 (base seca) (Ferrero et al. 1996). El alcohol polivinílico (PVA) fue utilizado en forma de polvo, con 98% de hidrólisis y un rango de peso molecular (M_w) entre 13.000 y 23.000 (Sigma Aldrich, EEUU). El poliuretano (PU) fue sintetizado a partir de 4,4'-di-isocianato de dicitlohexilmetano ($H_{12}MDI$, DesmodurW, Bayer) y propilenglicol, M_w 2.000 (PPG 2000, Voranol 2120, Dow) siguiendo la técnica del prepolímero (Pardini et al. 2008). También se utilizó Metanol Absoluto P.A. marca Cicarelli.

Preparación de los recubrimientos

Se gelatinizó el almidón en agua destilada al 3% p/p en un erlenmeyer de 300 ml de capacidad. Este proceso se realizó a 90°C en baño siliconado con agitación magnética durante 90 minutos con refrigerante. Por otro lado, se utilizó PVA con un grado de hidrólisis del 98%, y un peso molecular entre 13.000 y 23.000. Para obtener una solución homogénea de PVA en agua destilada se realizó una mezcla en relación 1:6 que se mantuvo durante 24 horas a 90°C en baño de aceite de silicona con agitación magnética y refrigerante.

El PU fue sintetizado en el laboratorio, obteniéndose un poliuretano $H_{12}MDI$ con PPG 2000.

Para obtener las dispersiones formadoras de película se colocó en vaso de precipitados primero la dispersión de PU, luego la dispersión de PVA y por último el almidón gelatinizado y enfriado a temperatura ambiente.



El proceso se llevó a cabo en agitación mecánica. Para el agregado de natamicina a las dispersiones, se procedió a solubilizar la cantidad de natamicina adecuada para obtener películas al 0,1 o 1% según correspondiera en agua destilada, como parte de la cantidad correspondiente de agua que corresponde a cada formulación. La solubilización se llevó a cabo con agitación magnética durante 2 horas a 40°C, condiciones que fueron las mejores para lograr la disolución. Luego del proceso de solubilización, la mezcla natamicina-agua fue agregada a la dispersión almidón/PVA o almidón/PVA/PU gota a gota con agitación magnética, y luego de finalizado el agregado se dejó agitando durante 20 minutos para homogeneizar. Es necesario aclarar que en todos los pasos que incluían natamicina se mantuvieron las soluciones o mezclas en la oscuridad ya que la molécula es muy sensible a la luz.

Aplicación de recubrimientos activos sobre quesos

Para los ensayos con un sistema testigo se eligió un queso semi-duro Tybo comercial tipo barra marca “Cayelac” (Cayelac 2016) (**Figura 1**). La elección de este tipo de queso se hizo teniendo en cuenta que es un queso con un grado de humedad homogénea en toda su masa, que no se ve mayormente modificada con el tiempo y que, por lo tanto, nos permitió realizar los ensayos con trozos obtenidos de la barra.



Figura 1. Queso Tybo marca Cayelac, características nutricionales

Espesor de recubrimiento aplicado a queso

El estudio del espesor final de las películas luego de la aplicación por inmersión, también se realizó con queso Tybo Cayelac, cortando cubos pequeños de aproximadamente 3 x 3 x 1,5 cm. A fin de establecer una clara diferencia entre la película y la superficie del queso se utilizaron 3 colorantes que se incorporaron en forma de solución acuosa concentrada, a saber: negro de eriocromo T, fucsina básica y cristal violeta.

Se prepararon las dispersiones correspondientes a las mezclas 70:30, 70:25:5 y 70:15:15 de la forma descrita anteriormente. A continuación se agregó la solución del colorante concentrado (5 gotas de cada uno a cada mezcla). Luego las dispersiones se concentraron en baño a 75°C con agitación mecánica hasta eliminar aproximadamente el 6% de su peso inicial. En estas condiciones las dispersiones presentaron una mayor viscosidad sin grumos, lo cual facilitó el proceso de incorporación por capas sobre el queso.



Se realizaron capas sucesivas por inmersión de los cubos de queso en las dispersiones concentradas. Luego de cada inmersión se dejó escurrir el exceso, y se colocó cada cubo sobre una placa siliconada. La placa se llevó a estufa de tiro forzado a 30°C y se hicieron volteos de los cubos cada 10-15 minutos para que todas las caras se secaran. Este proceso se repitió hasta lograr cubrir todos los cubos con tres capas.

