

INFORME

PROYECTOS—

2023

GENERACIÓN DE UN SISTEMA QUE PERMITA EL DESARROLLO Y CIRCULACIÓN DE MATERIALES POLIMÉRICOS SEGUROS PARA LOS CIUDADANOS
“SISTSEG”

Entregable: (XXXXXXXXXXXXXX)

Número de proyecto: 22300008

Expediente: IMAMCA/2023/2

Duración: Del 01/01/2023 al 31/12/2023

Coordinado en AIDIMME por: FERNÁNDEZ ORTIZ, NURA

AIDIMME
INSTITUTO TECNOLÓGICO



GENERALITAT
VALENCIANA

iVACE
INSTITUTO VALENCIANO DE
COMPETITIVIDAD EMPLEABLE

AIDIMME
INSTITUTO TECNOLÓGICO

ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS MARCADOS	3
3. ALCANCE	4
4. ACTIVIDADES REALIZADAS.....	5
5. RESULTADOS, CONCLUSIONES Y MEDICIÓN.....	35

1. Introducción

1.1. Melamina

La melamina (2,4,6-triamino-1,3,5-triazina, CAS 108-78-1), es un compuesto químico orgánico de fórmula empírica C₃H₆N₆ (Ilustración 1). La melamina es conocida por su resistencia al calor, su durabilidad y su capacidad para mantener la forma y el color.

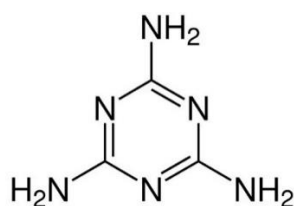


Ilustración 1. Estructura química de la melamina (CAS 108-78-1)

Se trata de un compuesto orgánico nitrogenado que presenta distintas utilidades:

- Da lugar a la resina de melamina (Ilustración 2) cuando se combina con formaldehído en la fabricación de termoplásticos con alta resistencia al calor, dureza y rigidez.
- Presenta propiedades ignífugas cuando se mezcla con resinas, debido a que cuando se quema o carboniza libera gas nitrógeno.
- En la fabricación de madera laminada, materiales con retardantes de llama, vajilla de plástico, textiles, juguetes infantiles, pinturas, fertilizantes y pesticidas, productos de limpieza, etc.

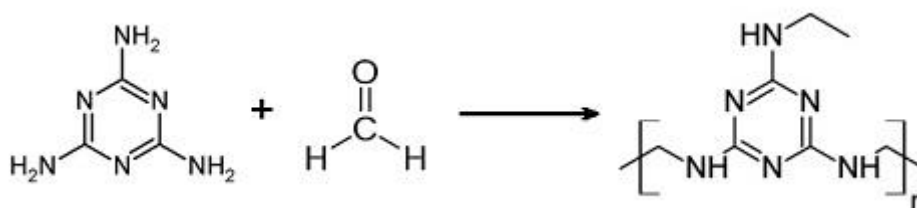
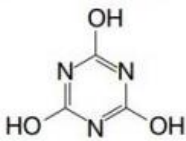
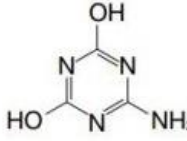
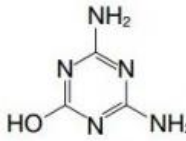
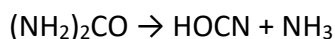


Ilustración 2. Síntesis de resina de melamina-formaldehído

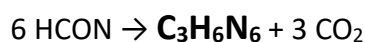
La melamina se produce a partir de la urea, el ácido cianúrico y el amoníaco, generándose como productos intermedarios el ácido cianúrico, amelida y amelina.

Ácido cianúrico	Amelida	Amelina
 <p>CAS No. : 108-80-5 C₃H₃N₃O₃=129.07</p>	 <p>CAS No. : 645-93-2 C₃H₄N₄O₂=128.09</p>	 <p>CAS No. : 645-92-1 C₃H₅N₅O=127.10</p>

A partir de la urea, se produce una reacción endotérmica de descomposición de esta, en ácido cianúrico y amoníaco.



Seguida de una reacción exotérmica de polimerización del ácido cianúrico que da lugar a la melamina y se libera dióxido de carbono.



1.2. Melamina designada como SVHC (sustancia extremadamente preocupante)

El 17 de enero de 2023, la ECHA confirmó la incorporación de 9 nuevas sustancias a la lista SVHC de REACH. Entre estas sustancias recién añadidas se encontraba la **melamina**.

La melamina está clasificada con toxicidad específica en determinados órganos STOT RE 2 (tracto urinario) y como carcinógeno de categoría 2 después de que el *Instituto Federal Alemán de Seguridad y Salud en el Trabajo* concluyera que la melamina es “posiblemente cancerígena para los humanos” con “evidencia suficiente en animales, pero no suficiente para una decisión definitiva en humanos”.

Debido a su inclusión en la Lista de Candidatos, las empresas deberán informar a sus clientes comerciales sobre la presencia de melamina en su producto una vez superado el umbral del 0,1%. Además, los fabricantes, importadores y minoristas también deben realizar una entrada en la base de datos SCIP (base de datos de información sobre sustancias preocupantes presentes) para cada producto.

2. Objetivos marcados

- Determinación de melamina mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de diodos (HPLC-DAD) empleando diferentes fases móviles y longitudes de onda con la finalidad de ahorrar costes tanto económicos como medioambientales cuando se utiliza una técnica cromatográfica (HPLC-DAD) en la determinación de melamina en materiales del hábitat.
- Estudio y aplicación de diferentes técnicas de extracción de melamina en materiales destinados al hábitat.
- Comparar y discutir los resultados obtenidos al aplicar dichas técnicas analíticas.
- Proponer, en su caso, el procedimiento más adecuado para la determinación de melamina en muestras del hábitat.
- Evaluación de la emisión de sustancias peligrosas en materiales poliméricos según la norma UNE-EN 16516 mediante cromatografía líquida y gaseosa.

3. Alcance

Desde el 17 de enero de 2023, la ECHA, la Agencia Europea de Sustancias Químicas, ha añadido nueve sustancias químicas a la lista de candidatos debido a sus propiedades peligrosas.

La lista de candidatos SVHC “Sustancias extremadamente preocupantes” ahora contiene sustancias químicas que pueden dañar a las personas o al medio ambiente.

Entre las nueve sustancias añadidas en esta última revisión también se encuentra la **melamina** que, en la cadena de suministro del mueble de madera, es una sustancia utilizada tanto en las resinas para fabricar paneles como en las resinas utilizadas para la impregnación de los papeles de recubrimiento entre otros usos.

Estas sustancias podrán incluirse en el futuro en la lista de autorización (anexo XIV), lo que implicará que sí, una sustancia está incluida en la lista de autorización, su uso quedará prohibido a menos que las empresas soliciten autorización y la Comisión Europea les autorice a continuar con su uso.

Las empresas son responsables de gestionar los riesgos de estos productos químicos y también deben proporcionar a sus clientes información sobre cómo utilizarlos de forma segura. Según REACH, las empresas tienen obligaciones legales cuando una sustancia que utilizan se incluye sola o en mezclas en la lista SVHC.

Los proveedores de artículos que contengan una sustancia de la lista SVHC con una concentración superior al 0,1% (peso por peso) deben proporcionar a sus clientes y consumidores información para utilizarlos de forma segura y, los consumidores tienen derecho a preguntar a los proveedores si los productos que compran contienen sustancias peligrosas.

También, según la Directiva marco sobre residuos, las empresas también deben notificar a la ECHA si los artículos que producen contienen sustancias SVHC en una concentración superior al 0,1% (peso por peso). Esta notificación se publica en la base de datos de la ECHA sobre sustancias preocupantes en los productos (SCIP).

A pesar de que existen métodos reconocidos para la extracción de la melamina libre en general, puede no haber normativa específica para la extracción, determinación y cuantificación de melamina libre en muestras de madera. Esto significa que los métodos utilizados podrían regirse por normativas generales relacionadas con análisis de materiales o sustancias químicas, en lugar de una normativa específica para este proceso en particular.

4. Actividades realizadas

Hoy en día, existen varios métodos analíticos por los cuales se lleva a cabo la determinación cuantitativa de melamina en diferentes matrices que incluyen: cromatografía líquida de alta resolución con detección UV (HPLC-UV), cromatografía líquida-espectrometría de masas (HPLC-MS) cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC/MS) electroforesis capilar y ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

La determinación y cuantificación de melamina en el caso que nos ocupa se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de diodos (HPLC-DAD).



Ilustración 3. HPLC

4.1. Extracción, determinación y cuantificación de melamina en diferentes productos destinados al hábitat.

Las diferentes muestras que pueden contener melamina en el mercado requieren de un pretratamiento especial dependiendo de sus matrices antes del análisis. Sin embargo, la mayoría de los métodos que se encuentran en bibliografía, se aplican para la determinación de melamina en muestras de alimentos, especialmente productos lácteos y leche, mientras que se encuentran pocos estudios que informen sobre el análisis de melamina en muestras destinadas al hogar.

Las estrategias de pretratamiento de muestras dependen de las diferentes matrices y de la capacidad selectiva de los métodos de detección. La melamina es un compuesto molecular pequeño, polar y con alta solubilidad en agua. El pretratamiento de muestras de melamina generalmente implica una extracción líquida mediante un disolvente polar.

La extracción más comúnmente utilizada de melamina incluye una solución de acetonitrilo/agua (50:50 v/v) aunque algunos también han demostrado que utilizan metanol o ácido clorhídrico para extraer melamina de las matrices. Las disoluciones o ácidos orgánicos se utilizan para extraer melamina y precipitar proteínas en las

muestras para reducir la interferencia causada por la matriz de la muestra.

Otros casos propuestos, es la utilización del hidróxido de amonio en la extracción de melamina que se utiliza para mantener el disolvente de extracción a un pH alcalino para evitar que la melamina y el ácido cianúrico formen una sal insoluble de cianurato de melamina.

