



**Universidad**  
Zaragoza

## Trabajo Fin de Máster

Estudio de HDPE reciclado para juguetes de  
niños

Recycled HDPE study for children's toys

Autor/es

Gemma Pacheco Marín

Director/es

Paula Vera Estacho  
Cristina Nerín de la Puerta

MÁSTER DE QUÍMICA INDUSTRIAL  
FACULTAD DE CIENCIAS  
Año 2022

## ÍNDICE

RESUMEN ABSTRACT .....	1
1. INTRODUCCIÓN/ANTECEDENTES .....	2
2. OBJETIVO Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO .....	4
3. PARTE EXPERIMENTAL .....	5
3.1. REACTIVOS Y MUESTRAS .....	5
3.2. INSTRUMENTAL .....	6
3.2.1. Optimización de las condiciones de ensayo para la técnica SPME .....	7
3.3. ENSAYOS DE MIGRACIÓN .....	9
3.4. IDENTIFICACIÓN COMPUESTOS MIGRANTES .....	11
3.5. CUANTIFICACIÓN .....	11
3.6. ANÁLISIS DE RIESGO .....	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	12
4.1. OPTIMIZACIÓN .....	12
4.2. IDENTIFICACIÓN .....	13
4.3. CUANTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE RIESGO .....	17
5. CONCLUSIONES .....	23
6. BIBLIOGRAFÍA .....	23
7. ANEXOS .....	25

## RESUMEN ABSTRACT

Debido al creciente consumo de plástico en el mundo surge la necesidad de buscar soluciones para minimizar el impacto ambiental, como por ejemplo fomentar una economía circular, mediante la reutilización y el reciclado de los plásticos.

En el presente trabajo se va a llevar a cabo un estudio de migración de polietileno de alta densidad (HDPE) reciclado y destinado para el uso de juguetes infantiles, donde se va a analizar el material reciclado en su totalidad, así como el mezclado con HDPE virgen.

Se llevaron a cabo dos tipos de análisis de migración; un estudio estático, donde se simulaba el contacto entre la saliva de los niños y el juguete, y un estudio dinámico, en el cual se simulaba la influencia de la fricción de los dientes de los niños con el juguete.

Los ensayos de migración se realizaron al simulante de saliva establecido por EFSA (European Food Safety Authority) y se analizaron por microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a cromatografía de gases con detector de masas (GC/MS), con una previa optimización de las mejores condiciones de análisis de dicho simulante: método de extracción, fibra SPME, efecto matriz mediante la dilución de la muestra previa a la inyección, tiempo y temperatura de extracción.

Como resultado se detectaron y cuantificaron, mediante la construcción de las rectas de calibrado correspondientes, 67 compuestos en el estudio estático, de los cuales tres no superaban el análisis de riesgo, bien por legislación o bien por la evaluación de su toxicidad por Cramer, en al menos una de las muestras obtenidas con los distintos porcentajes de rHDPE.

Análogamente, en el ensayo dinámico se detectaron y cuantificaron un total de 13 compuestos, superando todos ellos el análisis de riesgo aplicado.

*Due to the increasing consumption of plastic in the world, there is a need to find solutions to minimize the environmental impact, such as promoting a circular economy, through the reuse and recycling of plastics.*

*In the present work, a migration study of recycled high density polyethylene (HDPE) intended for being used in children's toys will be carried out, where the recycled material will be analyzed as a whole, and also mixed with virgin HDPE.*

*Two types of migration analysis were carried out; a static study, where the contact between the children's saliva and the toy was simulated, and a dynamic study, in which the influence of the friction of the children's teeth with the toy was simulated.*

*The migration tests were performed on the saliva simulant established by EFSA (European Food Safety Authority) and were analyzed by solid-phase microextraction (SPME) coupled to gas chromatography with mass detector (GC/MS), with prior optimization of the best conditions for analysis of the simulant: extraction method, SPME fiber, matrix effect by dilution of the sample prior to injection, extraction time and temperature.*

*As a result, 67 compounds were detected and quantified by constructing the corresponding calibration lines in the static study. Three compounds out of 67 did not pass the risk analysis, either by legislation or by Cramer evaluation, in at least one of the samples among the different percentages of rHDPE.*

*Similarly, in the dynamic test, a total of 13 compounds were detected and quantified, and all of them passed the applied risk analysis.*

## **1. INTRODUCCIÓN/ANTECEDENTES**

El plástico representa un papel muy importante, debido a su gran variedad de usos, tanto en envases, que contribuyen a garantizar la seguridad alimentaria y a reducir el desperdicio de alimentos, como en otros ámbitos como es el automovilístico, industrial, etc.

Durante los últimos 50 años, la producción de plástico ha ido aumentando, llegando a multiplicarse por 20 la producción mundial de plástico respecto al año 1960.

En la Unión Europea, tanto el reciclaje como la reutilización de plásticos una vez ha terminado su vida útil supone un porcentaje muy bajo respecto al total, por lo que la mayor parte de éstos acaba en vertederos o es incinerada, perjudicando así al medio ambiente.

Por esta razón en 2018 la Comisión Europea presentó la primera estrategia mundial integral para el plástico en una economía circular, estableciendo el enfoque de la Unión Europea para abordar los retos planteados por los plásticos. De esta forma, se han impuesto ciertas medidas para intensificar el reciclado del plástico, fomentando una economía circular que implica importantes beneficios tanto medioambientales como económicos. Para ello se necesita mejorar el modo de producción de plástico y su diseño, a la par de requerir una mayor cooperación en toda la cadena de valor, desde la industria, los fabricantes de plástico y las empresas transformadoras, hasta las empresas de gestión de residuos. En consecuencia, se genera crecimiento y empleo en Europa y se contribuye a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero y la dependencia de combustibles fósiles.

Para conseguir implantar todas estas medidas, se establece como fecha límite el año 2030, cuando todos los envases de plástico comercializados en la UE deberán poderse reciclar o

reutilizar, más de la mitad de los residuos plásticos generados en Europa deberán ser reciclados, y se deberá aumentar la capacidad de selección y reciclado, llegando a cuadruplicarse respecto al año 2015.<sup>1,2</sup>

Seguida de esta estrategia, se estableció la Directiva (UE) 2019/904 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de junio de 2019, relativa a la reducción del impacto de determinados productos de plástico en el medio ambiente, y tiene como objetivos *prevenir y reducir el impacto de determinados productos de plástico en el medio ambiente, en particular el medio acuático, y en la salud humana, así como fomentar la transición a una economía circular con modelos empresariales, productos y materiales innovadores y sostenibles, contribuyendo así también al funcionamiento eficiente del mercado interior*. Como resultado, se han prohibido determinados artículos de plástico de un solo uso, debiéndose sustituir por otros reutilizables.<sup>3</sup>

Por todo lo comentado anteriormente, se hace imprescindible un estudio minucioso de distintos plásticos reciclados, poniendo a prueba su seguridad para determinados usos concretos.

Los plásticos más utilizados y, por lo tanto, con mayor interés de estudio, son:

- Polietileno tereftalato (PET): fuerte, ligero y transparente. Denominado como poliéster en sus aplicaciones como tela para tejidos.
- Polietileno (PE), tanto de baja como de alta densidad: Fácilmente procesable y con aditivos, como antioxidantes entre otros.
- Policloruro de vinilo (PVC): habitualmente con bastantes aditivos, tales como plastificantes para hacerlo flexible y fácilmente procesable y con absorbedores de HCl, que se genera por descomposición del polímero.
- Polipropileno (PP): termoplástico de gran volumen. Es una olefina de baja densidad y bastante rígida, con una temperatura de distorsión térmica adecuada para aplicaciones de envasado a alta temperatura, y gran resistencia química y propiedades eléctricas.

En la actualidad, tanto el polietileno de alta densidad (HDPE), como el de baja densidad (LDPE) son los plásticos más utilizados, siendo ambos fuertes, no lixivian y se utilizan habitualmente en envases alimentarios, aunque el HDPE es menos flexible que el LDPE.<sup>4</sup>

Se ha estudiado el polietileno de alta densidad reciclado (rHDPE). El HDPE se caracteriza por tener una alta densidad debido a su bajo nivel de ramificaciones, y a sus altas fuerzas

intermoleculares. Es resistente a las bajas temperaturas, inerte (baja o nula reactividad), no tóxico, impermeable...

Algunas de sus aplicaciones son: envases de detergentes, lejía, aceites, champú, pintura, y similares, bolsas de la compra, menaje, macetas, piezas mecánicas, recubrimientos de lagunas, canales, canalones de lámina, lagos artificiales, etc.<sup>5</sup>

Estos envases son reciclados y tratados para destinarnos a diferentes usos, como para alimentación o juguetes infantiles, siendo este último uso el objetivo del presente trabajo.

Debido al riesgo que conlleva el uso en este tipo de aplicaciones, se debe llevar a cabo un estudio completo de las características y los riesgos que estos plásticos reciclados podrían conllevar, cogiendo como referencia la legislación destinada a envases de alimentos y similares, ya que en la actualidad todavía no existe normativa en relación al uso en juguetes.

Para realizar este estudio se utiliza la técnica de microextracción en fase sólida (SPME), que se basa en la adsorción de los analitos de la matriz (muestras tanto gaseosas, como líquidas o sólidas) en una fase sólida polimérica inmovilizada sobre una fibra. Ésta es una técnica ideal para la extracción de fracciones orgánicas volátiles, y consiste en concentrar los analitos en una fibra recubierta por una película de polímero. La SPME, en combinación con la cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS), hace posible la separación de los componentes de las muestras estudiadas.<sup>6</sup>

Generalmente, los compuestos de mayor interés en este estudio son los NIAS (Non-Intentionally Added Substances), que son compuestos no añadidos intencionadamente. Pueden formarse durante el proceso de fabricación y uso de materiales y objetos plásticos, generándose productos de reacción y degradación, por lo que están de forma involuntaria en el material plástico (NIA). Éstos pueden llegar a generar efectos toxicológicos y genotóxicos en las personas. Su origen puede venir de productos de degradación tanto de plásticos como de aditivos, de impurezas usadas en la fabricación, de productos de reacción, de contaminantes de procesos de reciclado de los plásticos, e incluso, en el caso de materiales reciclados, por el contacto con otros plásticos de diferentes materiales que están en contacto en los contenedores de recolección.<sup>7,8</sup>

## **2. OBJETIVO Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO**

El objetivo principal de este trabajo era estudiar la seguridad de un material novedoso de polietileno de alta densidad reciclado (rHDPE) para su uso en juguetes infantiles.

Las muestras de este estudio consistían en plásticos de rHDPE de distinta pureza: HDPE virgen, y distintos porcentajes de rHDPE reciclado (25%, 50%, 75% y 100%).