Posteriormente, se realizó un corte “limpio” a los cubos de queso para poder visualizar la capa de colorante. Por último se utilizó una lupa con aumento 10X, escala milimetrada y luz directa para fotografiar los límites de color. Para determinar el espesor se utilizó el software Image-Pro Plus.

Ensayo de difusión de natamicina

El Código Alimentario Argentino (CAA) establece que la natamicina es un conservante permitido en superficie de quesos de muy alta, alta, mediana y baja humedad, y no debe ser detectable a 2 mm de profundidad desde la “cáscara”, además que debe estar ausente en la masa (CAA 2014a, CAA 2014b).

Para llevar a cabo este ensayo, se prepararon dispersiones de almidón/PVA/PU en proporciones 70:30, 70:25:5, 70:20:10 y 70:15:15, todas conteniendo 1% natamicina, siguiendo las etapas previamente explicadas. Luego del agregado de todos los componentes, incluida la natamicina solubilizada en agua de la misma forma antes expuesta, se procedió a concentrar las mezclas por evaporación a 70°C en baño con agitación mecánica, hasta lograr una pérdida de aproximadamente 28% p/p. Luego las soluciones se llevaron a temperatura ambiente con agitación magnética en baño de agua.

Para esta experiencia se utilizó queso Tybo marca Cayelac, el cual fue cortado en cubos de 3 cm x 3 cm x 3 cm. Se procedió a sumergir los cubos de queso en las mezclas correspondientes, dejando escurrir el exceso para luego colocarlos sobre una placa siliconada que fue llevada a una estufa de tiro forzado a 30°C. Cada 15 minutos se realizaron volteos de los cubos para asegurar que todas las caras logran secarse. Este proceso se llevó a cabo repetidamente hasta cubrir los cubos con 3 capas, proceso que llevó un total de dos horas aproximadamente. Para cada muestra se realizaron triplicados.

Los cubos recubiertos fueron colocados de manera individual en bolsas plásticas para quesos y termoselladas al vacío con un equipo “Food Saver”, y luego se colocaron en cámara a 10°C durante 75 días. El objetivo fue permitir la difusión de natamicina al interior del queso (si esto ocurriera), durante un período de tiempo equivalente al de la maduración y distribución de un queso semiduro, que oscila entre los 60 y los 90 días, dependiendo del tamaño del queso.

Para determinar si la natamicina difundió y logró penetrar más de 2 mm de profundidad en la masa del queso, se procedió según la técnica de De Ruig et al. (1987) que se corresponde parcialmente con la norma ISO 9233 (2013), también utilizada por Vierikova et al. (2015).

En primera instancia se procedió a remover la parte exterior de los cubos de quesos a 2 mm de profundidad, y luego se cortó el remanente en piezas de 0,5 cm² y se mezclaron para homogeneizar la masa. Luego se pesaron 5 ± 0,01 g de muestra y se colocaron en un erlenmeyer de 100 mL. Se agregaron 50 mL de metanol puro (MeOH) y se mantuvo con agitación magnética durante 90 min, para después agregar 25 mL de agua destilada. Para precipitar las grasas, se colocó el erlenmeyer en freezer a -18°C, y se dejó durante una hora. Se procedió a filtrar el extracto frío con embudo Buchner y kitasato, utilizando un papel Whatman N° 3, y se descartaron los primeros 5 mL. El extracto se llevó a temperatura ambiente, y luego se filtró con un filtro para jeringa con filtro de nylon de 0,45 µm. Por último se filtró a través de un filtro de 0,2 µm tipo FG con jeringa de vidrio.

Para la determinación espectrométrica se hicieron medidas entre 200 y 800 nm, utilizando como blanco una solución MeOH:H₂O en relación 2:1. Se midió la absorbancia del mínimo a 311,5 nm, y de los máximos a 318 y 329 nm, bandas de absorción características de la natamicina.

Para las curvas de calibración correspondientes se utilizó una solución madre de 37,5 ppm de natamicina en MeOH:H₂O en relación 2:1, y se realizaron diluciones sucesivas.