El tipo de disolvente de extracción es crucial para el análisis selectivo y cuantitativo de melamina. En este sentido, se prepararon y probaron varios disolventes para determinar la separación eficiente de melamina de la disolución de muestra. Los disolventes escogidos en nuestros estudios como disolventes de extracción fueron agua, acetonitrilo/agua (50:50), de cuya mezcla se probó también pH ácido y pH alcalino; y metanol/agua (60:40). Todos ellos escogidos dadas sus buenas características como disolventes polares.



Tras el estudio bibliográfico de los disolventes a utilizar en la fase de extracción de la melamina, la segunda parte del proyecto consistió en hacer una evaluación bibliográfica del modo de separación por HPLC más acorde para la separación de melamina. La retención cromatográfica de la melamina por HPLC está determinada por su fuerte carácter polar e hidrofílico, tales propiedades nos llevaron a pensar que, para este tipo de compuesto, el modo de separación más conveniente sería la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un detector de diodos en serie (HPLC-DAD).

Los experimentos de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) se realizaron en un cromatógrafo líquido (Agilent 1260 Infinity II). La detección se llevó a cabo mediante un detector de matriz de diodos (Agilent 160 Infinity II WR), con un diseño de lámpara dual que permite el análisis de longitudes de onda entre 190 y 950 nm, lo que nos permite una mayor sensibilidad. Los cromatogramas se adquirieron utilizando el programa de software OpenLAB CDS VL.

El análisis de la melamina en HPLC es un método comúnmente utilizado para determinar la cantidad de melamina presente en una muestra. Se basa en la separación de los componentes de la muestra utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y su detección mediante un detector específico (DAD). Este análisis es importante para garantizar la seguridad de los productos que contienen melamina. A continuación, se muestran cada uno de los estudios para la detección y cuantificación de la melamina siguiendo cuatro reglas operativas para HPLC-DAD:

- La fase móvil y la fase estacionaria han de poseer naturaleza (polaridad) opuesta.
- La melamina ha de ser totalmente soluble en la fase móvil (con igual polaridad).
- La melamina ha de salir de la columna (fase estacionaria) antes del final del análisis (elución).
- La melamina debe separarse del resto de compuestos presentes en la matriz (migración diferencial).

Los calibrados se prepararon a partir de una disolución madre de 1 mg/ml de la cual se obtuvieron diez concentraciones estándar de melamina (0, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 µg/mL) las cuales se prepararon diluyendo en volúmenes apropiados de una disolución apropiada para cada tipo de extracción. La disolución madre de melamina se sonicó durante 10 minutos, en todos los casos, para asegurar que la melamina estuviera completamente disuelta.

Estudios para la detección y cuantificación de la melamina:

FASES MÓVILES					
Estudio 1	Estudio 2	Estudio 3	Estudio 4	Estudio 5	
B:C:D (70/5/25)	B:C:D (70/5/25)	A:C (70/30)	C:D (75/25)	A:C (85/15)	
B: Solución tampón (ácido cítrico/ hidróxido sódico/ ácido clorhídrico) pH 2.00 C: Tetrahidrofurano D: Acetato de amonio 0.1 M	B: Solución tampón (ácido cítrico/ hidróxido sódico/ ácido clorhídrico) pH 3.00 C: Tetrahidrofurano D: Acetato de amonio 0.1 M	A: MiliQ C: Etanol	C: Acetonitrilo D: Solución tampón (Fosfato disódico anhidro) pH 6.5	A: miliQ C: Acetonitrilo	
Columna	Luna Omega Polar (C18, 250 x 4.6 mm, 5µm)			Agilent Technologies InfinityLab Poroshell 120 Bonus-RP, (4,6 x 150 mm, 2,7 µm)	
Flujo (ml/min)	0.5	0.5	0.6	1.0	0.6
Long. onda (nm)	236		220	230	
V. inyección (µl)	20	20	100	20	20
T (°C)	25	25	25	20	20
t. de ejecución (min)	8	8	8	4	4
t. de retención (melamina) (min)	3.0	5.2	4.1	2.3	2.3

La detección y cuantificación precisa de la melamina es crucial debido a su presencia en varios productos del hábitat, y el uso de diferentes fases móviles y disolventes de extracción puede influir significativamente en los resultados afectando a la eficacia de método de detección.

ESTUDIO 1

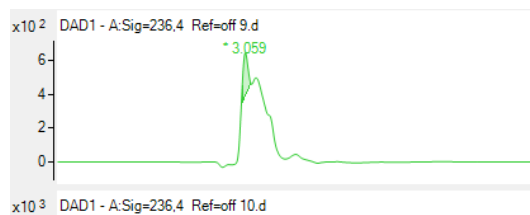
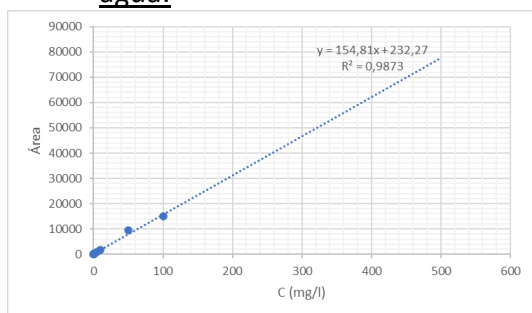
FASE MÓVIL:

B: Solución tampón (ácido cítrico/ hidróxido sódico/ ácido clorídrico) pH 2.00

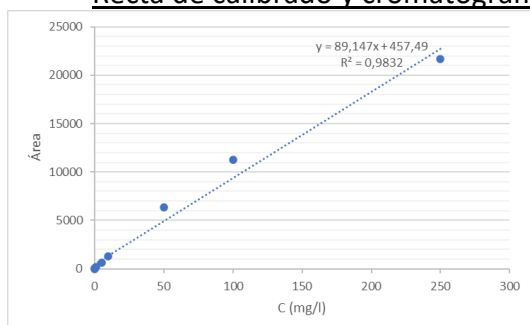
C: Tetrahidrofurano

D: Acetato de amonio 0.1 M

- Matriz del calibrado: ACN/H₂O (50:50)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz acetonitrilo/ agua:



- Matriz del calibrado: MeOH/H₂O (60:40)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz metanol/ agua:



- Matriz del calibrado: miliQ: no se observa.

La melamina extraída con agua de una muestra puede no detectarse en HPLC-DAD con una fase móvil a pH 2.0 por varias razones:

1. Comportamiento químico: la melamina es una base débil con un pKa alrededor de 5.5. En medio ácido (pH bajo), la melamina se encuentra predominantemente en su forma protonada, que es menos soluble en agua y menos propensa a la detección por HPLC-DAD.

- Interacción con la columna cromatográfica: el uso de una fase móvil con un pH de 2 puede afectar la interacción entre la melamina y la columna cromatográfica. Esto puede resultar en una menor eficacia de separación y detección, lo que dificulta la detección precisa de la melamina.
- Sensibilidad del detector: el detector DAD puede tener limitaciones en su capacidad para detectar compuestos específicos en condiciones ácidas, lo que puede contribuir a la falta de detección de la melamina.

ESTUDIO 2

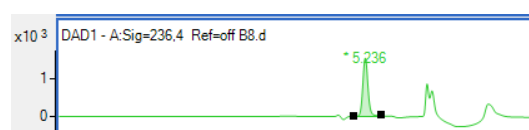
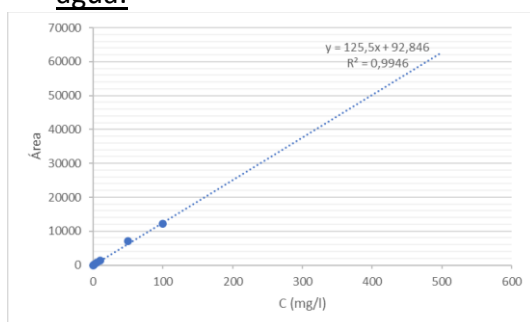
FASE MÓVIL:

B: Solución tampón (ácido cítrico/ hidróxido sódico/ ácido clorhídrico) pH 3.00

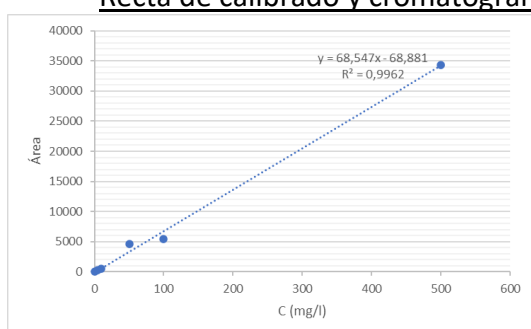
C: Tetrahidrofurano

D: Acetato de amonio 0.1 M

- Matriz del calibrado: ACN/H₂O (50:50)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz acetonitrilo/ agua:



- Matriz del calibrado: MeOH/H₂O (60:40)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz metanol/ agua:



- Matriz del calibrado: miliQ: no se observa por las mismas razones que el caso anterior.

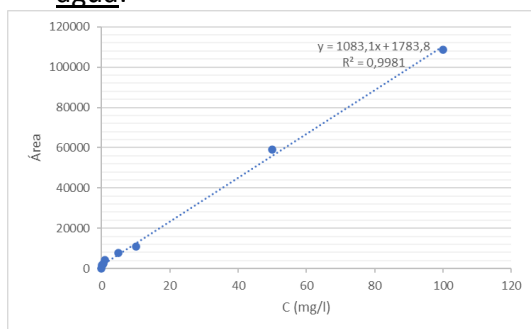
ESTUDIO 3

FASE MOVIL:

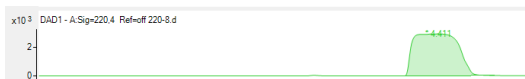
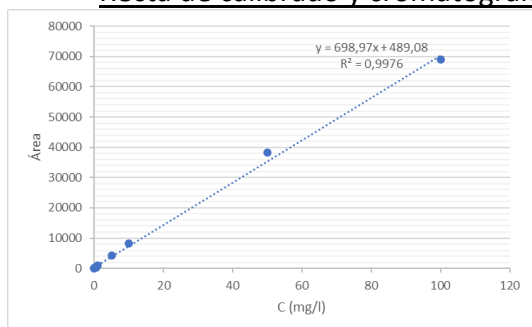
A: miliQ

C: Etanol

- Matriz de calibrado: ACN/H₂O (50:50)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz acetonitrilo/agua:



- Matriz del calibrado: MeOH/H₂O (60:40)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz metanol/ agua:



- Matriz del calibrado: miliQ: no se observa.