Para estudiar la seguridad de dichos materiales se estudiaron los posibles compuestos volátiles que migraban desde el material, para ello se realizaron dos tipos de análisis; estático, donde se simulaba el contacto entre la saliva de los niños y el juguete, y un estudio dinámico, en el cual se simulaba la influencia de la fricción de los dientes de los niños con el juguete. Todos estos ensayos se llevaron a cabo en el simulante de saliva. La técnica utilizada era la microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a cromatografía de gases con detector de masas (GC-MS), consiguiendo analizar compuestos volátiles con factores de preconcentración de hasta 100 gracias a la técnica SPME.

Para conseguir estos objetivos se realizaron los diferentes estudios:

- Optimización de las condiciones de ensayo para el análisis del simulante saliva mediante SPME; método de extracción, tipo de fibra SPME, efecto matriz con la dilución de la muestra, tiempo y temperatura de extracción
- Identificación de los compuestos migrantes de manera manual y automática
- Cuantificación de estos compuestos migrantes
- Análisis del riesgo derivado de la migración.

### **3. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **3.1. REACTIVOS Y MUESTRAS**

##### Reactivos

Para el simulante de saliva: cloruro de potasio (CAS 7447-40-7), carbonato de potasio (CAS 584-08-7), fosfato dipotásico (CAS 7758-11-4), cloruro de sodio (CAS 7647-14-5), cloruro de calcio (CAS 10043-52-4), cloruro de magnesio hexahidratado (CAS 7791-18-6), ácido clorhídrico (CAS 7647-01-0).

Para las rectas de calibrado: decanal (CAS 112-31-2), Difenil éter (CAS 101-84-8), 1-tetradecano (CAS 629-59-4), 2-etilhexil salicilato (CAS 118-60-5), benzofenona (CAS 119-61-9), butilato Hidroxytolueno (BHT) (CAS 128-37-0), limoneno (CAS 5989-27-5), 1-nonanol (CAS 143-08-8), 2,6-di-tert-butil-1,4-benzoquinona (CAS 719-22-2), 3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehido (CAS 1620-98-8), dietilftalato (CAS 84-66-2), isoborneol (CAS 124-76-5), 1-hexadecanol (CAS 36653-82-4), 2,4-di-tert-butilfenol (CAS 96-76-4),

7,9-di-tert-butil-1-oxaspiro (CAS 82304-66-3), 1-metil naftaleno (CAS 90-12-0), ciclohexanol (CAS 108-93-0), ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroximetil éster (CAS 6386-38-5), tetradeceno (CAS 1120-36-1), tolueno (CAS 108-88-3).

Todos ellos suministrados en Sigma-Aldrich Química S.A. con pureza >99%. Etanol de pureza 99% y el agua ultrapura de grado HPLC fueron suministrados por Scharlau Chemie S.A.

La disolución que simula la saliva se prepara mediante la adición de 745,5 mg de cloruro de potasio (KCl), 525,5 mg de carbonato de potasio ( $K_2CO_3$ ), 753,1 mg fosfato dipotásico ( $K_2HPO_4$ ), 327,3 mg de cloruro de sodio (NaCl), 147,0 mg de cloruro de calcio ( $CaCl_2$ ) y 166,7 mg de cloruro de magnesio hexahidratado ( $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ), en 1 litro de agua Milli-Q, ajustando el pH a 6,8 con ácido clorhídrico (HCl).

#### Muestras:

Las muestras para analizar consistían en preformas de rHDPE (Figura 1) fabricadas para el estudio en el taller de plásticos de la Escuela de Ingeniería y Arquitectura de Zaragoza (EINA). Con diferente porcentaje de reciclado; virgen (0%), 25%, 50%, 75% y 100% de reciclado.



**Figura 1.** Muestras de plástico virgen (izquierda) y 25% reciclado (derecha)

#### **3.2. INSTRUMENTAL**

El método utilizado para el análisis de las muestras fue la microextracción en fase sólida (SPME), (véase Anexo I) con cromatografía de gases Agilent serie 5975 y espectrometría de masas (GC-MS) (Figura 2). Esta técnica es capaz de mejorar la calidad de los resultados en términos de preconcentración, sensibilidad y selectividad.



**Figura 2.** Cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas

Las condiciones de ensayo para la extracción con SPME fueron optimizadas previamente, cuyo proceso de optimización se muestra a continuación. Las condiciones finales seleccionadas fueron las siguientes; se utilizó la fibra SPME (CAR/DVD/PDMS) por inmersión en el simulante saliva sin diluir. Las muestras de migración se extrajeron durante 45 min a una temperatura de 63 °C.

Las condiciones de GC-MS fueron las siguientes: Rampa de temperatura del horno de 50°C (5 min), 10°C/min hasta 300°C (5 min).

### 3.2.1. Optimización de las condiciones de ensayo para la técnica SPME

Previo al análisis de migración de las muestras se llevó a cabo una optimización de las mejores condiciones de análisis por SPME para el análisis del simulante saliva:

Se seleccionaron los siguientes parámetros para llevar a cabo su optimización:

- Tipo de extracción Head Space (HS) o inmersión
- Efecto matriz, con diluciones de la muestra
- Tiempo de fibra
- Tiempo y temperatura de extracción.

### 3.2.1.1.Optimización del método de extracción, dilución y tipo de fibra

En primer lugar, se optimizó el tipo de extracción; por inmersión o por Head Space (HS) (anexo I). A su vez, se estudió el efecto matriz es decir, como afectaba la disolución de saliva a la extracción de los compuestos migrantes. Para ello se compararon los resultados obtenidos sin diluir la muestra de saliva directamente analizada por SPME y frente a diferentes diluciones de la muestra (2,5 y 10). También se optimizó el tipo de fibra, donde se hizo una comparación de todos estos ensayos con dos fibras: fibra (PDMS 100  $\mu\text{m}$ ) y fibra (DVD/CAR/PDMS 50/30  $\mu\text{m}$ ).

Para realizar estos ensayos, se seleccionó la muestra HDPE con 100% reciclado. Y se llevó a cabo un ensayo de migración acelerado que consistía en poner las muestras en contacto durante 2 horas a 70°C. Para posteriormente ser analizadas y llevar a cabo su optimización. Para ello, se prepararon 16 viales con una capacidad de 20 mL, donde se colocó una superficie de 1x2  $\text{cm}^2$  de rHDPE del 100%, se añadieron 8 mL de simulante de saliva (6  $\text{dm}^3/1\text{kg}$  de simulante proporción establecida según la legislación 10/2011), y se metieron en el horno a 70 °C durante 2 horas, dos veces consecutivas.<sup>8</sup>

La mitad de ellos se analizaron por el método de análisis HS y la otra mitad por el método de análisis inmersión.

Para los análisis por HS, se llenaron los viales con 5 g de disolución. El primero de ellos con saliva tras la migración sin diluir, segundo con una dilución 1/10 de muestra/agua Milli-Q, otro con dilución 1/5, otro con dilución 1/2.

Se repitió el mismo ensayo, pero en este caso para realizarlo por el método inmersión, la única diferencia es el volumen de análisis que eran 18 mL de disolución de saliva, y al igual que antes, uno sin diluir, dilución 1/10, 1/5 y 1/2. Además de todos estos ensayos se prepararon los blancos respectivos de cada ensayo.

Y a su vez, se realizaron todos estos ensayos por duplicado, para ser analizados con las dos fibras: fibra (PDMS 100  $\mu\text{m}$ ) y fibra (DVD/CAR/PDMS 50/30  $\mu\text{m}$ ).

Al obtenerse los resultados, se hizo una identificación manual con ayuda del programa Data Analysis, en el que se fueron evaluando todos los picos presentes, tomando nota de sus tiempos de retención y de su identificación más probable (nombre y número CAS).

También se hizo una identificación automática con el software MSDIAL, que usa una biblioteca de espectros y los índices de Kovat para la determinación de cada pico. Esta última identificación sirvió para comparar con la manual, comprobando así que ambos métodos,

manual y automático, coincidían, y por lo tanto, que podría utilizarse directamente el automático para los restantes análisis de la investigación.

Con esta identificación, se hizo una comparación de los compuestos migrantes encontrados entre los dos métodos, y entre las distintas diluciones que se habían preparado así como entre las dos fibras, para seleccionar las mejores condiciones donde se extrajeran mayor número de compuestos y con mayor sensibilidad.

### 3.2.1.2.Optimización temperatura y tiempo de extracción

Tras la optimización de estas variables se continuó con la optimización de las condiciones temperatura y tiempo de extracción.

Para la optimización de las mejores condiciones de los parámetros temperatura y tiempo, se llevó a cabo un estudio con el software MODDE v6.0 (Umetrics AB). En el cual, se diseñaba una serie de experimentos a realizar, y la respuesta obtenida tras la realización de estos experimentos se ajustaba según un modelo matemático, determinando las condiciones óptimas de cada variable, así como, si estas variables influían o no, y de qué manera en la respuesta.

Se realizaron 11 experimentos según Anexo III de la migración de la muestra de 100% rHDPE tras la migración acelerada y se analizó por inmersión en SPME-GC-MS con la fibra DVD/CAR/PDMS.

## 3.3. ENSAYOS DE MIGRACIÓN

Se llevaron a cabo dos estudios de migración, basados en referencias de una investigación anterior:<sup>9</sup>

### a) Estudio estático

En este estudio se simulaba el contacto entre la saliva de los niños y el juguete a largo plazo. Consistía en estudiar los compuestos migrantes del plástico de HDPE reciclado y virgen que migraban a la saliva del niño que estaba jugando y chupando el juguete diferentes días y a largo plazo.

Para simular estas condiciones, se cortaron las muestras tanto las de diferentes porcentajes de reciclado (25%, 50%, 75% y 100%), así como la muestra virgen con una superficie de 2

cm<sup>2</sup> y se pusieron en contacto con 10 mL de simulante (6 dm<sup>2</sup>/1kg de simulante proporción establecida según la legislación 10/2011), realizando 3 réplicas y preparando sus blancos respectivos.<sup>8</sup>

Se metieron en el horno a 40°C (simulando aproximadamente la temperatura corporal) durante 5 días. Una vez transcurridos estos 5 días se trasvasó el contenido de todos los viales a otros viales limpios, correctamente etiquetados, y se guardaron en la nevera. En los viales originales (los que han estado en el horno) se volvieron a añadir 10 mL de simulante para repetir el ensayo durante 5 días más.

Una vez transcurrido este tiempo, se combinaron las disoluciones que se habían extraído con las nuevas, y estas fueron las muestras de análisis (5 muestras con 3 réplicas y un blanco perteneciente a cada una de ellas).

Finalmente, se analizaron con el método de SPME-GC-MS optimizado previamente.