Ensayo de conservación de queso en condiciones de maduración

Para llevar a cabo este ensayo, se prepararon dispersiones de almidón/PVA/PU en proporciones 70:30, 70:25:5 y 70:15:15, y mezclas 70:30 y 70:25:5 conteniendo 1% de natamicina, siguiendo las etapas previamente descriptas. Luego, se procedió a concentrar las mezclas por evaporación a 70°C en baño con agitación mecánica, hasta lograr una pérdida de peso de aproximadamente 28%. Las soluciones obtenidas se llevaron a temperatura ambiente con agitación magnética en baño de agua y se realizó el agregado de la solución de natamicina en los casos correspondientes. También para este estudio en todos los pasos que incluían natamicina se mantuvieron las soluciones o mezclas en la oscuridad.

Para esta experiencia se utilizó queso Tybo marca Cayelac, el cual fue cortado en trozos de 5 cm x 6 cm x 2 cm. Se procedió a sumergir los cubos de queso en las mezclas correspondientes, dejando escurrir el exceso



para luego colocarlos sobre una placa siliconada que fue llevada a una estufa de tiro forzado a 30°C. Cada 20 minutos se realizaron volteos de los cubos para asegurar que todas las caras logran secarse. Este proceso se llevó a cabo repetidamente hasta cubrir los cubos con 3 capas. Para cada muestra se realizaron duplicados. Los cubos recubiertos se colocaron en un ambiente controlado con aproximadamente 82% de humedad relativa y 13°C, condiciones correspondientes a la maduración de este tipo de quesos, y se realizó un seguimiento fotográfico diario de la superficie, para evaluar aparición y proliferación de mohos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espesor de película

Para la determinación del espesor de las películas, se trabajó en esta instancia con los quesos cubiertos con mezclas conteniendo cristal violeta ya que fue el que mostró límites más definidos y con menos difusión hacia el interior del queso. Por otro lado, la solución de negro de eriocromo T se desestabilizó al cubrir los quesos (indicado en la figura con un círculo), por lo que se decidió descartar estas muestras. Estos resultados se pueden observar en la **Figura 2**. También es importante resaltar que se intentó completar las capas sucesivas mediante aplicación con pincel (pintado) pero no resultó eficiente, por lo que finalmente se decidió hacerlo por inmersión de los cubos de queso en las dispersiones concentradas.



Figura 2. Fotografías de trozos de quesos recubiertos con películas dopadas con diferentes colorantes

Se llevaron a cabo las mediciones del espesor del recubrimiento obteniéndose un espesor promedio de 50 μm como resultado de tres capas sucesivas por inmersión, lo cual resultó similar al espesor de película que se obtuvo por *casting* para las películas que se estudiaron con técnicas de caracterización de materiales. Por este motivo, se decidió trabajar para los ensayos aplicados sobre la superficie de queso con tres capas de dispersión polimérica concentrada sucesivas por inmersión. En la **Figura 3** se muestran imágenes de los cubos de queso recubiertos con solución de cristal violeta y cómo se veía el límite del recubrimiento al realizar un corte.