El uso de una fase móvil ACN/H₂O puede no ser suficiente para separar y detectar la melamina en la muestra. La melamina es polar y soluble en agua, por lo que su retención en la columna de HPLC puede ser limitada con una fase móvil que contiene una proporción tan alta de agua.

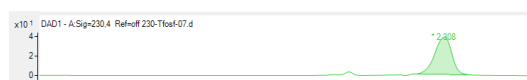
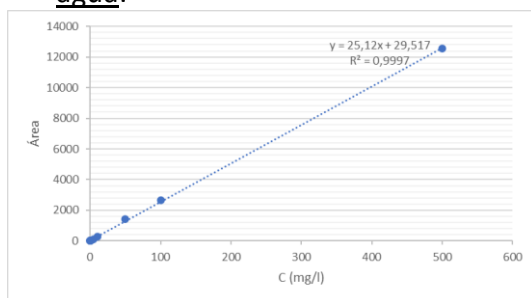
ESTUDIO 4

FASE MÓVIL:

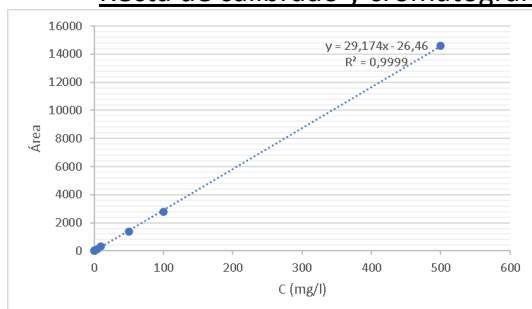
C: Acetonitrilo

D: Solución tampón (Fosfato disódico anhidro) pH 6.5

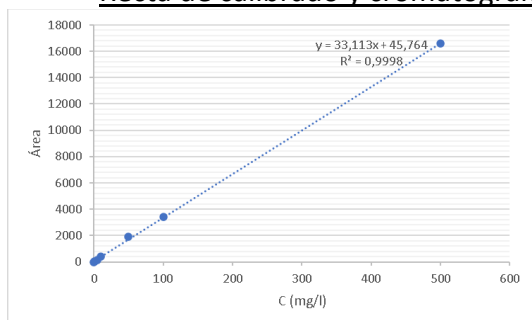
- Matriz de calibrado: ACN/H₂O (50:50)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz acetonitrilo/agua:



- Matriz del calibrado: MeOH/H₂O (60:40)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz metanol/agua:



- Matriz de calibrado: miliQ
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz agua:



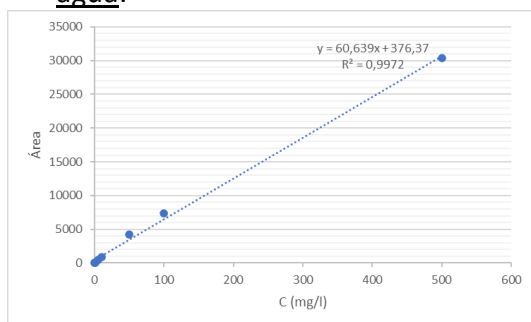
ESTUDIO 5

FASE MÓVIL:

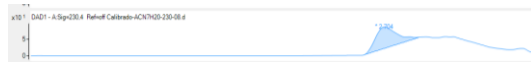
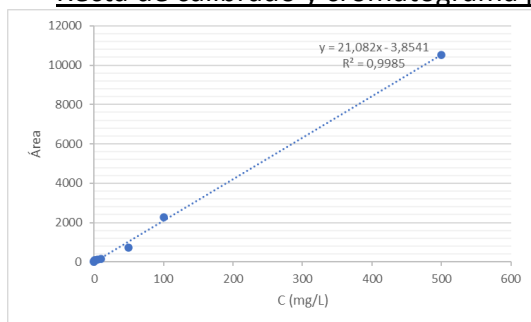
A: miliQ

C: Acetonitrilo

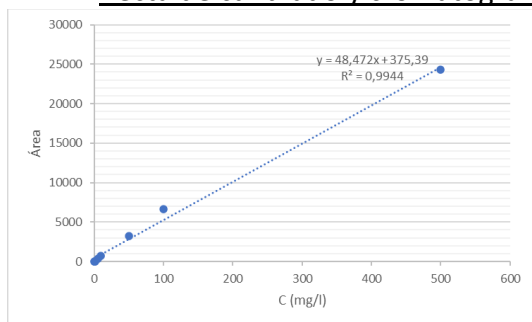
- Matriz de calibrado: ACN/H₂O (50:50)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz acetonitrilo/ agua:



- Matriz del calibrado: MeOH/H₂O (60:40)
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz metanol/ agua:

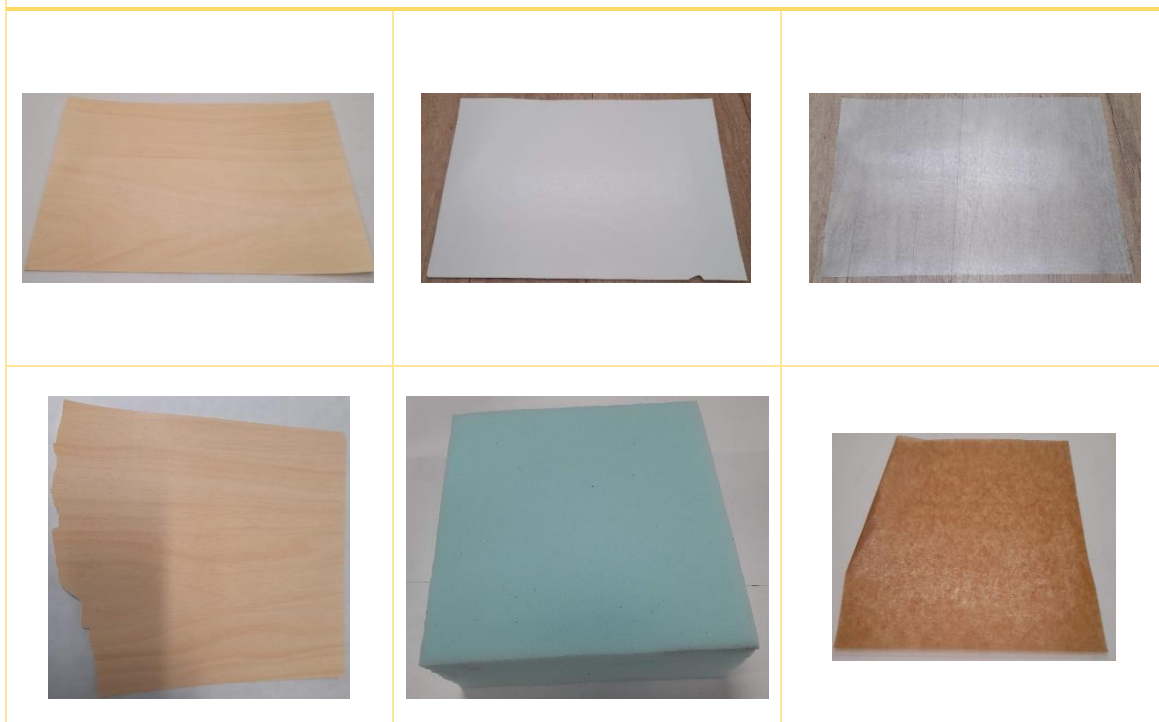


- Matriz de calibrado: miliQ
- Recta de calibrado y cromatograma para la melamina en matriz agua:



Extracciones en muestras que contienen melamina:

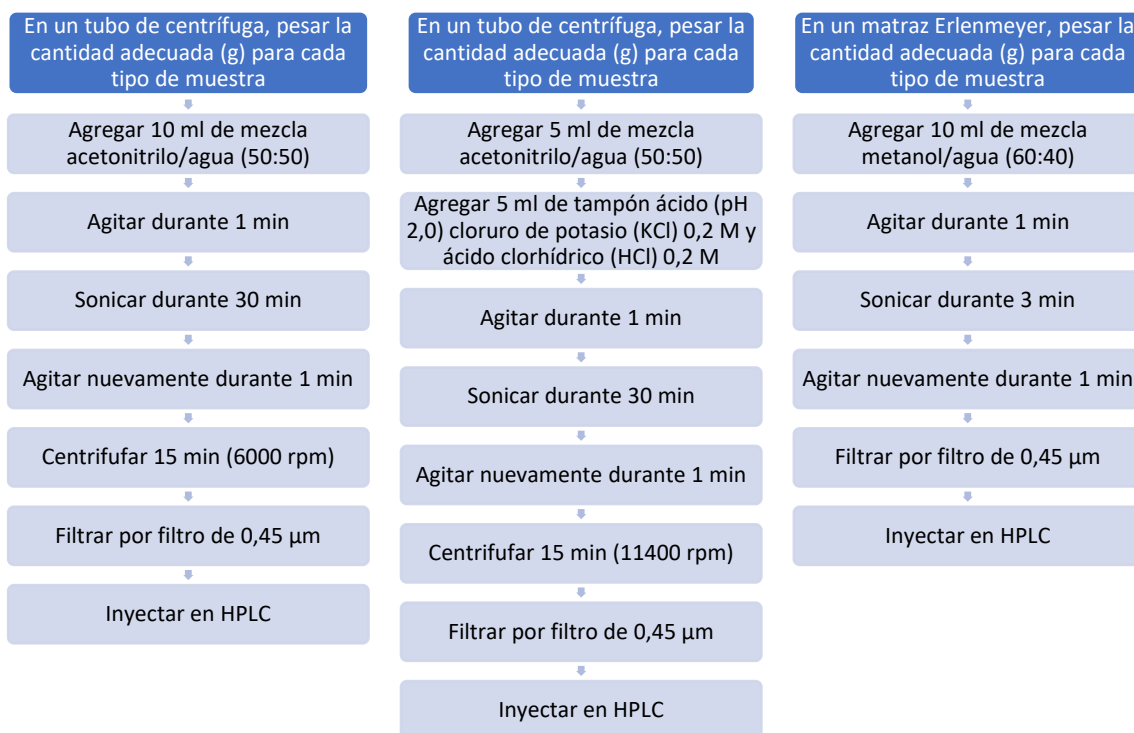
Ejemplos de muestras ensayadas: laminados melamínicos, espumas, tableros con acabados melamínicos



El lixiviado de la melamina se llevó a cabo con seis simulantes. Doce muestras de artículos destinados al hogar fueron sometidas a lixiviación. Las extracciones fueron realizadas por acetonitrilo/agua (50:50); probando también en esta matriz tanto pH ácido como alcalino. Metanol/agua (60:40) y agua (20°C, 25°C y 70°C).