#### b) Estudio dinámico

A diferencia del estudio estático, en este estudio se simulaba la mordedura de los niños en los juguetes en un momento determinado. Para ello, se añadió un volumen conocido de simulante en un vaso de precipitados, de 100 mL (6 dm<sup>2</sup>/1kg de simulante proporción establecida según la legislación 10/2011), junto con una cápsula de muestra del HDPE 100% reciclado y unas cuantas bolitas de vidrio (la misma cantidad en las tres réplicas).<sup>8</sup>

Se prepararon tres réplicas iguales, y se pusieron a una velocidad moderada en un agitador orbital y de vaivén Rotaterm, JP SELECTA (Figura 3), durante diferentes tiempos; 1, 2 y 3 horas, y 1, 3 y 5 días, tapándolas con papel de aluminio para evitar la evaporación del agua que forma parte del simulante.

Finalmente, las muestras se analizan mediante SPME GC-MS.



**Figura 3.** Agitador orbital y de vaivén Rotaterm JP SELECTA, con 3 réplicas del análisis

### **3.4. IDENTIFICACIÓN COMPUESTOS MIGRANTES**

Una vez realizados todos análisis de migración estática y dinámica se procedió a realizar la identificación de los compuestos presentes en todas las muestras.

En primer lugar, se extrajeron los datos de Data Analysis, y se convirtieron a la extensión requerida por el software MSDIAL (.abf) cuyo funcionamiento se detalla en el anexo.

A continuación, se inició el software, y se crearon tantos proyectos como muestras se tenían. Es decir, en el estudio estático, se crearon 5 proyectos: HDPE virgen, HDPE 25% reciclado, 50%, 75% y 100%, cada uno con sus 3 réplicas y su respectivo blanco. Y, en el estudio dinámico, donde se hizo ensayo únicamente de HDPE 100% reciclado, 6 proyectos; uno para cada tiempo; 1, 2 y 3 h, y 1, 3 y 5 días, cada uno con sus 3 réplicas y su blanco.

### **3.5. CUANTIFICACIÓN**

Una vez identificados todos los compuestos se obtuvo una lista todos estos que se agruparon en “familias”, es decir, en grupos de compuestos con estructuras bastante similares.

Para cada grupo se asignó un estándar de cuantificación disponible en el laboratorio (compuesto puro o en forma de disoluciones madre, cuyas concentraciones son perfectamente conocidas) para la cuantificación.

A continuación, se prepararon rectas de calibrado para cada estándar, con concentraciones desde los 0,1 ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) hasta los aprox 200 ppb. Para la elaboración de las rectas de calibrado, fue necesaria la utilización de una balanza analítica, para saber la concentración exacta de cada punto de las rectas de calibrado.

Finalmente, se obtuvieron los resultados de los análisis de las rectas (con ayuda de MSDIAL), pudiendo asignar a cada área de cada compuesto su concentración correspondiente, mediante la interpolación de cada área en la ecuación de la recta de calibrado de su grupo.

### **3.6. ANÁLISIS DE RIESGO**

Este análisis se realizó con la ayuda del Reglamento 10/2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos, ya que no existe ninguna legislación para el contacto con saliva, considerándose el riesgo de entrar en contacto con alimentos lo más similar.<sup>8</sup>

En primer lugar, se comprobó si los compuestos estaban regulados por el Reglamento, en caso afirmativo, se comprobó si cumplían con la legislación comparando sus SML (“specific

migration limit”, límite de migración específico para cada compuesto) con las concentraciones obtenidas en la cuantificación. Esto se hizo mediante la búsqueda de cada número CAS de los compuestos en el citado Reglamento.

En el caso de los compuestos que no estuvieran regulados mediante dicho Reglamento, se realizó un análisis del riesgo basado en la clasificación de la toxicidad individual de cada compuesto a partir del árbol de decisión de Cramer, que clasifica los compuestos en 3 clases. Estas clases, de menor a mayor toxicidad, son: clase I (baja toxicidad), que establece un límite de migración de concentración de 1800 ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) a partir del cual el compuesto se considera tóxico; clase II (media toxicidad), con límite de 540 ppb, y clase III, la más tóxica y, por lo tanto, con un límite de toxicidad inferior; de 90 ppb.<sup>10</sup>

La clasificación de Cramer se hizo con ayuda del software Toxtree, mediante el uso de los correspondientes SMILES (“Simplified Molecular Input Line Entry Specification”, o especificación de introducción lineal molecular simplificada) de los compuestos, los cuales se encuentran en la página Pubchem.<sup>11</sup>

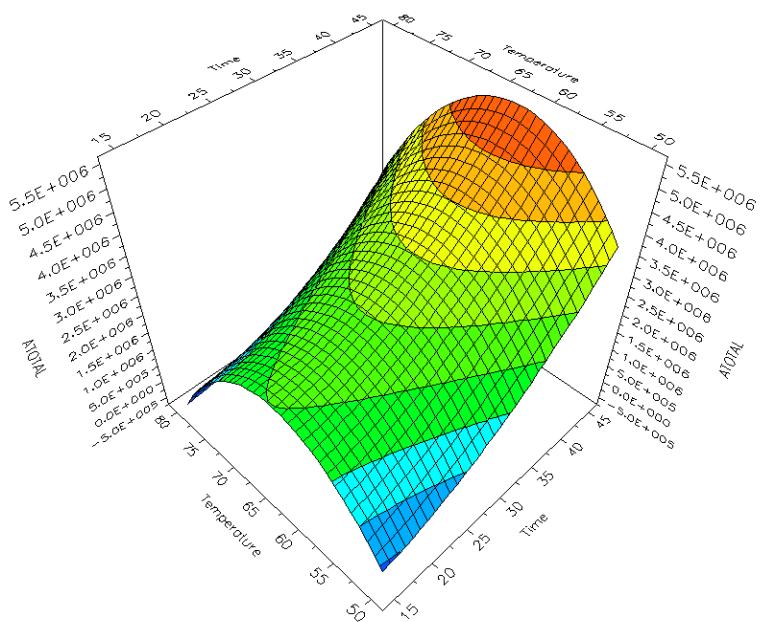
## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. OPTIMIZACIÓN

Tras los resultados obtenidos para los ensayos de optimización se concluyó, con ayuda de la identificación manual con el programa Data Analysis, y con la automática con MSDIAL, que la técnica de inmersión sin la necesidad de diluir la saliva y analizada con la fibra CAR/PDMS/DVB (30/50  $\mu\text{m}$ ), eran las óptimas condiciones, ya que era donde se detectaban un mayor número de compuestos que migraban y las áreas de la mayoría de estos compuestos eran mayores.

Tras el diseño experimental con el software MODDE v6.0 (Umetrics AB), se obtuvo la superficie de respuesta que representa las áreas de los compuestos en función de la temperatura y el tiempo de extracción. Se obtuvieron buenos ajustes para este modelo con una capacidad de interpretación de respuesta ( $R^2$ ) y una capacidad de predicción ( $Q^2$ ) cercana a 1 para todos los compuestos. Así como una buena validez y reproducibilidad, cercana a 1.

En cuanto a las condiciones de tiempo y temperatura, tal como se explica en el anexo III, de todas las combinaciones propuestas, con ayuda de los gráficos generados por MODDE, las mejores condiciones eran de 45 minutos a 63 °C, véase Figura 4.

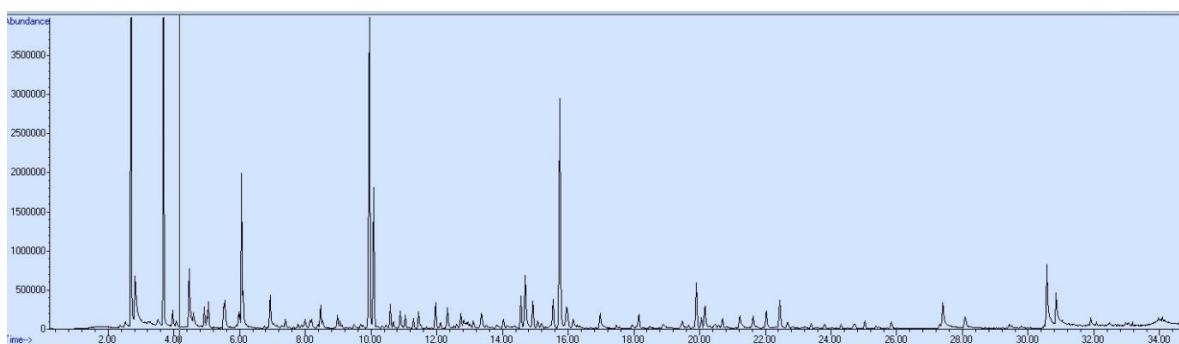


**Figura 4.** Gráfico de respuesta de superficie de la suma de todos los compuestos expresado en área con respecto al tiempo y la temperatura de extracción.

## 4.2. IDENTIFICACIÓN

### a) Migración estática

En la siguiente tabla (Tabla 1), se muestran todos los compuestos encontrados en las muestras tras la migración estática. También se muestra un cromatograma de los compuestos detectados para este análisis (Figura 5).



**Figura 5.** Visualización del cromatograma de rHDPE 100% reciclado con Data Analysis

**Tabla 1.** Lista de compuestos identificados en el estudio estático, con el orden en que aparecen, sus tiempos de retención y sus números CAS

Nº	t <sub>r</sub> (min)	Nombre compuesto	CAS
<b>1</b>	2,697	Ciclohexanol	108-93-0
<b>2</b>	3,509	Heptanal	111-71-7
<b>3</b>	4,071	Canfeno	79-92-5
<b>4</b>	4,586	Octanal	124-13-0
<b>5</b>	5,01	D-Limoneno	5989-27-5
<b>6</b>	5,051	Eucaliptol	470-82-6
<b>7</b>	5,546	7-Octen-2-ol, 2,6-dimetil-	18479-58-8
<b>8</b>	5,97	3-Octanol, 3,7-dimetil-	78-69-3
<b>9</b>	6,059	Nonanal	124-19-6
<b>10</b>	6,83	2-tert-Butilciclohexanona	1728-46-7
<b>11</b>	7,048	l-Mentona	14073-97-3
<b>12</b>	7,139	Isoborneol	124-76-5
<b>13</b>	7,283	1-Nonanol	143-08-8
<b>14</b>	7,396	Ciclohexanol, 2-(1,1-dimetiletil)-, cis-	7214-18-8
<b>15</b>	7,403	Ciclohexanol, 5-metil-2-(1-metiletil)-	1490-04-6
<b>16</b>	7,643	Ciclohexanol, 3,3,5-trimetil-, acetato, cis-	24691-16-5
<b>17</b>	7,772	.alfa.-Terpineol	8000-41-7
<b>18</b>	7,879	Dodecano	112-40-3
<b>19</b>	7,98	Decanal	112-31-2
<b>20</b>	8,147	1-Heptanol, 2-propil-	10042-59-8
<b>21</b>	8,194	Ciclohexanol, 4-(1,1-dimetiletil)-, trans-	21862-63-5
<b>22</b>	9,054	p-Men-8-en-3-ol, acetato	89-49-6
<b>23</b>	9,476	1-Decanol	112-30-1
<b>24</b>	9,682	4,7-Metano-1H-indenol, hexahidro-	37275-49-3
<b>25</b>	9,946	thujanol acetato (3-)	
<b>26</b>	10,078	O-T-Butilciclohexil acetato (cis); EI-B; MS	88-41-5
<b>27</b>	10,34	Undecanal	112-44-7
<b>28</b>	10,461	4-(t-Butil)benzaldehido	939-97-9
<b>29</b>	10,582	Ciclohexanol, 2-(1,1-dimetiletil)-, acetato, cis-	20298-69-5
<b>30</b>	10,675	Benceno etanol, .alfa.,.alfa.-dimetil-, acetato	151-05-3
<b>31</b>	11,041	4-tert-Butilciclohexil acetato	32210-23-4
<b>32</b>	11,442	.alfa.-Terpinil acetato	80-26-2
<b>33</b>	11,963	P-T-Butilciclohexil acetato (cis); EI-B; MS	
<b>34</b>	12,113	2-Buten-1-ona, 1-(2,6,6-trimetil-2-ciclohexen-1-il)-, (E)-	43052-87-5
<b>35</b>	12,519	1-Tetradeceno	1120-36-1
<b>36</b>	12,735	Tetradecano	629-59-4
<b>37</b>	12,814	Difenil éter	101-84-8
<b>38</b>	13,847	5-Metil-5-fenil-3-hexanona	4927-36-0
<b>39</b>	14,028	1-(4-tert-butilfenil)propan-2-ona	81561-77-5