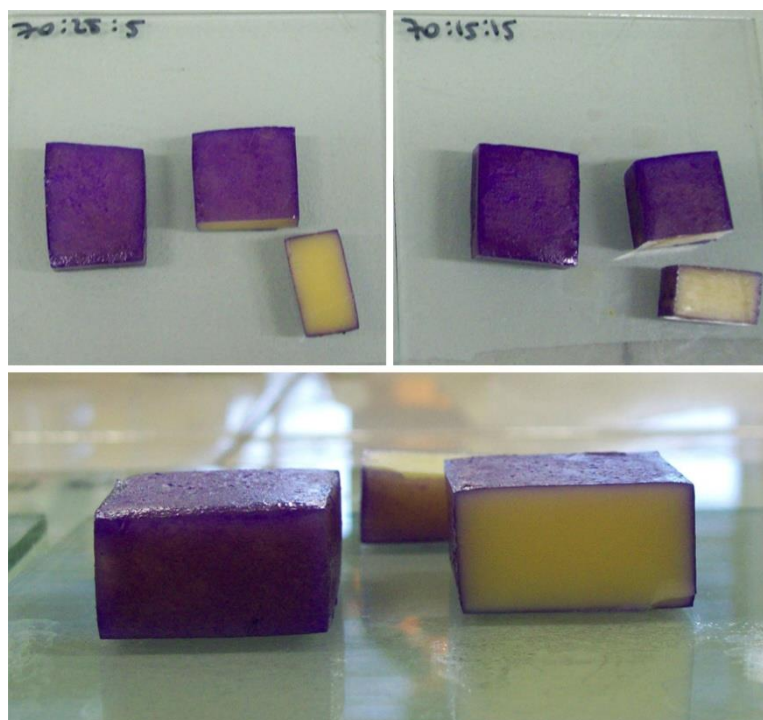


Figura 3. Cubos de queso Tybo recubiertos con dispersión polimérica con colorante cristal violeta y corte de los mismos para medir espesor del recubrimiento aplicado.

Ensayo de difusión de natamicina

De Ruig et al. (1987) plantearon la posibilidad de, luego de obtener el extracto del queso, estudiar la presencia de natamicina por vía espectrométrica con rayos UV, mientras que la norma ISO 9233 (2013) y Vierikova et al. (2015) propusieron como alternativa de mayor sensibilidad concentrar los extractos y estudiarlos por HPLC-espectroscopia de masa acoplados. Para nuestro objetivo, la sensibilidad de la técnica con espectrometría UV fue adecuada ya que se trabajó con un límite de detección de 0,5 mg natamicina/kg queso.

Previamente, se realizaron las curvas de calibración correspondientes al mínimo de absorbancia a 311,5 nm, y también para los máximos a 318 y 329 nm, eligiéndose como mejores ajustes las curvas para 311,5 y 329 nm.

Para obtener el “blanco” se utilizó una solución de MeOH:H₂O en relación 2:1. Previamente se llevó a cabo la corroboración de que esta solución era un “buen blanco”, ya que se realizó el procedimiento de un extracto para un queso sin recubrimiento, y el espectro obtenido fue igual al de la solución MeOH:H₂O.

En la **Figura 4** se muestran los resultados obtenidos para el contenido de natamicina en la masa del queso luego de eliminar los 2 mm superficiales de cubos de queso recubiertos con mezclas concentradas de Alm/PVA 70:30 y Alm/PVA/PU 70:25:5, 70:20:10 y 70:15:15 conteniendo 1% de natamicina.