Métodos de extracción para la melamina libre en productos destinados al hábitat:

El procedimiento que se siguió para cada una de las distintas alternativas de extracción según bibliografía se muestra a continuación:



A)

B)

C)

Ilustración 4. Extracción mezcla ACN/agua (50:50); B) Extracción mezcla ACN/agua (50:50) + pH 2.0; C) Extracción mezcla MeOH/agua (60:40)



Ilustración 5. Tubo de centrifuga con la muestra objeto de estudio y la posterior adición del disolvente de extracción



Ilustración 6. Método de extracción mediante ultrasonidos



Ilustración 7. Método de extracción mediante centrifuga



Ilustración 8. Inyección de calibrado y extracciones en HPLC

Los cromatogramas obtenidos de dos muestras de espuma de poliuretano y las mismas, pero adicionando con el estándar una concentración de 1, 10 y 40 ppm, después del método de extracción **A)**, **B)** y **C)** y eluidas con una solución de tampón pH 3.0/THF/Acetato amónico 0.1M, son los siguientes:

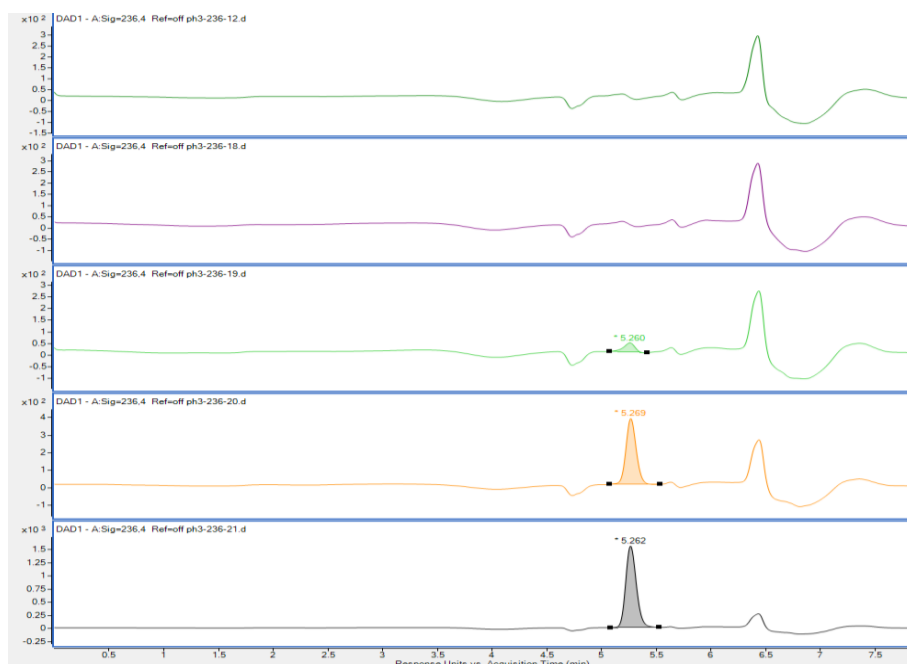
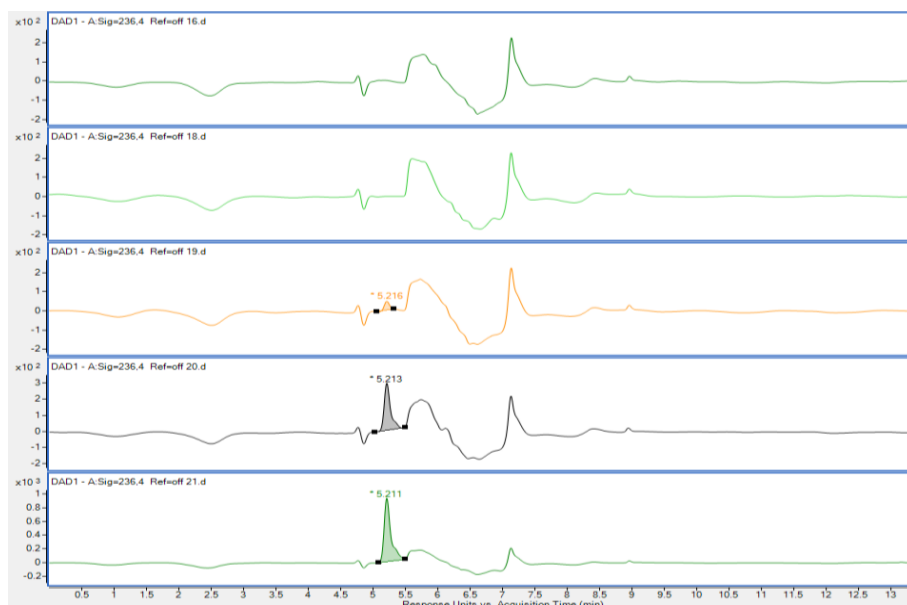
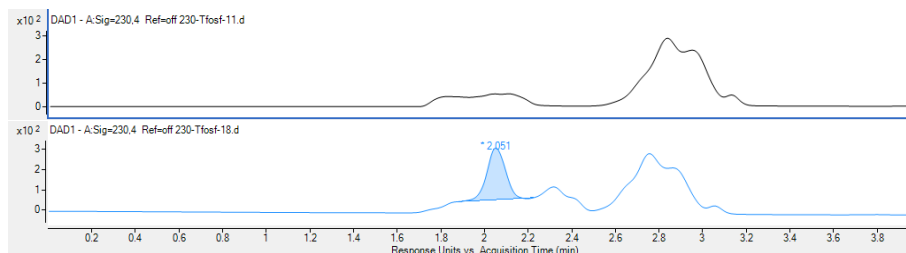


Ilustración 9. Elución de la extracción método A)



Il·lustració 10. Elució de la extracció mètode B)



Il·lustració 11. Elució de la extracció mètode C)

Los resultados obtenidos no mostraron rastros de melamina en dichas disoluciones procedentes de las espumas. En cambio, se detectó melamina en las muestras fortificadas con 0.97, 13.83 y 42.40 ppm respectivamente por lo que se concluye que estas muestras no presentan melamina y que la fase móvil es válida para la elución de esta.

Para muestras ensayadas donde si se observó la presencia de melamina, se obtuvo el siguiente gráfico:

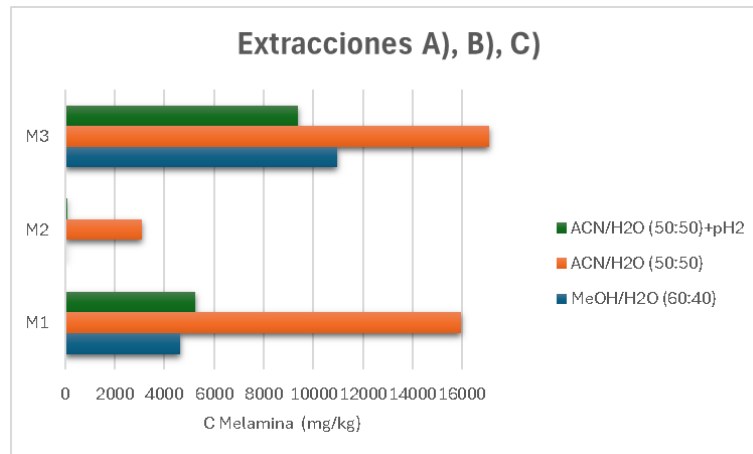


Ilustración 12. Extracciones acetonitrilo, metanol y pH ácido

El agua con acetonitrilo al 50%, el agua ácida y el agua metanólica al 60% lixiviaron concentraciones altas de melamina. Aunque se esperaba que las condiciones ácidas lixiviaran concentraciones más altas de melamina, las concentraciones de lixiviación más bajas encontradas en este estudio pueden estar relacionadas con la formación de un complejo con acetato, aunque se necesitan más estudios para explicar este fenómeno.

Las concentraciones de melamina extraídas con acetonitrilo al 50% fueron entre 2 y 50 veces mayores que las agua ácida o agua metanólica al 60%. La muestra 3, que se trataba de una lámina melamínica transparente, lixivió las concentraciones más altas de melamina. Esto es bastante razonable porque acetonitrilo/agua (50/50) no promueve la unión de la melamina con el ácido cianúrico. y puede tener una mejor penetración en la matriz de la muestra debido a la porción orgánica (acetonitrilo) en el disolvente

Según bibliografía sobre migración de la melamina en objetos destinados a entrar en contacto con alimentos o destinados a entrar en contacto con alimentos, se llevaron a cabo las siguientes extracciones en agua.