<b>40</b>	14,151	Naftaleno, 2-metoxi-	93-04-9
<b>41</b>	14,373	3-(4-Isopropilfenil)-2-metilpropionaldehido	103-95-7
<b>42</b>	14,564	2,6-Di-tert-butil-1,4-benzoquinona	719-22-2
<b>43</b>	14,665	Butilato Hidroxitolueno	128-37-0
<b>44</b>	14,699	1-Dodecanol	112-53-8
<b>45</b>	14,924	.alfa. Isometil ionona	127-51-5
<b>46</b>	15,077	3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-	14901-07-6
<b>47</b>	15,187	Ácido Butanoico, 1,1-dimetil-2-feniletil éster	10094-34-5
<b>48</b>	15,478	Fenol, 2,5-bis(1,1-dimetiletil)-	5875-45-6
<b>49</b>	15,747	2,4-Di-tert-butilfenol	96-76-4
<b>50</b>	15,986	1-Penten-3-one, 1-(2,6,6-trimetil-2-ciclohexen-1-il)-	7779-30-8
<b>51</b>	16,156	Lilial	39390-70-0
<b>52</b>	17,943	1-Hexadecene	80-54-6
<b>53</b>	17,965	Dietil ftalato	84-66-2
<b>54</b>	18,137	Hexadecano	544-76-3
<b>55</b>	18,88	Benzofenona	119-61-9
<b>56</b>	19,903	(7a-Isopropenil-4,5-dimetiloctahidroinden-4-il) metanol	
<b>57</b>	20,221	n-Hexil salicilato	6259-76-3
<b>58</b>	20,696	(7a-Isopropenil-4,5-dimetiloctahidroinden-4-il) metanol	
<b>59</b>	21,695	Ciclohexil salicilato	25485-88-5
<b>60</b>	22,027	Octanal, 2-(fenilmetileno)-	101-86-0
<b>61</b>	22,248	Metanone, (4-metilfenil) fenil-	134-84-9
<b>62</b>	22,451	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehido	1620-98-0
<b>63</b>	23,4	Octadecano	593-45-3
<b>64</b>	23,801	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxacetofenona	14035-33-7
<b>65</b>	24,7	Ciclopenta[g]-2-benzopirano, 1,3,4,6,7,8-hexahidro-4,6,6,7,8,8-hexametil-	1222-05-5
<b>66</b>	24,716	7-Acetyl-6-etyl-1,1,4,4-tetrametiltetralina	88-29-9
<b>67</b>	25,365	1-Hexadecanol	36653-82-4

Se identificaron un total de 67 compuestos, entre ellos IAS (compuestos añadidos intencionadamente) y NIAS (compuestos añadidos no intencionadamente).

Por ejemplo, algunos IAS encontrados en la lista serían 1-tetradeceno (utilizado en síntesis de PE), Butilato hidroxitolueno (plastificante), o Dietil ftalato (plastificante), Benzofenona (absorbente de UV), Metanona, (4-metilfenil) fenil- (agente estabilizador), 2-n-Propil-1-heptanol como material de partida para la producción de plastificantes.

También se pueden encontrar varios NIAS, entre ellos: Octanal y 3-octanol, 3,7-dimetil-, productos de degradación de polímeros, 2,6-Di-tert-butil-1,4-benzoquinona, 2,4-Di-tert-butilfenol. Fenol, 2,5-bis(1,1-dimetiletil)-, 3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehido y 3,5-di-

tert-Butil-4-hidroxiacetofenona, siendo productos de degradación de aditivos que son plastificantes de mayor peso molecular como el Irganox 1076, Irganox 1010.<sup>12</sup>

Octanal, 2-(fenilmetileno), 7-Acetyl-6-etil-1,1,4,4-tetrametiltetralina, Ciclohexil salicilato, n-Hexil salicilato, alfa. Isometil ionona, Naftaleno, 2-metoxi-, Difenil éter, 4-tert-Butilciclohexil acetato, nonanal, l-Mentona, Isoborneol, 1-Nonanol, Decanal, p-Ment-8-en-3-ol, acetato que son compuestos usados como ingredientes de fragancia usados en perfumes y en productos de higiene personal. O el compuesto lilial, utilizado en productos de limpieza, o ciclohexanol disolvente de limpieza, o heptanal como precursor en lubricantes.

Canfeno, limoneno como aditivo alimentario y Eucaliptol y Limoneno usado en envase activo como material antioxidante y alfa.-Terpineol como pesticida.

### b) Migración dinámica

En la siguiente tabla, se muestran todos los compuestos encontrados en las muestras tras la migración dinámica.

**Tabla 2.** Lista de compuestos identificados en el estudio estático, con el orden en que aparecen, sus tiempos de retención y sus números CAS

Nº	t <sub>r</sub> (min)	Nombre compuesto	CAS
	2,629	Tolueno	108-88-3
<b>6</b>	5,072	Eucaliptol	470-82-6
<b>7</b>	5,588	7-Octen-2-ol, 2,6-dimetil-	18479-58-8
<b>8</b>	6,006	3-Octanol, 3,7-dimetil-	78-69-3
<b>12</b>	7,313	Isoborneol	124-76-5
<b>14</b>	7,406	Ciclohexanol, 2-(1,1-dimetiletil)-	13491-79-7
<b>15</b>	7,427	Ciclohexanol, 5-methyl-2-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,2.alfa.,5.beta.)]-	15356-70-4
<b>25</b>	9,939	thujanol acetato (3-)	62181-90-2
<b>26</b>	10,078	O-T-Butilciclohexil acetato (cis); EI-B; MS	88-41-5
	11,961	Ciclohexanol, 4-(1,1-dimetiletil)-, acetato, trans-	1900-69-2
<b>39</b>	14,078	1-(4-tert-Butilfenil)propan-2-ona	81561-77-5
<b>49</b>	15,74	2,4-Di-tert-butilfenol	96-76-4
<b>62</b>	22,445	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehído	1620-98-0

Como se puede comprobar, el número de compuestos que migraban era mucho menor como cabía esperar, ya que las condiciones de migración tanto de tiempo de contacto como de temperatura eran menores.

Cabe destacar que apareció un nuevo compuesto; el Tolueno, utilizado como disolvente.

#### **4.3. CUANTIFICACIÓN Y ANÁLISIS DE RIESGO**

Tras la identificación de los compuestos migrantes, se llevó a cabo la cuantificación de estos. Las rectas de calibrado de cada compuesto se muestran en el Anexo IV. Como se muestra en este anexo, se obtuvieron muy buenas sensibilidades con concentraciones comprendidas entre 0,32 y 659 ppb (variables para cada recta de calibrado, determinadas por el rango lineal), así como muy buenos coeficientes de regresión cercanos a 0,99.

En las tablas 3 y 4 se muestran todos los datos de migración de las muestras, además de sus análisis de riesgo.

Observando estas tablas se puede comprobar que la migración de los compuestos en la mayor parte de los casos sigue una tendencia ascendente al aumentar el porcentaje de reciclado. Además, en el caso del estudio dinámico (tabla 4), incrementaban con el tiempo de contacto todos los compuestos excepto el compuesto 2,4-Di-tert-butilfenol, que se encontraba en el material virgen.

De todos los compuestos identificados y cuantificados en las muestras, solo se encontraban tres regulados mediante el Reglamento 10/2011, todos pertenecientes al estudio estático; se evaluó la toxicidad del resto de compuestos de ambos estudios mediante Cramer.

Tal como se muestra en la tabla 3, en el estudio estático el 4,5% de los compuestos analizados se encontraban en el citado Reglamento, el 64,2% pertenecían a la clase I de Cramer, el 17,9% a la clase II, y el 13,4% a la clase III.

En cuanto a la tabla 4, perteneciente al estudio dinámico, recoge los resultados del estudio dinámico, donde el 46,1% pertenecen a la clase I de Cramer, el 23,1% a la clase II, y el 30,8% a la clase III.

Una vez comparados los resultados bien con los límites de concentración establecidos por el Reglamento, o con los límites pertenecientes a cada clase de Cramer, en el ensayo estático (tabla 3) no superaron el análisis de riesgo tres compuestos en al menos una de las muestras de entre los distintos porcentajes de rHDPE, y en el ensayo dinámico (tabla 4) todos entraban dentro de los límites establecidos.