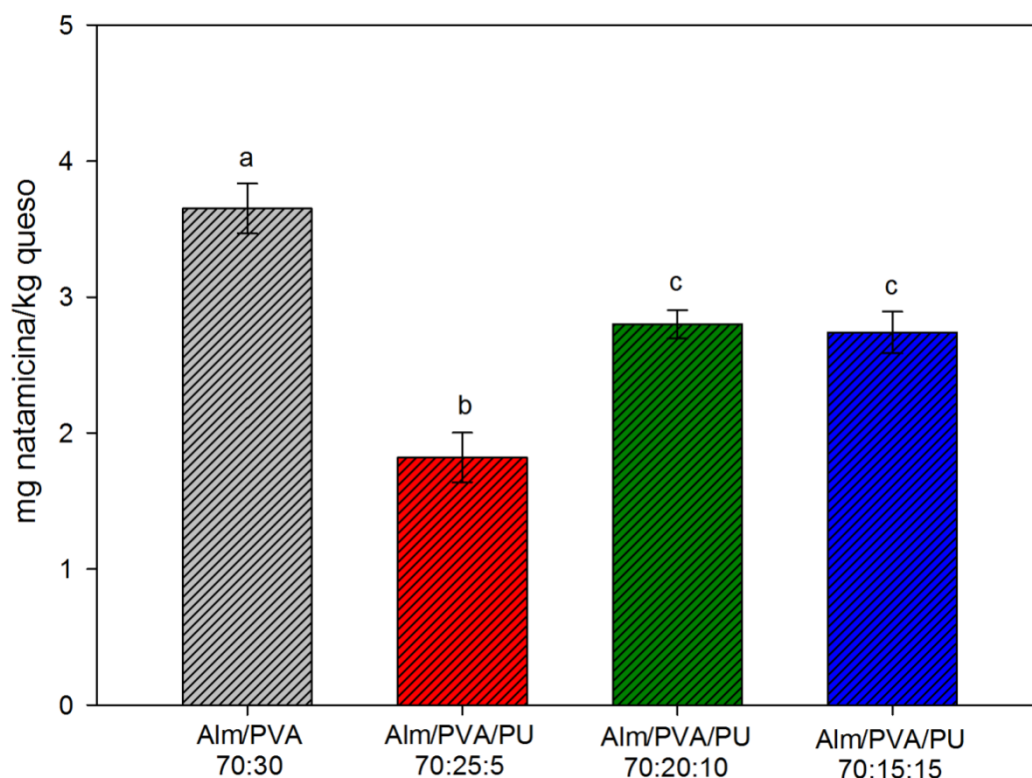


Figura 4. Contenido de natamicina en la masa del queso expresado como mg de natamicina/kg de queso para cubos de queso recubiertos con mezclas de Alm/PVA 70:30 y Alm/PVA/PU 70:25:5, 70:20:10 y 70:15:15 aditivados con 1% de natamicina.

En todos los casos se encontró natamicina en la masa y se pudo cuantificar. Los recubrimientos de Alm/PVA/PU mostraron menor liberación de natamicina que la mezcla Alm/PVA. Dentro de las mezclas ternarias, la que mostró menor difusión de natamicina fue la 70:25:5.

Ensayo de conservación de queso en condiciones de maduración

El ensayo de conservación de queso se llevó a cabo utilizando las siguientes muestras (**Figura 5**):

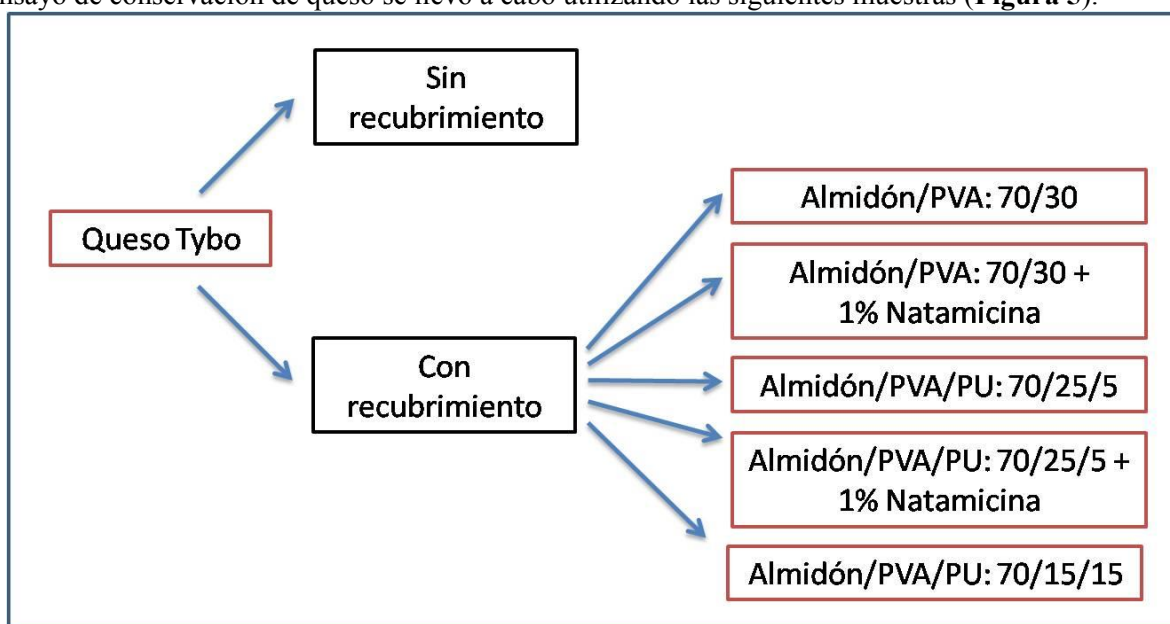


Figura 5. Esquema de trabajo para el ensayo de conservación con cubos de queso con recubrimiento.



En las **Figuras 6** y **7** se muestran fotos de los cubos de queso sin recubrimiento, y con recubrimientos Alm/PVA 70:30, Alm/PVA/PU 70:15:15, Alm/PVA/PU 70:25:5 y Alm/PVA/PU: 70:25:5 con 1% de natamicina, todas al día 0 (izquierda) y al día 6 del ensayo (derecha).