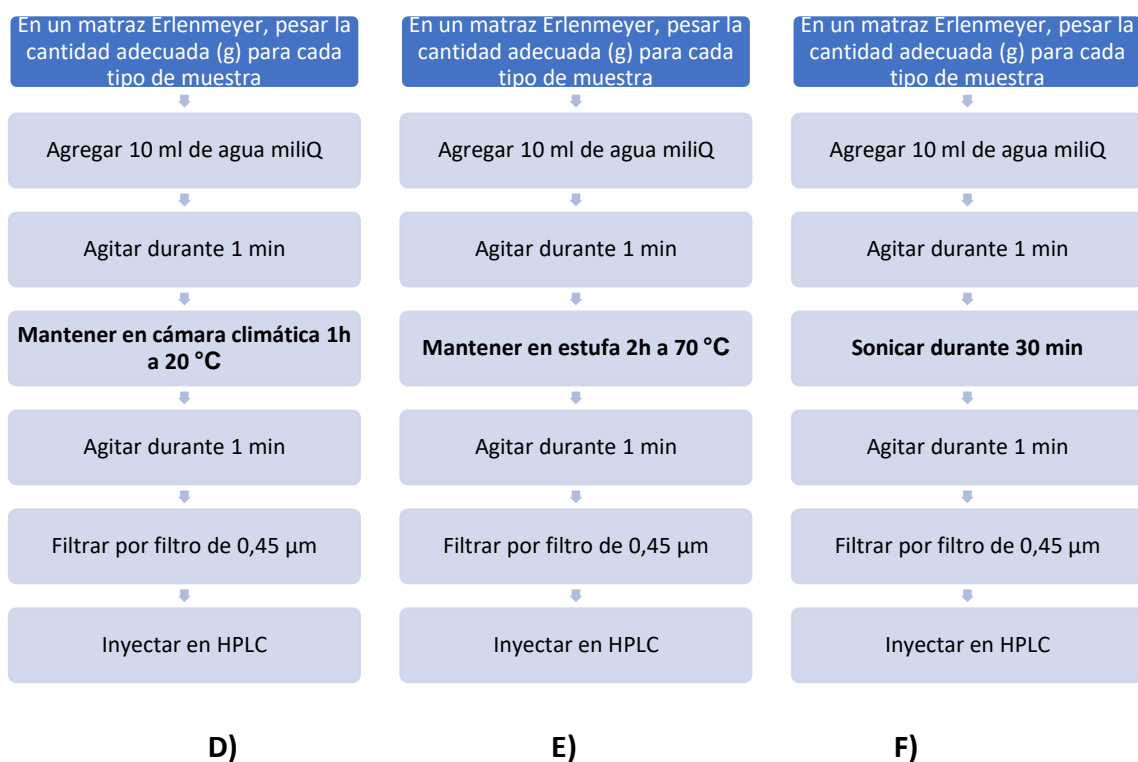


Ilustración 13. Extracciones en matriz agua con metodologías de contacto alimentario



Ilustración 14. Cámara climática 20 °C (izq.); estufa 70 °C (dcha.)

Para las fases móviles en la que la melamina en agua era visible y comparando extracciones en las muestras en las que apareció el analito de interés, se obtuvo la siguiente gráfica:

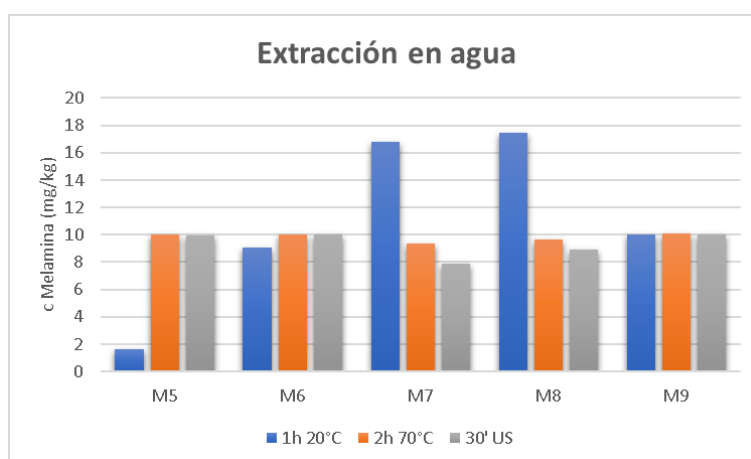


Ilustración 15. Efectividad del lixiviado de melamina en agua según temperatura

En la ilustración anterior se representan las concentraciones medidas de analitos lixiviados en simulantes de muestras con melamina. Las concentraciones de melamina en agua estuvieron en el rango de 7 a 18 mg/kg, La melamina es altamente soluble en agua, tiene 6 pares de electrones no compartidos y forma enlaces de hidrógeno con el grupo hidroxilo. Por lo tanto, el agua, que tiene dos grupos hidroxilo, extrae eficientemente la melamina

Por último, se llevó a cabo la lixiviación de la melamina a pH alcalino con hidróxido de amonio 0.1 M.

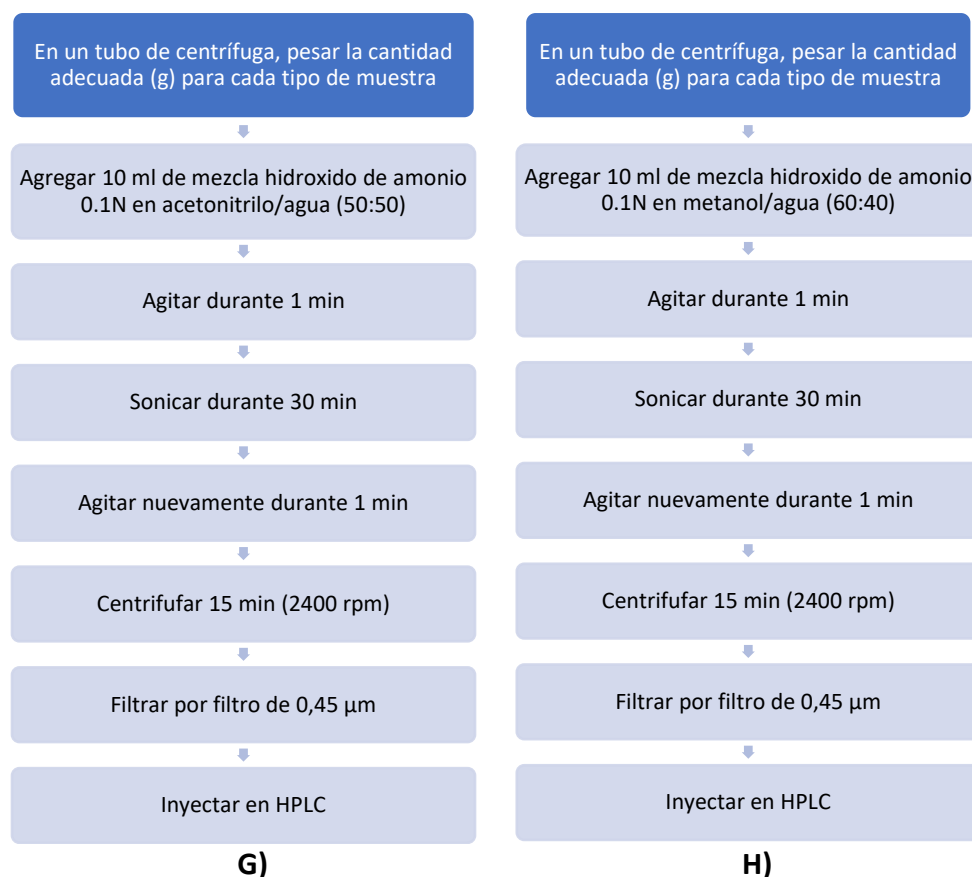


Ilustración 16. Extracciones en medio alcalino

El pH puede tener una influencia significativa en la extracción de melamina en una muestra. La melamina es una amina débil con un pKa alrededor de 5.5, lo que significa que puede existir en forma protonada (NH₃⁺) o no protonada (NH₂) dependiendo del pH del medio.

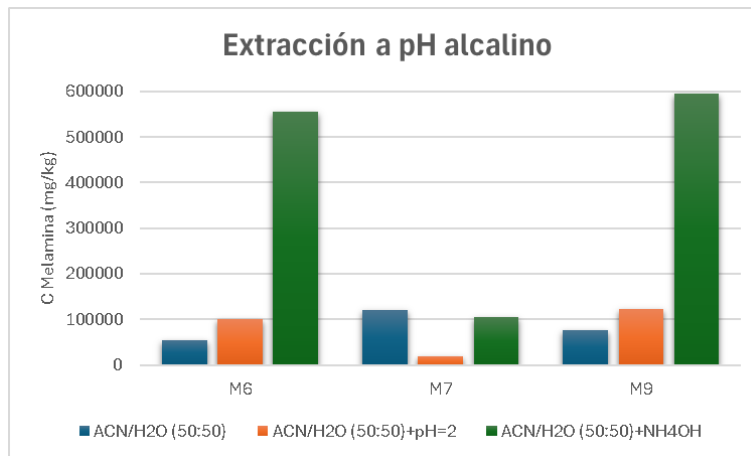


Ilustración 17. Influencia del pH alcalino en la lixiviación de melamina.

Como observamos en la gráfica anterior, a pH alcalino (superior a 7), la melamina se encuentra en su forma no protonada (NH₂) y puede volverse más soluble en disolventes polares y, por lo tanto, facilitar su extracción. Por lo tanto, la influencia del pH de la matriz en el proceso de extracción de melamina es significativa. Como se muestra en la gráfica siguiente, la recuperación de melamina aumentó con el pH. Primero de 2 a 7, y luego siguió aumentando ligeramente hasta 12.

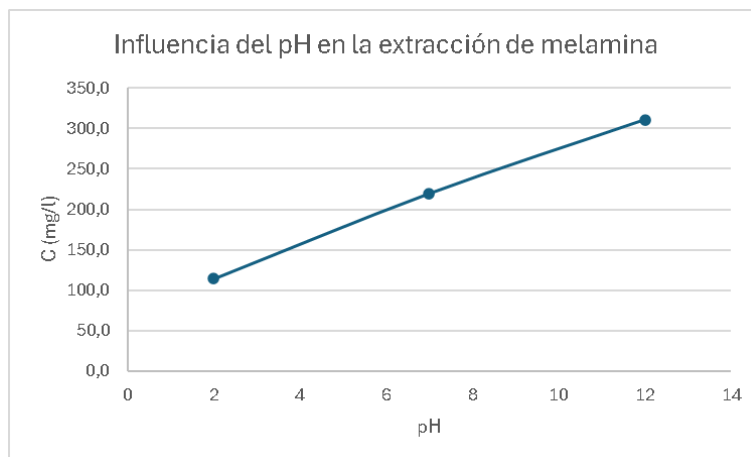


Ilustración 18. Influencia del pH en el medio de extracción de la melamina

Esto se debe a que en pH ácido (inferior a 7), la melamina estará predominantemente en su forma protonada (NH₃⁺) afectando a su solubilidad y por tanto a la interacción con los disolventes utilizados en el proceso de extracción (menos soluble en agua, más soluble en disolventes orgánicos).