**Tabla 3.** Resultados de la cuantificación y análisis de riesgo de los compuestos resultantes de la migración estática de las muestras de rHDPE

Nº	Nombre compuesto	Estándar para la cuantificación	Concentración ± incertidumbre (ppb; µg/kg)						SML (µg/kg)/clase	¿Cumple?
			Muestra virgen	Muestra 25%	Muestra 50%	Muestra 75%	Muestra 100%			
1	Ciclohexanol	Ciclohexanol	<1,02	<1,02	<1,02	<3,42	29,8 ± 3,5	Clase II	SÍ	
2	Heptanal	Decanal	<3,09	<3,09	<3,09	<10,3	20,9 ± 1,5	Clase I	SÍ	
3	Canfeno	Isoborneol	<0,19	1,15 ± 0,17	2,84 ± 0,21	6,41 ± 0,46	7,12 ± 0,09	Clase I	SÍ	
4	Octanal	Decanal	<3,09	<10,3	11,3 ± 2,5	11,7 ± 0,5	21,9 ± 2,9	Clase I	SÍ	
5	D-Limoneno	D-Limoneno	<0,17	0,97 ± 0,04	2,16 ± 0,17	2,41 ± 0,29	4,81 ± 0,23	Clase I	SÍ	
6	Eucaliptol	Isoborneol	<0,19	2,87 ± 0,12	5,60 ± 0,61	9,46 ± 0,89	12,3 ± 2,2	Clase III	SÍ	
7	7-Octen-2-ol, 2,6-dimetil-	1-Nonanol	<1,77	32,5 ± 3,5	46,4 ± 9,6	84,8 ± 5,4	132 ± 17	Clase III	100 % NO	
8	3-Octanol, 3,7-dimetil-	1-Nonanol	<1,77	43,6 ± 4,7	61,2 ± 12,1	110 ± 6	164 ± 25	Clase III	75 y 100 % NO	
9	Nonanal	Decanal	<1,77	<1,77	<1,77	<10,3	181 ± 26	Clase I	SÍ	
10	2-tert-Butilciclohexanona	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehído	<0,19	<0,19	0,91 ± 0,08	1,04 ± 0,11	1,22 ± 0,07	Clase II	SÍ	
11	l-Mentona	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehído	<0,19	<0,19	<0,63	1,41 ± 0,15	1,70 ± 0,63	Clase II	SÍ	
12	Isoborneol	Isoborneol	<0,19	<0,63	<0,63	<0,63	1,47 ± 0,26	Clase I	SÍ	
13	1-Nonanol	1-Nonanol	<1,77	<1,77	13,8 ± 0,9	18,3 ± 2,0	18,9 ± 5,2	Clase I	SÍ	
14	Ciclohexanol, 2-(1,1-dimetiletil)-, cis-	Ciclohexanol	<1,02	7,21 ± 0,35	10,9 ± 0,4	16,6 ± 0,8	25,0 ± 3,3	Clase I	SÍ	
15	Ciclohexanol, 5-metil-2-(1-metiletil)-	Ciclohexanol	<1,02	<1,02	9,42 ± 0,95	15,64 ± 1,20	19,0 ± 1,9	Clase I	SÍ	
16	Ciclohexanol, 3,3,5-trimetil-, acetato, cis-	Ciclohexanol	<1,02	<3,4	3,94 ± 0,28	4,52 ± 0,09	6,36 ± 0,84	Clase I	SÍ	
17	.alfa.-Terpineol	Ciclohexanol	<1,02	<1,02	5,41 ± 0,43	9,23 ± 0,38	13,5 ± 1,9	Clase III	SÍ	
18	Dodecano	Tetradecano	<0,17	<0,57	5,75 ± 1,14	8,46 ± 0,95	12,2 ± 2,0	Clase I	SÍ	
19	Decanal	Decanal	<3,09	<3,09	<10,3	10,5 ± 1,5	17,8 ± 2,9	Clase I	SÍ	
20	1-Heptanol, 2-propil-	1-nonanol	<1,77	<1,77	<5,90	27,8 ± 5,5	41,1 ± 5,9	Clase I	SÍ	

21	Ciclohexanol, 4-(1,1-dimetiletil)-, trans-	Ciclohexanol	<1,02	<1,02	15,2 ± 3,2	25,2 ± 2,8	44,7 ± 4,0	Clase I	SÍ
22	p-Ment-8-en-3-ol, acetato	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, metil éster	<10,2	<10,2	<33,9	111 ± 5	132 ± 26	Clase II	SÍ
23	1-Decanol	1-Nonanol	<1,77	<1,77	<1,77	<5,90	27,2 ± 7,2	Clase I	SÍ
24	4,7-Metano-1H-indenol, hexahidro-	Isoborneol	<0,19	<0,63	<0,63	4,00 ± 0,16	5,66 ± 1,40	Clase III	SÍ
25	thujanol acetato (3-)	Isoborneol	<0,19	145 ± 14	246 ± 18	334 ± 15	502 ± 46	Clase II	SÍ, pero 100% justa
26	O-t-butilciclohexil acetato (cis); EI-B; MS	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, metil éster	<10,2	619 ± 67	1030 ± 70	1420 ± 50	2110 ± 350	Clase II	NO
27	Undecanal	Decanal	<3,09	<3,09	<3,09	<3,09	10,3 ± 0,8	Clase I	SÍ
28	4-(t-Butil)benzaldehído	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	<0,79	3,90 ± 0,79	6,33 ± 0,64	9,64 ± 1,30	Clase I	SÍ
29	Ciclohexanol, 2-(1,1-dimethyléthyl)-, acetato, cis-	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, metil éster	<10,2	150 ± 14	213 ± 11	277 ± 8	387 ± 61	Clase II	SÍ
30	Bencenoetanol, .alfa.,.alfa.-dimetil-, acetato	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, metil éster	<10,2	82,9 ± 3,1	94,8 ± 6,7	114 ± 4	142 ± 19	Clase I	SÍ
31	4-tert-Butilciclohexil acetato	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, methyl éster	<10,2	<10,2	143 ± 9	182 ± 9	249 ± 41	Clase II	SÍ
32	.alpha.-Terpinil acetato	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, metil éster	<10,2	168 ± 5	128 ± 7	165 ± 9	273 ± 57	Clase I	SÍ
33	P-t-butilciclohexil acetato (cis); EI-B; MS	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, metil éster	<10,2	<10,2	243 ± 14	330 ± 15	461 ± 60	Clase II	SÍ, pero 100% justa

34	2-Buten-1-ona, 1-(2,6,6-trimetil-2-ciclohexen-1-yl)-, (E)-	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	5,06 ± 0,52	8,35 ± 0,24	12,7 ± 0,4	22,3 ± 3,4	Clase I	SÍ
35	1-Tetradeceno	1-Tetradeceno	<0,17	<0,17	<0,57	3,25 ± 0,35	4,08 ± 0,9	50	SÍ
36	Tetradecano	Tetradecano	<0,12	<0,40	12,3 ± 1,2	20,1 ± 2,6	28,6 ± 8	Clase I	SÍ
37	Difenil éter	Difenil éter	<0,85	2,86 ± 0,53	2,84 ± 0,44	4,22 ± 0,46	5,59 ± 1,12	Clase III	SÍ
38	5-Metil-5-fenil-3-hexanona	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	<0,24	5,26 ± 0,49	7,83 ± 0,45	11,8 ± 1,8	Clase I	SÍ
39	1-(4-tert-Butilfenil) propan-2-ona	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	4,00 ± 0,31	6,18 ± 0,68	12,1 ± 0,6	19,1 ± 2,9	Clase I	SÍ
40	Naftaleno, 2-metoxi-	1-metil- naftaleno	<1,66	<1,66	<5,53	18,4 ± 3,6	33,6 ± 7,1	Clase III	SÍ
41	3-(4-Isopropilfenil)-2-metilpropionaldehído	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	<0,79	2,62 ± 0,27	3,76 ± 0,36	5,29 ± 0,72	Clase I	SÍ
42	2,6-Di-tert-butil-1,4-benzoquinona	2,6-Di-tert-butil-1,4-benzoquinona	<0,19	13,4 ± 1,1	23,0 ± 0,6	31,6 ± 2,5	63,2 ± 4,3	Clase II	SÍ
43	Butilato Hidroxitolueno	Butilato Hidroxitolueno	<0,18	<0,18	<0,18	<0,60	2,43 ± 0,30	3000	SÍ
44	1-Dodecanol	1-Hexadecanol	<0,10	<0,33	1,36 ± 0,18	1,80 ± 0,38	4,08 ± 0,50	Clase I	SÍ
45	.alfa. Isometil ionona	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	10,6 ± 1,3	20,4 ± 0,7	29,9 ± 1,8	46,9 ± 3,9	Clase I	SÍ
46	3-Buten-2-ona, 4-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	3,87 ± 0,33	7,28 ± 0,31	10,7 ± 1,3	18,5 ± 2,3	Clase I	SÍ
47	Ácido butanoico, 1,1-dimethyl-2-feniletil éster	2-Etilhexil salicilato	<1,67	<1,67	34,8 ± 1,7	51,7 ± 4,6	71,1 ± 7,1	Clase I	SÍ
48	Fenol, 2,5-bis(1,1-dimetiletil)-	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	<0,24	<0,24	<0,79	6,60 ± 0,48	Clase I	SÍ
49	2,4-Di-tert-butylphenol	2,4-Di-tert-butilfenol	759 ± 18	816 ± 123	729 ± 31	699 ± 11	816 ± 72	Clase I	SÍ
50	1-Penten-3-ona, 1-(2,6,6-trimetil-2-ciclohexen-1-il)-	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	3,37 ± 0,37	5,68 ± 0,32	8,47 ± 0,22	12,3 ± 0,9	Clase I	SÍ
51	Lilial	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	4,91 ± 0,34	8,21 ± 0,71	11,1 ± 0,64	16,3 ± 1,8	Clase I	SÍ
52	1-Hexadeceno	1-Tetradeceno	<0,17	<0,17	3,54 ± 0,41	4,19 ± 0,50	4,93 ± 1,35	Clase I	SÍ
53	Dietil Ftalato	Dietil Ftalato	<0,91	<0,91	22,7 ± 0,9	17,8 ± 1,9	20,7 ± 3,8	Clase I	SÍ
54	Hexadecano	Tetradecano	<0,12	<0,12	10,7 ± 0,8	17,1 ± 1,8	23,2 ± 2,8	Clase I	SÍ
55	Benzofenona	Benzofenona	<4,33	<4,33	<14,3	27,8 ± 0,93	63,8 ± 7,4	600	SÍ