Figura 6. Quesos control sin recubrimiento y quesos con recubrimiento Alm/PVA 70:30 y Alm/PVA/PU 70:15:15 al comienzo del ensayo (izquierda) y luego de seis días de almacenamiento (derecha).



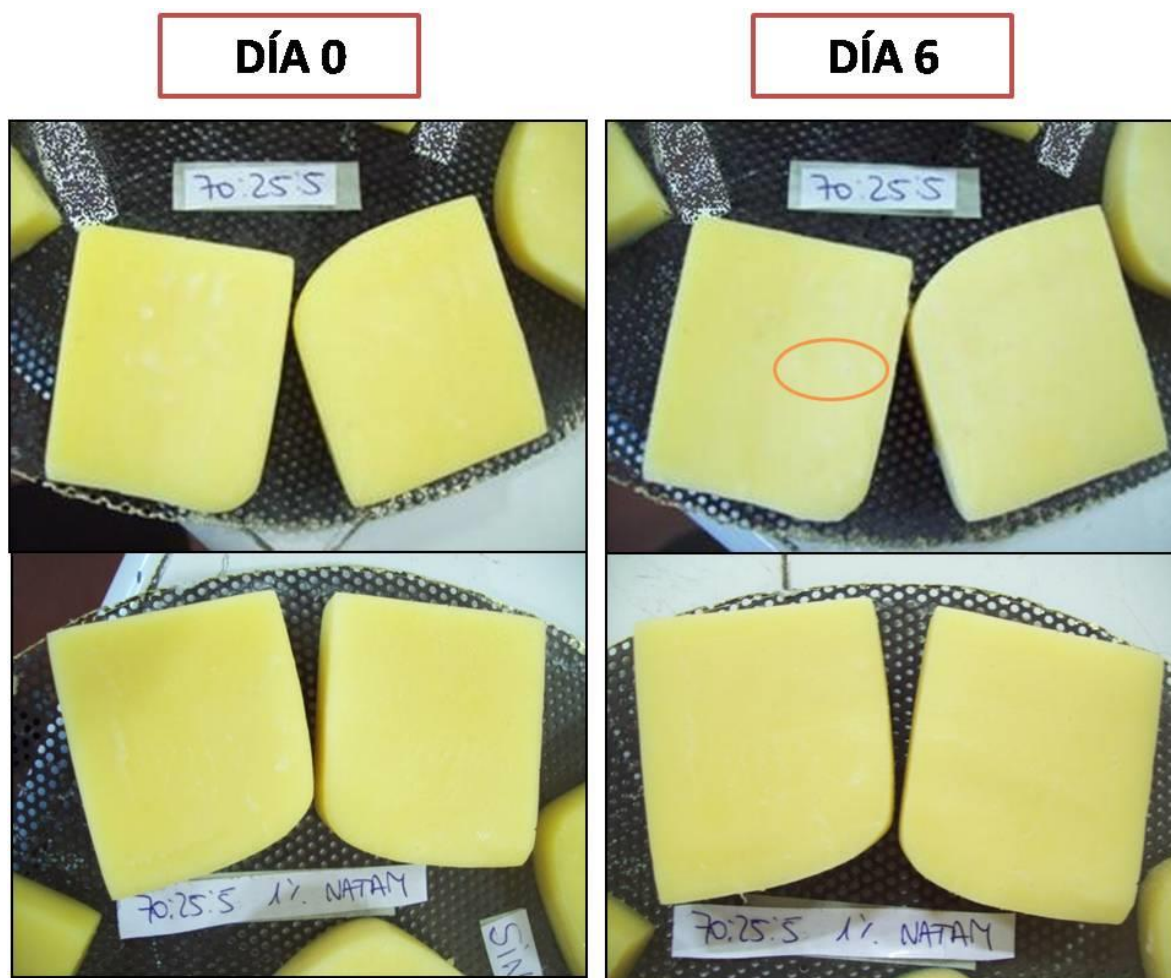


Figura 7. Quesos con recubrimiento Alm/PVA/PU 70:25:5 y Alm/PVA/PU: 70:25:5 con 1% de natamicina al comienzo del ensayo (izquierda) y luego de seis días de almacenamiento (derecha).