Por otro lado, la fase móvil también es un factor a tener en cuenta. Estudios bibliográficos demuestran que el pH de la fase móvil es una variable fundamental en la separación de sustancias ionizables en cromatografía de líquidos, ya que de él depende el grado de ionización de los analitos presentes en la mezcla problema. En el desarrollo de métodos analíticos se requiere pues, ejercer un control eficiente sobre el pH del tampón utilizado en la fase móvil.

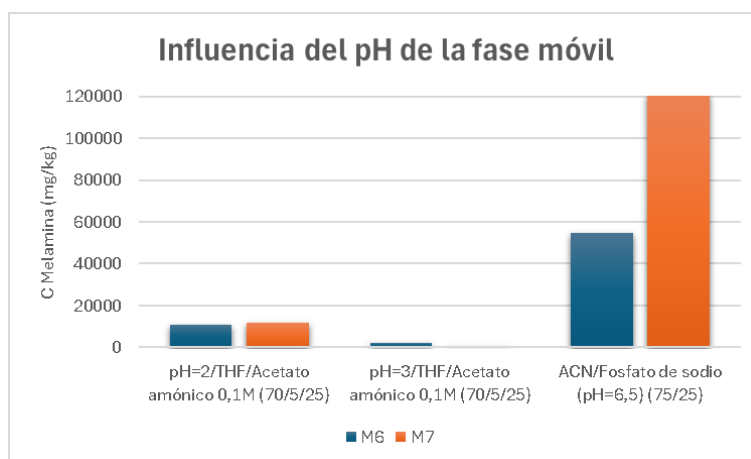


Ilustración 19. Influencia del pH en la fase móvil

Influencia del disolvente orgánico:

El disolvente orgánico utilizado en la fase móvil de un HPLC tiene una gran influencia en la separación y análisis de la melamina. Al elegir el disolvente orgánico adecuado, se pueden lograr resultados más optimizados en términos de resolución, tiempo de retención y selectividad. Los factores a tener en cuentas son su polaridad, viscosidad, compatibilidad con la muestra y la fase estacionaria, así como su capacidad para formar gradientes de elución. Disolventes como el acetonitrilo y el etanol, que son los utilizados en el proyecto, se han escogido debido a su capacidad para disolver una amplia gama de compuestos y su compatibilidad con sistemas de detección comunes. Sin embargo, la elección entre estos disolventes puede influir en la selectividad y resolución de los picos cromatográficos.

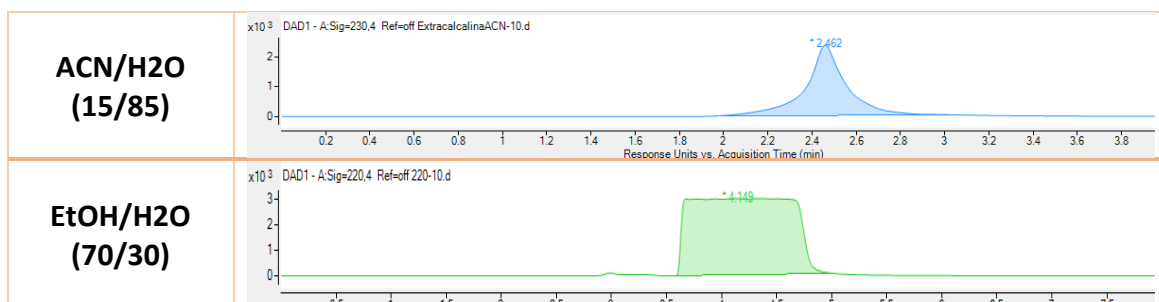


Ilustración 20. Cromatogramas para dos muestras iguales en diferentes fases móviles.

Como se observa en los cromatogramas anteriores, el acetonitrilo presenta una mayor selectividad y una mayor resolución para la melamina. El tiempo de retención para la aparición del pico de melamina es más corto (t_R : 2.4 min.) que para el caso de la fase móvil EtOH/H₂O (70/30) que aparece más tarde (t_R : 4.1 min.). Esto se debe a que el etanol es un disolvente menos polar que el acetonitrilo y por lo tanto menos afín a retener la melamina (polar).

A nivel de muestras, a continuación, se muestra una gráfica donde se observa que, para el caso de una fase móvil con acetonitrilo, la cantidad de concentración de melamina es obtenida es mayor que para una fase móvil con etanol.

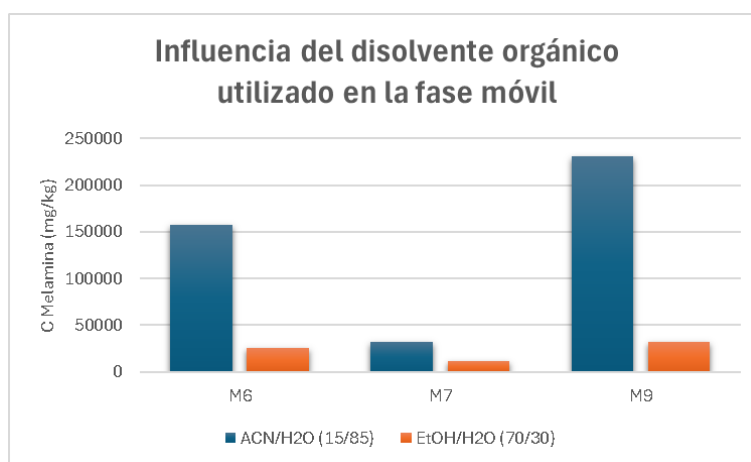


Ilustración 21. Influencia del disolvente orgánico utilizado en la fase móvil para la retención de melamina

La observación adecuada de la melamina en HPLC-DAD con fase ACN/Tampón fosfato a pH 6.5 (75:25), así como su extracción en muestras con hidróxido de amonio 0.1 M en acetonitrilo al 50%, se debe a la optimización de las condiciones cromatográficas y de extracción para este compuesto.

El uso de acetonitrilo y tampón fosfato a pH 6.5 como fase móvil en HPLC permite una mejor separación y detección de la melamina. El tampón fosfato proporciona una condición ligeramente alcalina que mejora la retención y el perfil cromatográfico de la melamina. A 230 nm de longitud de onda, la melamina tiene la capacidad de absorber la luz y producir un pico de absorbancia distintivo.

La extracción en las muestras con hidróxido de amonio en acetonitrilo al 50% es efectiva para extraer la melamina de la muestra ya que el hidróxido de amonio puede ayudar a mejorar la solubilidad y estabilidad de la fase orgánica, lo que facilita su posterior detección en el HPLC.

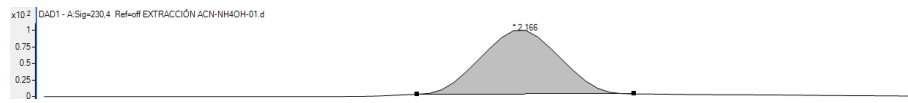


Ilustración 22. Pico melamina en una de las muestras objeto de estudio.

En resumen, el uso de acetonitrilo y tampón fosfato a pH 6.5, así como la extracción específica con hidróxido de amonio en acetonitrilo/agua (50:50) son estrategias aptas para optimizar la detección y cuantificación precisa de la melamina en las muestras analizadas.

4.2. Estudio de la emisión de compuestos orgánicos volátiles (COV's) en materiales poliméricos según UNE EN 16516

La norma UNE EN 16516:2018 se refiere a la evaluación de la emisión de sustancias peligrosas en productos de construcción, específicamente la determinación de las emisiones al aire interior. Esta norma establece un método de referencia para medir y evaluar las emisiones de sustancias peligrosas provenientes de productos, con el fin de garantizar la calidad del aire interior en los espacios habitados. Esta parte del proyecto se llevó a cabo con el apoyo de REPSOL los cuales nos proporcionaron 7 tipos de espumas de poliuretanos.

Acta de reunión:

Hoja de asistencia a reuniones

A. Identificación del proyecto

Título y acrónimo del proyecto	SISTSEG - GENERACIÓN DE UN SISTEMA QUE PERMITA EL DESARROLLO Y CIRCULACIÓN DE PRODUCTOS SEGUROS PARA LOS CIUDADANOS. (PY 22300008)
Fecha de la reunión	28/09/2023
Lugar de la reunión	Plataforma TEAMS

B. Asistentes

Nombre y apellidos	Entidad
César Muñoz de Diego	REPSOL
Enrique Domínguez Ramos	REPSOL
Olivier Lemoine	REPSOL
Jorge Iván Alonso Lorenzo	REPSOL
Nuria Fernández Ortiz	AIDIMME
César Engra Tomás	AIDIMME
Stephane García Malpartida	AIDIMME

C. Temas tratados

AIDIMME está trabajando en el campo de la calidad del aire interior en diferentes materiales del hábitat. Se trata de las emisiones de **compuestos volátiles** desde diferentes materias primas (y/o artículos) que pasan a la atmósfera del **hábitat** (comúnmente conocidos como "olor a nuevo"). Estos volátiles se emiten más durante la primera etapa de vida de los materiales (o artículos) y van disminuyendo su emisión en función del tiempo. Para medir estas emisiones, se han establecido unos protocolos (normas) basadas en el estudio de los compuestos orgánicos volátiles (COV) a través de

cámara de emisión y posterior análisis cromatográfico.