56	(7a-Isopropenil-4,5-dimetiloctahidroinden-4-il) metanol	7,9-Di-tert-butil-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dieno-2,8-diona	<0,43	<0,43	16,1 ± 0,39	22,8 ± 0,6	32,5 ± 0,7	Clase I	SÍ
57	n-Hexil salicilato	2-Etilhexil salicilato	<1,67	<1,67	<1,67	<5,57	29,2 ± 4,6	Clase I	SÍ
58	(7a-Isopropenil-4,5-dimetiloctahidroinden-4-yl)metanol	7,9-Di-tert-butil-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dieno-2,8-diona	<0,43	<0,43	<1,43	3,01 ± 0,09	4,76 ± 0,10	Clase I	SÍ
59	Ciclohexil salicilato	2-Etilhexil salicilato	<1,67	<1,67	<1,67	<5,57	24,4 ± 3,4	Clase I	SÍ
60	Octanal, 2-(fenilmetileno)-	2-Etilhexil salicilato	<1,67	<1,67	42,3 ± 4,2	71,4 ± 6,7	155 ± 30	Clase I	SÍ
61	Metanona, (4-metilfenil)fenil-	Benzofenona	<4,33	<4,33	<4,33	<4,33	16,1 ± 1,60	Clase III	SÍ
62	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehído	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehído	<0,19	2,04 ± 0,37	3,64 ± 0,21	6,02 ± 0,57	8,28 ± 1,04	Clase II	SÍ
63	Octadecano	Tetradecano	<0,12	<0,12	<0,40	4,52 ± 0,52	7,31 ± 1,18	Clase I	SÍ
64	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxiacetofenona	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehído	<0,19	<0,19	<0,19	2,39 ± 0,45	3,01 ± 0,46	Clase II	SÍ
65	Ciclopenta[g]-2-benzopiran, 1,3,4,6,7,8-hexahidro-4,6,6,7,8,8-hexametil-	7,9-Di-tert-butil-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dieno-2,8-diona	<0,43	<0,43	<0,43	<1,43	6,24 ± 0,37	Clase III	SÍ
66	7-Acetil-6-ethyl-1,1,4,4-tetrametiltetralina	7,9-Di-tert-butil-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-dieno-2,8-diona	<0,43	<0,43	3,98 ± 0,97	6,26 ± 0,48	11,9 ± 0,0	Clase I	SÍ
67	1-Hexadecanol	1-Hexadecanol	<0,10	<0,10	<0,10	<0,33	0,49 ± 0,12	Clase I	SÍ

**Tabla 4.** Resultados de la cuantificación y análisis de riesgo de los compuestos resultantes de la migración dinámica de las muestras 100% rHDPE

Nº	Nombre compuesto	Estándar para la cuantificación	Concentración ± incertidumbre (ppb; µg/kg)							Clase	¿Cumple?
			1 h	2 h	3 h	1 día	3 días	5 días			
	Tolueno		<1,67	<1,67	<0,50	<0,50	<0,50	<0,50	Clase I		
6	Eucaliptol	Isoborneol	<0,63	<0,63	<0,63	<0,63	2,47 ± 0,72	7,89 ± 1,48	Clase III	SÍ	
7	7-Octen-2-ol, 2,6-dimetil-	1-Nonanol	<1,77	<1,77	<1,77	<1,77	<5,90	15,29 ± 0,44	Clase III	SÍ	
8	3-Octanol, 3,7-dimetil-	1-Nonanol	<1,77	<1,77	<1,77	<1,77	6,79 ± 0,35	9,74 ± 1,34	Clase III	SÍ	
12	Isoborneol	Isoborneol	<0,19	<0,19	<0,19	<0,19	<0,63	1,10 ± 0,09	Clase I	SÍ	
14	Ciclohexanol, 2-(1,1-dimetiletil)-	Ciclohexanol	<1,02	<1,02	<1,02	<1,02	<3,40	5,61 ± 0,49	Clase I	SÍ	
15	Ciclohexanol, 5-metil-2-(1-metiletil)-, [1S-(1.alfa.,2.alfa.,5.beta.)]-	Ciclohexanol	<1,02	<1,02	<1,02	<1,02	<1,02	3,83 ± 0,33	Clase I	SÍ	
25	thujanol acetato (3-)	Isoborneol	<0,63	<0,63	1,51 ± 0,03	3,73 ± 0,37	5,66 ± 0,80	12,0 ± 1,5	Clase II	SÍ	
26	O-t-butilciclohexil acetato (cis); EI-B; MS	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, metil éster	<10,2	<10,2	<10,2	<33,9	96,3 ± 5,6	122 ± 12	Clase II	SÍ	
	Ciclohexanol, 4-(1,1-dimetiletil)-, acetato, trans-	Ácido bencenopropanoico, 3,5-bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxi-, metil éster	<10,2	<10,2	<10,2	<10,2	<33,9	73,0 ± 12,7	Clase III	JUSTO	
39	1-(4-tert-Butilfenil)propan-2-ona	2,4-Di-tert-butilfenol	<0,24	<0,24	<0,24	<0,24	<0,79	3,52 ± 0,60	Clase I	SÍ	
49	2,4-Di-tert-butilfenol	2,4-Di-tert-butilfenol	20,3 ± 0,9	9,50 ± 1,27	10,1 ± 2,4	20,1 ± 0,6	58,1 ± 5,4	349 ± 47	Clase I	SÍ	
62	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehido	3,5-di-tert-Butil-4-hidroxibenzaldehido	7,79 ± 1,46	6,86 ± 0,87	6,15 ± 0,80	6,14 ± 0,80	8,15 ± 1,89	23,4 ± 3,26	Clase II	SÍ	

## 5. CONCLUSIONES

Se ha optimizado un método HS-SPME-GC-MS para el análisis de la migración de muestras fabricadas con diferente porcentaje de rHDPE, dicho material utilizado para juguetes para niños.

Se han desarrollado dos tipos de análisis de migración a simulante de saliva; estático y dinámico para simular el contacto de un niño chupando el juguete a largo plazo o simulando la mordida con distintos tipos de tiempos de contacto.

El método desarrollado con alta sensibilidad y selectividad ha permitido identificar de modo automático 67 compuestos volátiles. Donde se han encontrado varios IAS como 1-tetradecene (síntesis de PE), Butilato hidroxitolueno (plastificante), Dietil Ftalato (plastificante), Benzofenona (absorbente de UV), etc, y NIAS como octanal, ciclohexil salicilato, canfeno o limoneno.

Se ha evaluado el riesgo referente a estos compuestos, mostrando un total de tres compuestos del estudio estático que superan los límites del análisis de riesgo en al menos una de las muestras de los distintos porcentajes de rHDPE, y ninguno en el estudio dinámico. Por tanto, estos materiales no son aptos para el uso como juguetes para niños, y es necesario desarrollar nuevas metodologías para la limpieza de rHDPE.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- (1) *European Environment Agency's home page — European Environment Agency.* <https://www.eea.europa.eu/> (accessed 2022-07-13).
- (2) Comunicación de la Comisión al Parlamento Europeo, al Consejo, al Comité Económico y Social Europeo y al Comité de las regiones. Una estrategia europea para el plástico en una economía circular, de 16 de enero de 2018, n° CELEX: 52018DC0028.
- (3) Directiva (UE) 2019/904 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 5 de junio de 2019, relativa a la reducción del impacto de determinados productos de plástico en el medio ambiente, DO L 155, de 12 de junio de 2019, página 1/19, n° CELEX: 32019L0904.
- (4) *Perfiles de polímeros: Una guía de los plásticos más utilizados en el mundo.* Ciencia Acelerada. <https://www.thermofisher.com/blog/cienciaacelerada/materiales/perfiles-de-polimeros-una-guia-de-los-plasticos-mas-utilizados-en-el-mundo/> (accessed 2022-07-14).
- (5) *Polietileno.* <https://www.quimica.es/enciclopedia/Polietileno.html> (accessed 2022-07-14).

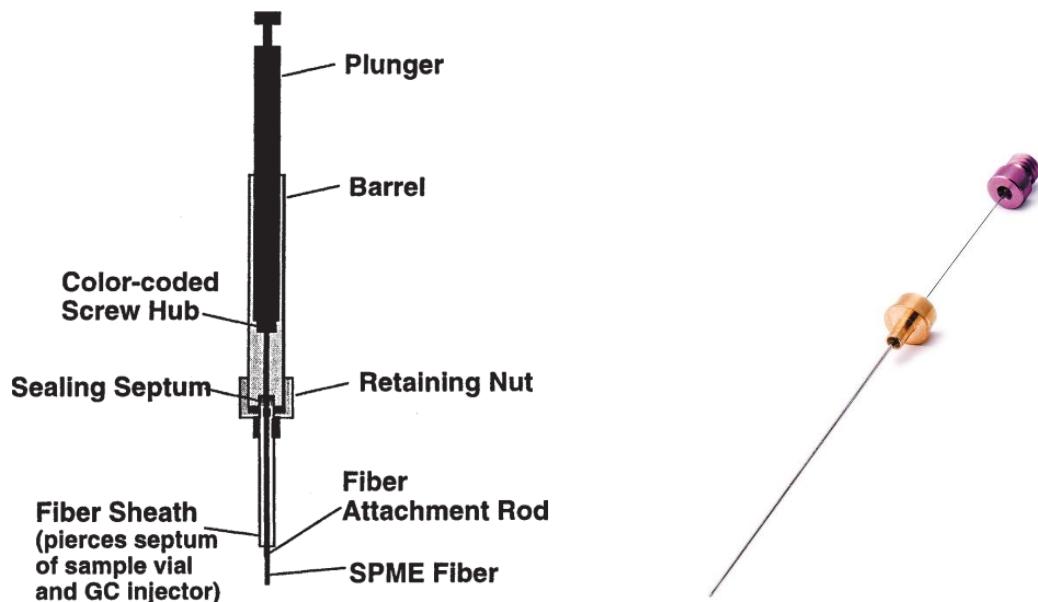
- (6) *SPME-GC/MSD.* <https://www.ingenieria-analitica.com/spme-gc-msd-422.html> (accessed 2022-07-14).
- (7) Enguix, C. NIAS y riesgos contaminantes en envases plásticos. *Ainia*, 2018.
- (8) Reglamento (UE) nº 10/2011 de la Comisión, de 14 de enero de 2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos, DO L 12, de 15 de enero de 2011, página 1/89, nº CELEX: 32011R0010.
- (9) Noguerol-Cal, R.; López-Vilarín, J. M.; González-Rodríguez, M. V.; Barral-Losada, L. Effect of Several Variables in the Polymer Toys Additive Migration to Saliva. *Talanta* **2011**, 85 (4), 2080–2088. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.07.035>.
- (10) *Análisis de riesgos derivados de la exposición a NIAS.* Interempresas. <https://www.interempresas.net/Envase/Articulos/262326-Analisis-de-riesgos-derivados-de-la-exposicion-a-NIAS.html> (accessed 2022-07-19).
- (11) PubChem. *PubChem.* <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (accessed 2022-07-13).
- (12) Horodytska, O.; Cabanes, A.; Fullana, A. Non-Intentionally Added Substances (NIAS) in Recycled Plastics. *Chemosphere* **2020**, 251, 126373. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126373>.
- (13) *National Institute of Standards and Technology.* NIST. <https://www.nist.gov/> (accessed 2022-07-13).
- (14) *Solid Phase Microextraction*; Ouyang, G., Jiang, R., Eds.; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2017. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-53598-1>.
- (15) Wercinski, S.A. (Ed.). (1999). *Solid Phase Microextraction: A PRACTICAL GUIDE* (1st ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780367803223>

## 7. ANEXOS

### ANEXO I. MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME) <sup>14, 15</sup>

La microextracción en fase sólida (SPME) es una técnica desarrollada para el pretratamiento rápido de muestras de laboratorio y muestras in situ.