Los quesos con recubrimiento de Alm/PVA/PU 70:25:5 y 70:15:15 mostraron un efecto antifúngico/fungistático incluso sin la presencia de natamicina, ya que el crecimiento fue menor que para los quesos recubiertos con formulación Alm/PVA 70:30 y que para el Control sin recubrimiento. También se pudo observar que los quesos con recubrimiento de almidón y PVA 70:30 mostraron un mayor crecimiento de hongos en la superficie que aquellos quesos que no tenían recubrimiento (control). Esto puede deberse a que ambos componentes de la mezcla resultan sustratos atractivos para los microorganismos.

En la **Figura 7** podemos ver que cuando incorporamos natamicina, el efecto antifúngico es completo aún al día 6. En estos quesos con natamicina se observó la aparición de hongos al día 8 de almacenamiento, y éstos fueron de crecimiento más lento. Los recubrimientos con natamicina al 1% mostraron una mejora en el tiempo de conservación de aproximadamente un 60%, ya que sin natamicina al día 5 se pudo observar desarrollo microbiano, mientras que con natamicina presente recién al día 8 se detectó crecimiento fúngico.



CONCLUSIONES

Luego de los ensayos realizados se concluyó que el espesor promedio de los recubrimientos fue de 50 μm , como resultado de tres capas sucesivas por inmersión, el cual resultó similar al espesor de película que se obtuvo por *casting* para las películas que se estudiaron con técnicas de caracterización de materiales. Por otra parte, los recubrimientos con natamicina al 1% sobre queso mostraron una mejora en el tiempo de conservación de aproximadamente un 60%.

Por último, al estudiar la difusión de natamicina hacia la masa del queso cuando se lo recubrió con mezclas cargadas al 1%, se encontró que en todos los casos hay presencia del antifúngico en la masa del queso y que se puede cuantificar. Esto último no cumple con lo expuesto en el CAA, y es por este motivo que se considera trabajar en el futuro con 0,1% de natamicina para cumplir con la cantidad permitida de 1 mg/dm^2 por unidad de superficie por el CAA.

BIBLIOGRAFÍA

- CAA. 2014a. Alimentos Lácteos. En: ANMAT, editores. Código Alimentario Argentino: Art. 553 a 642.
- CAA. 2014b. Aditivos Alimentarios. En: ANMAT, editores. Código Alimentario Argentino. XVIII: Art. 1391 a 1406.
- Catalá R, Gavara R. 2002. Migración de componentes y residuos de envases en contacto con alimentos. Valencia: Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos: 346.
- Cayelac. 2016. Queso Tybo. El día 25-07- 2016, de www.cayelac.com.ar.
- de Ruig WG, van Oostrom JJ, Leenheer K. 1987. Spectrometric and Liquid Chromatographic Determination of Natamycin in Cheese and Cheese Rind. Journal - Association of Official Analytical Chemists, 70: 944-948.
- Ferrero C, Martino MN, Zaritzky NE. 1996. Effect of hydrocolloids on starch thermal transitions, as measured by DSC. J. Therm. Anal., 47: 1247-1266.
- ISO. 2013. Cheese, cheese rind and processed cheese - Determination of natamycin content. . Part 2: High - Performance Liquid Chromatographic method for cheese, cheese rind and processed cheese. Geneva, International Organization for Standardization. 9233-2.
- Katan LL. 1996. Migration from food contact materials. London: Blackie Academic and Professional: 303.
- Nerín C. 2002. Migración en poliolefinas. En: R Catalá, Gavara R, editores. Migración de Componentes y Residuos de Envases en Contacto con Alimentos. Valencia: Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos.
- Pardini OR, Amalvy JI. 2008. FTIR, $^1\text{H-NMR}$ spectra, and thermal characterization of water-based polyurethane/acrylic hybrids. J. Appl. Polym. Sci., 107: 1207-1214.
- Vierikova M, Hrnčiarikova E, Lehotay J. 2015. Determination of natamycin content in cheese using ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 36: 2933-2943.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la CIC, CONICET y a la ANPCyT (PICT 2011- 0238) por el apoyo económico.