Se presenta el **proyecto SISTSEG** (génesis/motivación) haciendo hincapié en la dos grandes líneas de trabajo:

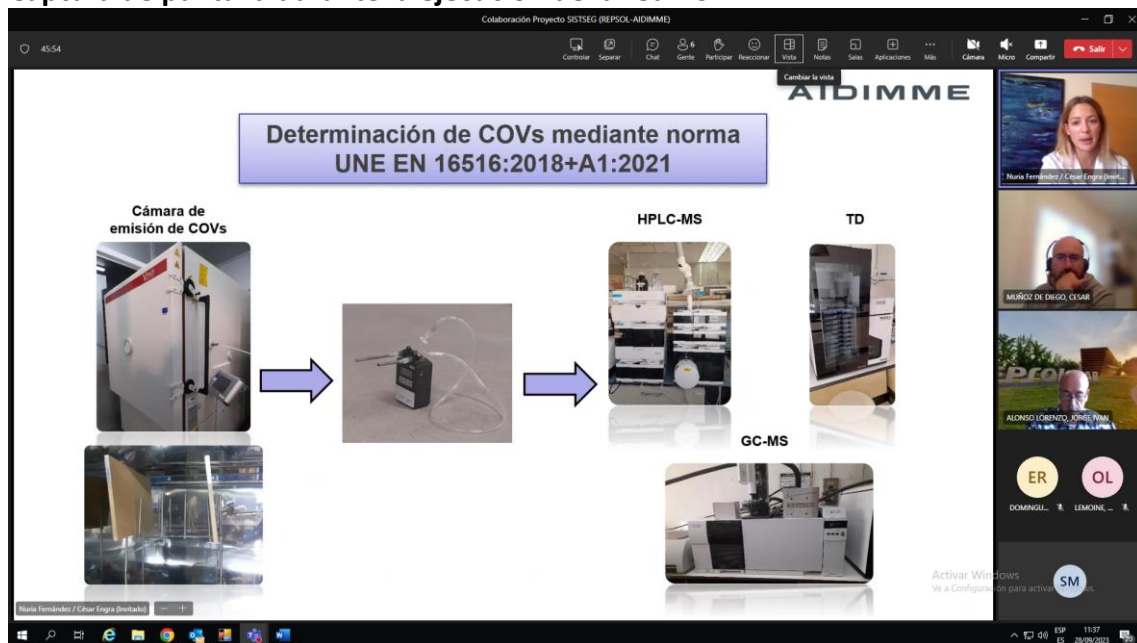
- Investigación de un método analítico para la medición de **melamina libre** debido a la incorporación de esta, en la lista de candidatos de la SVHC (sustancias extremadamente preocupantes).
- Estudio de la **emisión de compuestos orgánicos volátiles**, bajo condiciones de uso controladas en materiales poliméricos.

Se presentan las capacidades de AIDIMME para poder realizar la medición de compuestos orgánicos volátiles y finalmente se concluye que el método más adecuado para la determinación de COVs será el descrito en la norma **UNE EN 16516:2018+A1:2021**

La empresa colaboradora (REPSOL), propone la variación de la concentración de poliol en la composición de las probetas para estudiar su posible influencia en la emisión de COV's.

A su vez proponen realizar un **CROSS-CHECK** con el método **VDA 278** (que realizan de manera interna) para investigar si existe algún punto de correlación entre ambos métodos. El método VDA 278 caracteriza materiales automotrices no metálicos para emisiones volátiles (VOC) y condensables (FOG). Las sustancias liberadas de un componente calentado se separan mediante cromatografía de gases y se identifican mediante espectros de masas (GC / MS).

Captura de pantalla durante la ejecución de la reunión



D. Comentarios / Observaciones

Se emplaza a los asistentes a la reunión a recabar información sobre el número de probetas objeto de la investigación, para poder fijar un calendario de fabricación y posterior estudio mediante método COV's elegido.

La empresa valora muy positivamente el esfuerzo de AIDIMME en la realización de proyectos horizontales que permitan la investigación de productos y su respuesta ante reglamentaciones muy recientes

Espumas poliuretano embaladas según UNE EN 16516



Las muestras se mantuvieron en cámara climática hasta la fecha de inicio del ensayo. Trascurrido este tiempo, se desembalaron y se cortaron a las dimensiones 20x28 cm requeridas para cámaras de 225 L y alcanzar un área total de 0,225 m2 y se sellaron los cantos con cinta adhesiva de aluminio.

<p>Muestras en cámara climática (23)</p>	<p>Muestra desembalada</p>	<p>Selle de cantos</p>

Las muestras se introdujeron en la cámara de emisión y se programó según condiciones establecidas en la norma.



Introducción de muestras en cámara de emisión

Programación de condiciones del ensayo

Pantalla cámara de emisión con las condiciones ya establecidas

En las siguientes tablas se muestra un resumen de los parámetros del método de ensayo:

Humedad relativa (%)	50 ± 5
Temperatura (°C)	23 ± 1
Renovación del aire (h-1)	0,5
Velocidad del aire (m/s)	0,2
Área de la muestra (m2)	0,225
Volumen de la cámara (m3)	0,225
Factor de carga (m2/m3)	1
Relación de sellado de cantos (m/m2)	0,0

Tubo de muestreo para COV	Tenax
Tubo de muestreo para aldehídos	DNPH
Análisis de COV	TD² GC-MS³
Análisis de aldehídos	HPLC¹

¹Desorción térmica

²Cromatografía de gases masas.

³Cromatografía líquida de alto rendimiento.

Determinación de compuestos orgánicos volátiles (COV) en aire de interiores y de cámaras de ensayo **utilizando adsorbente tenax** con posterior desorción térmica y análisis por cromatografía de gases empleando un detector de masas (MS) según UNE-ISO 16000-6:2019.

El tenax es un material adsorbente que se utiliza para capturar y concentrar los COVs presentes en el aire. Una vez que el tenax ha capturado los compuestos, se lleva a cabo la desorción térmica, que consiste en calentar el tenax para liberar los compuestos volátiles capturados. Estos compuestos desprendidos son entonces introducidos en la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para su separación, identificación y cuantificación.

Esta parte del estudio se llevó a cabo de la siguiente manera:

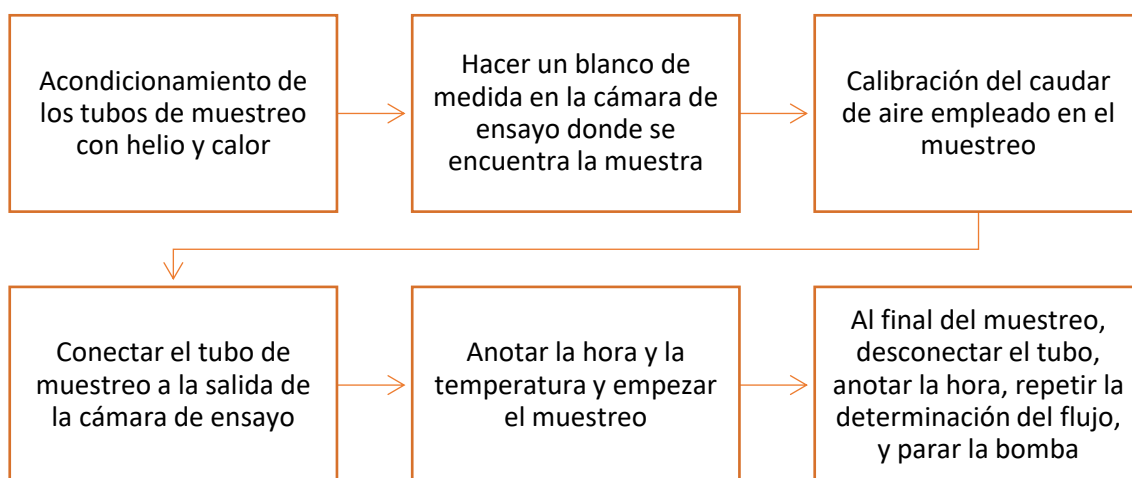


Ilustración 23. Procedimiento de ensayo para COV'S mediante tenax



Tras el muestreo, se identificarán la mayor cantidad de compuestos posibles presentes que tengan concentraciones superiores a 2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y se encuentren comprendidos entre el tiempo de retención en el cromatograma del hexano y hexadecano, ambos incluidos.



Ilustración 24. Equipo de termodesorción acoplado a cromatografía de gases masas (GC-MS)

Los compuestos identificados se cuantificaron empleando sus factores de respuesta individuales siempre y cuando el compuesto de referencia estuviera disponible. El resto de los casos se semicuantificó empleando el factor de respuesta del tolueno. Las áreas de los picos del cromatograma de COV individual son proporcionales a la masa del compuesto inyectada. Para cada compuesto, se determinó la relación entre la masa del analito inyectada y el área del pico correspondiente. La pendiente de la curva de calibración en el rango lineal es el factor de respuesta. Para el caso de los compuestos orgánicos volátiles totales, COVT el resultado es el área total del cromatograma entre el n-hexano y n-hexadecano (ambos incluidos).

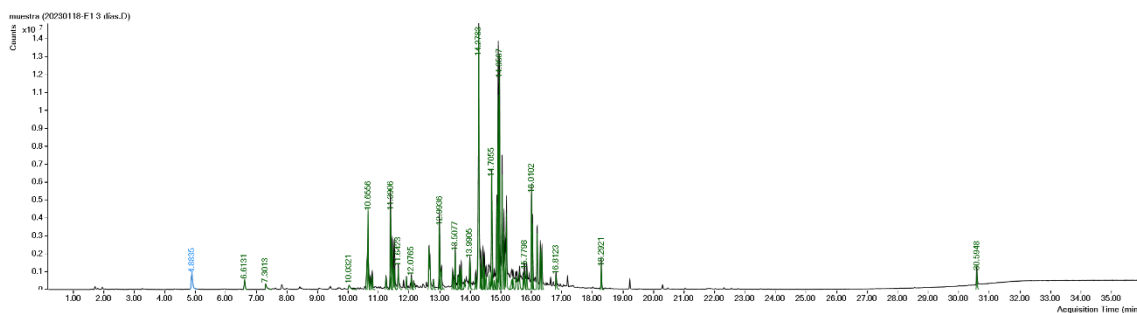


Ilustración 25. Cromatograma de COV de una de las muestras a ensayar tras 3 días de ensayo.