En esta técnica se utiliza una “varilla”, denominada fibra, sólida, corta y delgada, de sílice fundida, con unas dimensiones generalmente de un centímetro de largo y 0,11 mm de diámetro exterior, y recubierta con un polímero absorbente. La fibra es del mismo tipo de sílice fundida químicamente inerte que la utilizada para fabricar columnas capilares de cromatografía de gases (GC), y es muy estable incluso a elevadas temperaturas. La sílice fundida recubierta (fibra SPME) se encuentra unida a una varilla de metal, y ambas están protegidas por una funda de metal que cubre la fibra mientras ésta no se está usando (es retráctil). Este conjunto se coloca en un soporte de fibra, asemejándose en su conjunto a una jeringa modificada.



**Figura 6.** Esquema de las partes de la fibra SPME con soporte (izquierda), e imagen de ésta (derecha)

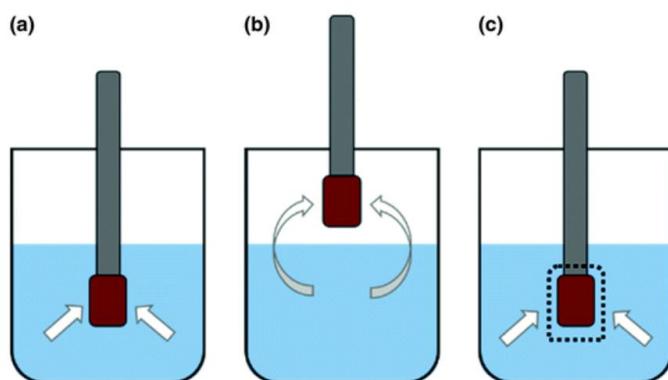
Existen muchos revestimientos de fibra diferentes, ya que en función del tipo de sorbente, se extraerán distintos grupos de analitos. La fibra se elige en función de su selectividad para determinados analitos y rangos de volatilidad. Los revestimientos polares, como polietilsiloxano, retienen muy bien los hidrocarburos, en cambio, los revestimientos de

fibras polares, como poliacrilato y carbowax, extraen muy bien los compuestos polares, como los fenoles y los ácidos carboxílicos.

La afinidad del recubrimiento de la fibra por los analitos objetivo es indispensable en el muestreo SPME, porque tanto la matriz como el recubrimiento de la fibra compiten por los analitos.

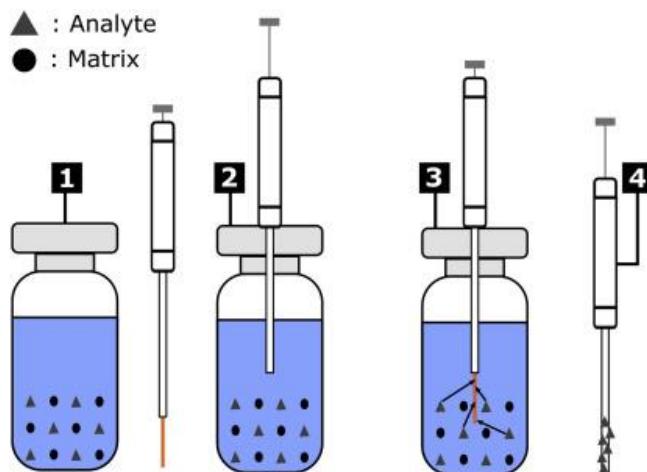
La técnica de extracción SPME consta de dos procesos: primero los analitos se dividen entre la muestra y el recubrimiento de la fibra, y luego los analitos concentrados se desorben de la fibra (por ejemplo, térmicamente en GC, o mediante disolventes en HPLC) a un instrumento analítico.

Existen tres modos básicos en SPME: inmersión directa (DI), extracción en espacio de cabeza (HS) y extracción protegida por membrana.



**Figura 7.** Modos de extracción de SPME; a) inmersión directa, b) extracción en espacio de cabeza, c) extracción protegida por membrana

En la inmersión directa (figura 5a), la fibra SPME está sumergida en la disolución de la muestra, y los analitos se transfieren directamente desde la matriz de la muestra hasta el recubrimiento de la fibra. Se puede acelerar la transferencia de masas de los analitos de la muestra a la fase de extracción (a la fibra SPME) mediante agitación; se acelera la extracción.



**Figura 8.** Esquema de actuación de SPME por inmersión directa

En el modo de extracción en espacio de cabeza (figura 7b), la fibra se encuentra en el espacio de cabeza (por encima de la disolución de la muestra). Debido a esta colocación, es necesario que los analitos sean volátiles para que la tasa de difusión sea favorable y los analitos puedan llegar hasta la fibra. En este modo se puede evitar de manera eficaz la interferencia de macromoléculas.

Por último, debido a que en análisis de compuestos no volátiles con interferencia de macromoléculas no es posible aplicar los dos modos anteriores, se deberá aplicar la extracción con membrana protegida (figura 5c). En este caso, gracias a la protección de la membrana de acceso selectivo, se evita la entrada de macromoléculas no deseadas, manteniendo así la fibra alejada de la contaminación.

Gracias a la naturaleza libre de solventes de la SPME y al reducido tamaño de la fibra, esta técnica se puede combinar con varios instrumentos analíticos, detectándose así todos los analitos extraídos gracias al instrumento de análisis, y consiguiendo buenos resultados.

Además, cabe destacar que la sensibilidad de la determinación con SPME es bastante alta. Algunas de las técnicas/instrumentos acoplados a la SPME son la cromatografía de gases (GC), donde desorción tiene lugar exponiendo a la fibra a una temperatura alta para entrar así a la columna de GC, y la desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI), entre otros. En este trabajo se ha acoplado a cromatografía de gases-masas (GC-MS).

## ANEXO II. SOFTWARE MSDIAL

El software MSDIAL fue lanzado como un programa universal que soporta múltiples instrumentos (GC/MS, GC/MS/MS, LC/MS y LC/MS/MS) y vendedores de MS (Agilent, Bruker, LECO, Sciex, Shimadzu, Thermo y Waters). Gestiona datos de distintos formatos, como netCDF (AIA) y mzML. MSDIAL tiene internamente una versión de base de datos GC/MS del laboratorio Fiehn.

El software cuenta con:

- 1) Deconvolución espectral tanto para GC/MS como para MS/MS independientemente de los datos
- 2) Criterios racionalizados para la identificación de picos
- 3) Soporte de todos los pasos de procesamiento de datos, desde la importación de datos brutos hasta el análisis estadístico
- 4) Una interfaz gráfica de usuario fácil de usar

Para la identificación de los analitos usa tanto una biblioteca de espectros, como los índices Kovat, cogiendo como referencia para estos últimos una lista con los tiempos de retención pertenecientes a los alcanos, analizados con el mismo instrumento utilizado para los análisis de las muestras.

### ANEXO III. OPTIMIZACIÓN DE TEMPERATURA Y TIEMPO CON MODDE

Para llevar a cabo esta optimización se aplicó un modelo de superficie de respuesta (*RSM*), del diseño Compuesto Centrado en las Caras (CCF), el cual ajusta la respuesta obtenida a un modelo matemático cuadrático:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_1x_2 + b_5x_1x_3 + b_6x_2x_3 + b_7x_1^2 + b_8x_2^2 + b_9x_3^2$$

Con un número de experimentos igual a  $2f + 2f + n$ , siendo  $f$  el número de factores a considerar y  $n$  el número de centros. ( $f = 2$  variables y 3 centros)

En nuestro caso se diseñaron 11 experimentos en los que se estudió la temperatura de extracción entre 50 a 80°C y el tiempo de extracción de 15 a 45 min.

Exp Name	Run Order	Incl/Excl	Tiempo	Temperature
N1	11	Incl	15	50
N2	2	Incl	45	50
N3	10	Incl	15	80
N4	3	Incl	45	80
N5	1	Incl	15	65
N6	6	Incl	45	65
N7	8	Incl	30	50
N8	4	Incl	30	80
N9	5	Incl	30	65
N10	7	Incl	30	65
N11	9	Incl	30	65

La respuesta obtenida y ajustada al modelo cuadrático, correspondía al área individual de cada compuesto analizado tras las condiciones de extracción determinadas para cada experimento, así como el área total como suma del área de todos los compuestos obtenida para cada experimento.

Una vez realizados los experimentos en el orden indicado se evaluó la validez del modelo.

Para ello se estudiaron los siguientes parámetros:

- **R<sub>2</sub>**: mide la capacidad del modelo para interpretar las respuestas que se han obtenido.
- **Q<sub>2</sub>**: mide la capacidad del modelo para predecir respuestas dentro del rango estudiado.
- **Validez del modelo**. Es una medida del ajuste de los datos por el modelo y del error del mismo. Valores menores de 0,25 indican falta de ajuste y que el error del modelo es mayor que el error experimental asociado a la reproducibilidad. Un valor de 1 indica que el modelo es perfecto.

- **Reproducibilidad:** mide la reproducibilidad del modelo de acuerdo con la respuesta obtenida en los centros.

Estas variables pueden tener valores entre 0 y 1. Valores próximos a 1 indican que el modelo tiene alto poder predictivo y buena reproducibilidad.

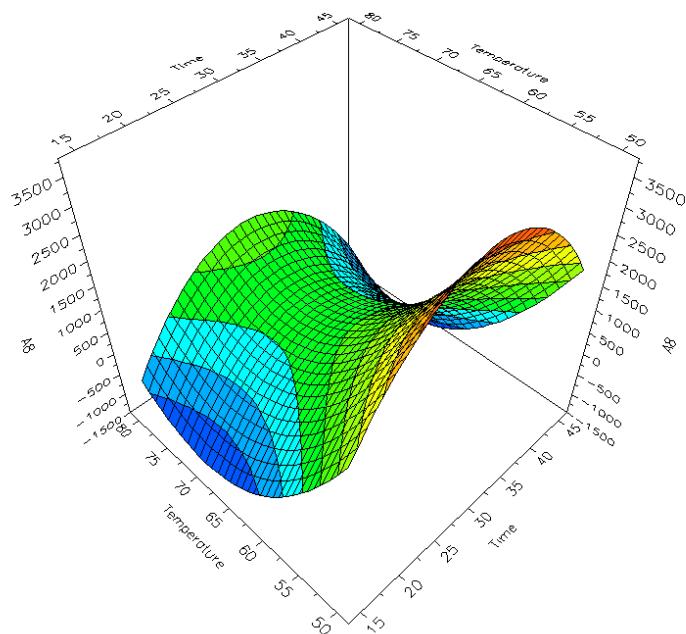
Como resultado se obtuvieron valores próximos a 1 tanto para la R2 como la Q2. La reproducibilidad del modelo era muy buena para todos los compuestos y la validez del modelo era entre 0.8.

Se obtuvo la superficie de respuesta que representaba las áreas de los compuestos en función de la temperatura y el tiempo de extracción.