Resultados desorción térmica y análisis por cromatografía de gases empleando un detector de masas (MS) a los 3 días:

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	F6
Tolueno (µg/m3)	7,09	16,4	12,1	8,29	3,91	3,59	8,41
Tetracloroetileno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Etilbenceno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
o,m,p-xileno (µg/m3)	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
Estireno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
2-butoxietano I(µg/m3)	2,08	< 2	< 2	2,08	< 2	< 2	< 2
1,2,4-trimetilbenceno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
1,4-diclorobenceno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
COVT (µg/m3)	792	562	271	325	317	335	268

Resultados 28 días:

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	F6
Tolueno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	4,01	< 2	< 2	< 2
Tetracloroetileno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
Etilbenceno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
o,m,p-xileno (µg/m3)	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
Estireno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
2-butoxietano I(µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
1,2,4-trimetilbenceno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
1,4-diclorobenceno (µg/m3)	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2
COVT (µg/m3)	< 20	23,04	43,89	22,63	23,55	23,81	< 20

Determinación de compuestos orgánicos volátiles (COV) en aire de interiores y de cámaras de ensayo utilizando DNPH con posterior análisis por cromatografía líquida de alta resolución según UNE-ISO 16000-3:2011.

Los cartuchos de DNPH o 2,4-dinitrofenilhidrazina, se utilizaron para la recolección y el posterior análisis de compuestos orgánicos volátiles como aldehídos y cetonas, en nuestro caso, se determinó formaldehído de acetaldehído. Estos compuestos reaccionan con el DNPH formando derivados estables que son analizados por cromatografía líquida de alta resolución. Este tipo de análisis es importante para evaluar la calidad del aire y la exposición a sustancias químicas en diferentes entornos.

Esta parte del estudio se llevó a cabo de la siguiente manera:

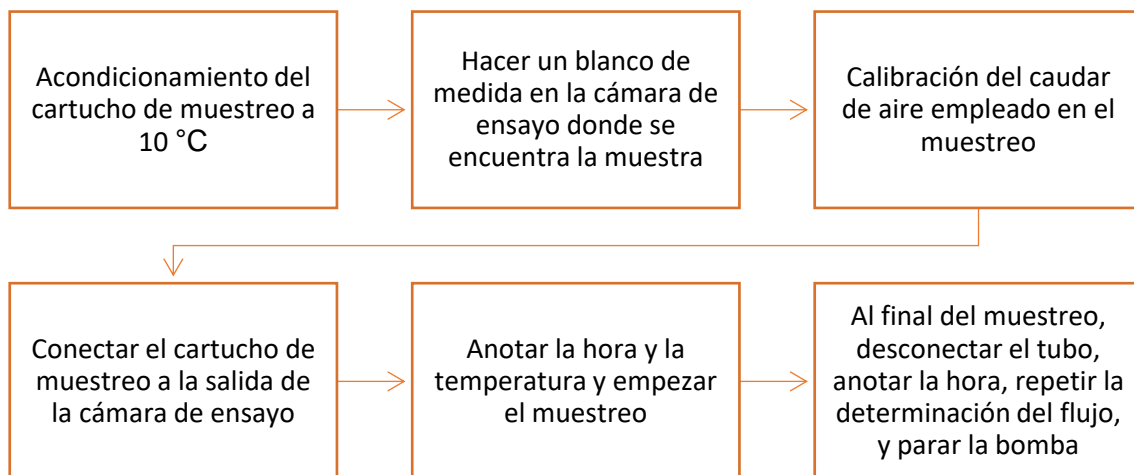


Ilustración 26. Procedimiento de ensayo para COV'S mediante tenax



Los compuestos carbonílicos en la muestra se identificaron y cuantificaron comparando sus tiempos de retención y el número de cuentas de área con los patrones de derivados de DNPH. Formaldehído, acetaldehído, acetona, propionaldehído crotonaldehído, benzaldehído y o-, m-, p-tolualdehídos pueden identificarse con un elevado grado de confianza. La identificación de butiraldehído es

más incierta porque se coeluye con isobutiraldehído y metil etil cetona en las condiciones cromatográficas dadas.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos a los 3 y 28 días de ensayos para el formaldehído y acetaldehído

Muestra		E1	E2	E3	E4	E5	E6	F6
Formaldehído (ppb)	3d	< 2,4	< 2,4	2,95	< 2,4	< 2,4	3,66	2,4
	28d	X	X	X	X	X	X	X
Acetaldehído (ppb)	3d	22,9	22,1	22,0	27,6	27,2	27,8	23,6
	28d	< 19	< 19	< 19	< 19	< 19	< 19	20,1

***Señal mezclada con algún compuesto que no se puede cuantificar generado a lo largo de los días (adjunto cromatogramas bajo).**

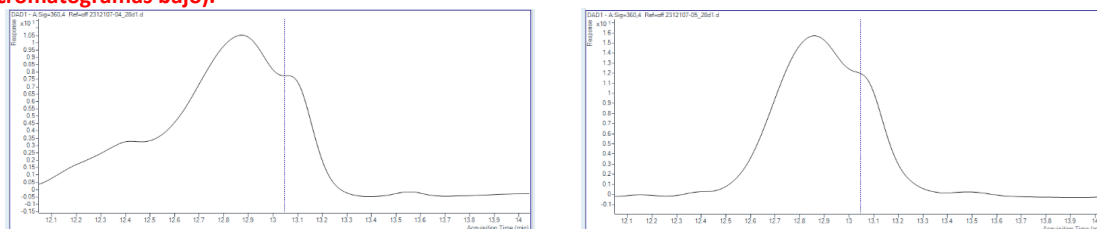


Ilustración 27. Señal del formaldehído mezclada con un compuesto no identificado.

El límite propuesto para las emisiones de formaldehído es de 0,050 ppm para artículos derivados de la madera, mobiliario e interiores de vehículos.

La propuesta está basada en el dossier remitido en febrero de 2021 por la Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas (ECHA), en el que se concluía que, debido a las emisiones de formaldehído de los artículos en el aire de los interiores, existe un riesgo para la salud de los consumidores que no se controla adecuadamente y que debe abordarse en el ámbito de la Unión Europea.

5. Resultados, conclusiones y medición

El HPLC es la técnica indicada para la medición de cantidades pequeñas de las sustancias de interés con alta sensibilidad y beneficios económicos respecto al resto. Se ha demostrado que el detector DAD es un detector multipropósito que permite una buena linealidad y una gran rapidez en análisis cuantitativos.

Se han utilizado métodos analíticos basados en la cromatografía líquida (HPLC-DAD), desarrollados a partir de la aplicación de una metodología sostenible, es decir, disminuyendo el impacto tanto económico como medioambiental. Los métodos de extracción desarrollados en la primera parte del proyecto se han formulado y ejecutado para la determinación de melamina ya que se trata de una sustancia perjudicial para la salud en materiales de uso cotidiano.

Una de las primeras diferencias observadas en los diferentes métodos de extracción de melamina en muestras destinadas al hábitat, se trata del disolvente orgánico utilizado. En acetonitrilo/H₂O (50.50) proporcionó unas condiciones más favorables en cuanto a solubilidad y extracción de la melamina en comparación con MeOH/H₂O (60.40). El contenido de agua en el disolvente también influyó ya que la melamina es más soluble en porcentajes de agua mayores. Además, otros factores como la interacción con otros componentes de la muestra, la presencia de impurezas o contaminantes, y las propiedades específicas del método de extracción (tiempo, temperatura, agitación, etc.) también desempeñan un papel en esta diferencia.

Por otro lado, en los modelos de extracción en los que se utilizó únicamente agua, la temperatura y el uso de ultrasonidos son aspectos clave que pueden influir. La extracción de melamina a 20 °C en comparación con 70 °C, así como la influencia de la utilización de ultrasonidos en la extracción, pudo estar relacionada con las propiedades físico-químicas de la melamina y sus interacciones con el disolvente y las condiciones experimentales. En algunos casos, a temperaturas altas, se pudo haber degradado o descompuesto parte del analito, afectando negativamente al resultado final. Por otro lado, los ultrasonidos pueden haber desestabilizado los componentes de interés.

La influencia del pH del medio en la extracción de melamina en muestras destinadas al hábitat es un tema de gran importancia en el ámbito de la química analítica y sobre todo si hablamos de seguridad de los ciudadanos. El pH del medio desempeña un papel importante en la eficacia y selectividad de la extracción de la melamina ya que afecta a la ionización y la solubilidad de la melamina en el disolvente utilizado. El pH alcalino favorece la extracción de melamina debido a sus propiedades químicas. En medio alcalino, la melamina experimenta un cambio en su grado de ionización haciendo que esta sea más soluble en el disolvente de extracción. Además, el pH alcalino puede alterar la interacción de la melamina con otros componentes presentes en la muestra lo que facilita su separación y extracción. Estos factores combinados

pueden contribuir a que el pH alcalino sea más propicio para la extracción eficiente de melamina en muestras destinadas al hábitat. Es importante tener en cuenta que la influencia del pH alcalino en la extracción puede variar dependiendo de las condiciones específicas del método de extracción y las características de la muestra.

Como alternativas ecológicas por su bajo costo y su biodegradabilidad sería la utilización de disolventes eutécticos profundos para extraer melamina en muestras del hábitat podría ser una futura línea de investigación prometedora. Dada la eficacia observada en la extracción con disolventes orgánicos, explorar el uso de disolventes eutécticos profundos podría ofrecer beneficios potenciales, con la reducción de residuos y la mejora de la eficiencia del proceso. Sería interesante investigar y comparar el rendimiento de estos disolventes con los métodos tradicionales para extraer melamina.

COVs

Las espumas sintéticas pueden liberar COVs como resultado de los procesos de fabricación o debido a la degradación del material con el tiempo. Los resultados de estas han dado por debajo del límite. La disminución en la emisión de COVs con el tiempo puede deberse a varios factores. Uno de ellos es la oxidación de los COVs en la atmósfera, lo que puede reducir su concentración con el paso del tiempo. Este tipo de hallazgos resalta la importancia de considerar el contexto temporal y las posibles influencias externas al interpretar las mediciones de COVs

AIDIMME

INSTITUTO TECNOLÓGICO

Domicilio fiscal —

C/ Benjamín Franklin 13. (Parque Tecnológico)
46980 Paterna. Valencia (España)
Tlf. 961 366 070 | Fax 961 366 185

Domicilio social —

Leonardo Da Vinci, 38 (Parque Tecnológico)
46980 Paterna. Valencia (España)
Tlf. 961 318 559 - Fax 960 915 446

aidimme@aidimme.es

www.aidimme.es