Como se muestra en la siguiente figura, se muestra la superficie de respuesta del área total como suma del área de todos los compuestos detectados frente a la temperatura y el tiempo.

Las áreas máximas para la mayoría de compuestos se obtuvieron para una temperatura entre 60 y 65 °C y 45 minutos de extracción, zona roja de la gráfica (Figura 4).

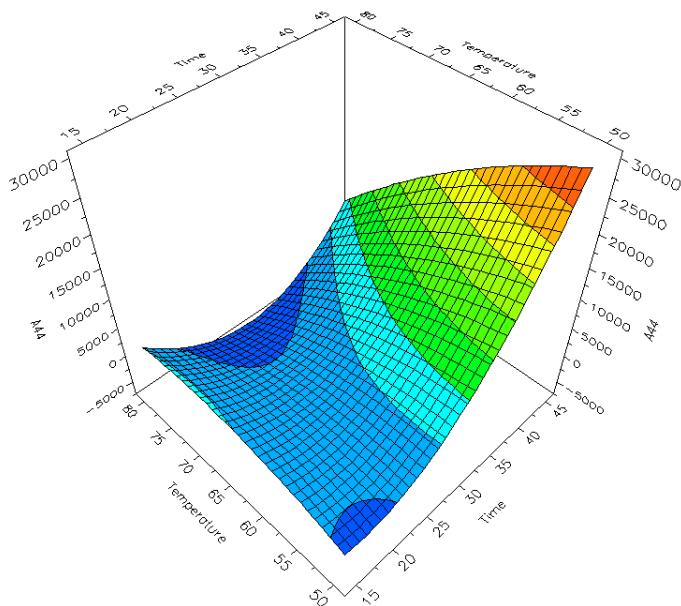
Otros compuestos como el isoborneol (Figura 9), alfa terpineol y Ciclohexanol, 2 (1,1-dimetil) acetato obtuvieron sus respuestas diferentes y parecidas entre ellos, con una máxima extracción a 50°C, pero durante 30 min.



**Figura 9.** Gráfico de respuesta de superficie de la suma isoborneol expresado en área con respecto al tiempo y la temperatura de extracción

Otros compuestos como Eucaliptol, 1-Menfone, Ciclohexanol, 4-(1,1-dimetiletil)-, cis-, 4,7-Metano-1H-indenol, hexahidro-, 2-Buten-1-one, 1-(2,6,6-trimetil-2-ciclohexen-1-il)-, (E)-,

3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-, Dietil ftalato, Benzofenona y Ciclohexil salicilato presentaban una superficie de respuesta más abrupta (Figura 3) donde las mejores condiciones de respuesta se encontraban en 50°C durante 45 min.



**Figura 10.** Gráfico de respuesta de superficie de la suma benzofenona expresado en área con respecto al tiempo y la temperatura de extracción

En la mayoría de casos se obtenía mayor poder de extracción con el máximo de tiempo de extracción, 45 min. Para la temperatura la respuesta era más variable según el tipo de compuesto.

Se decidió seleccionar 63°C como la temperatura óptima de extracción, por dos motivos; uno de ellos era que la respuesta máxima según suma del área de todos los compuestos correspondía a esa (figura 4), y también porque estudiando individualmente cada compuesto, la mayoría de estos mostraban una mejor extracción para un rango de temperaturas comprendido entre 55 y 70°C.

#### ANEXO IV. RECTAS DE CALIBRADO

**Tabla 5.** Datos para la construcción de las rectas de calibrado, junto con sus coeficientes de correlación ( $R^2$ ), límites de detección (LD), límites de cuantificación (LOD), límites de cuantificación (LOQ) y rangos lineales

	Ecuación recta de calibrado	$R^2$	LOD	LOQ	Rango lineal
<b>Cyclohexanol</b>	y=1938,8x+1061,9	0,9924	1,02	3,42	3,42-50,1
<b>Decanal</b>	y=6421,6x-46987,4	0,9924	4,09	13,6	13,6-81,3
<b>Isoborneol</b>	y=4176,5x+11850,3	0,9947	0,19	0,63	0,63-86,1
<b>Limonene</b>	y=16019,2x-9755,2	0,9915	0,17	0,57	0,56-15,7
<b>Nonanol</b>	y=1671,3x-2636,7	0,9979	1,77	5,90	1,77-172
<b>3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde</b>	y=1728,7x+374	0,9998	0,19	0,63	0,63-84,7
<b>1-tetradecene</b>	y=5257,7x-7879,6	0,9905	0,17	0,57	0,57-38,6
<b>Benzene propanoic acid, 3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-, methyl ester</b>	y=596,9x-38385,7	0,967	10,2	33,9	33,9-659
<b>2,4-di-tert-butylphenol</b>	y=3961,9x-3688,3	0,9985	0,24	0,79	0,79-79,7
<b>Diphenyl ether</b>	y=31805,8x-58487,5	0,998	0,85	2,82	2,82-81,1
<b>1-methyl naphtalene</b>	y=2240,8x-12191,6	0,9902	1,66	5,53	5,53-80,8
<b>2,6-di-tert-butyl-1,4-benzoquinone</b>	y=1852,9x-4865,2	0,9921	0,19	0,63	0,63-84,3
<b>Butylated Hydroxytoluene</b>	y=17372,4x-21109,9	0,9947	0,18	0,60	0,60-39,3
<b>Diethylftalate</b>	y=1387,6x+423,3	0,9949	0,91	3,03	3,03-83,9
<b>2-Ethylhexyl salicylate</b>	y=612,4x-966,9	0,9977	1,67	5,57	5,56-163
<b>Benzophenone</b>	y=2894,3x-3073,1	0,992	4,30	14,3	14,3-81,9
<b>1-Hexadecanol</b>	y=82957,8x-22339,3	0,9988	0,10	0,33	0,33-11,5
<b>7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione</b>	y=6757,4x+1632,8	0,9992	0,43	1,43	1,43-403
<b>Tetradeceno</b>	y=7072,7x+2796,7	0,9982	0,12	0,40	0,57-40,6
<b>Tolueno</b>	y=6235250x-187273	0,9877	0,50	1,67	0,50-25,3

## ANEXO V. REGLA DE CRAMER O SOFTWARE TOXTREE

Toxtree es una aplicación de código abierto, completa y flexible, y capaz de estimar el riesgo mediante la aplicación de un árbol de decisión.

Se puede aplicar Toxtree a conjuntos de datos de varios tipos de archivos compatibles, y admite también estructuras moleculares definidas por el usuario, que se introducen mediante SMILES o utilizando el editor de diagramas estructurales que tiene incorporado.

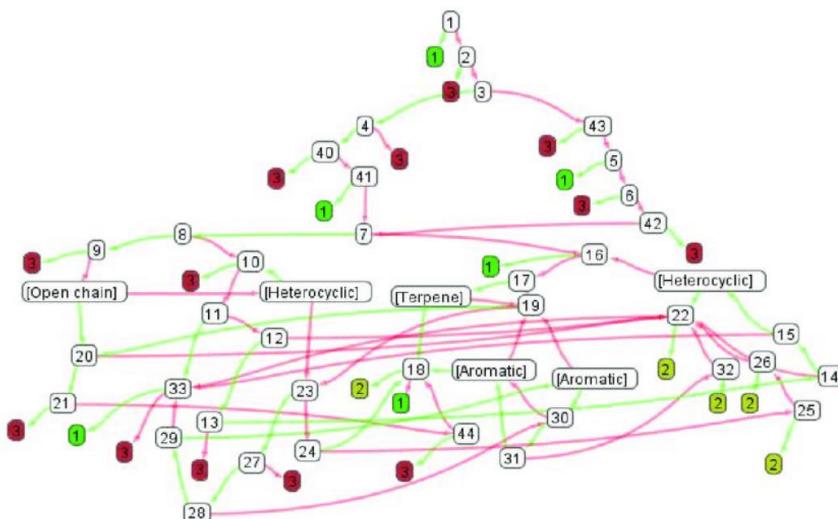


Figura 11. Árbol de decisión utilizado por el software Toxtree

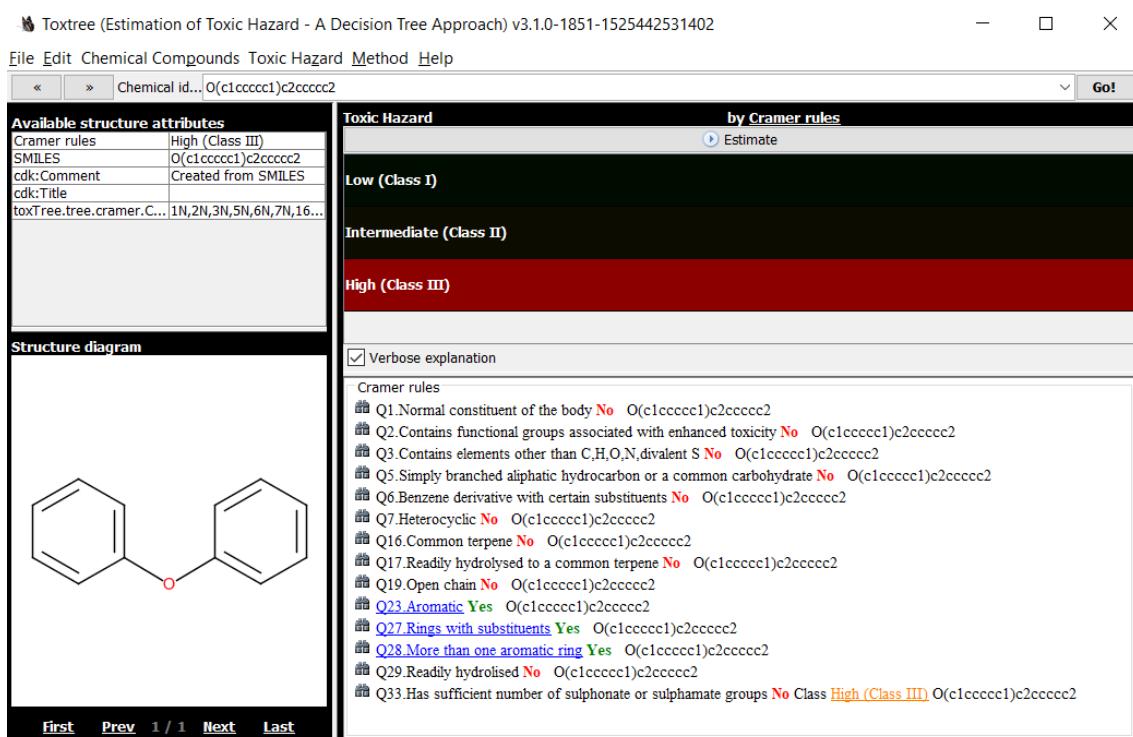


Figura 12. Clasificación del difenil éter mediante el software Toxtree