

METODOLOGÍAS ANALÍTICAS PARA LA EVALUACIÓN DE COMPUESTOS DERIVADOS DEL CAUCHO DE LOS NEUMÁTICOS EN DIFERENTES MATRICES

Sergio Sónora^{1,2}, Andrés Duque-Villaverde¹, Victoria Carballeira¹, Daniel Armada¹,
Enrique Roca³, Nieves Carro⁴, Thierry Dagnac², María Llompart¹

¹CRETUS, Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, Universidad de Santiago de Compostela, 15782-Santiago de Compostela, España

² Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo (AGACAL-CIAM), Unidad de Contaminantes Orgánicos, Apartado 10, 15080-A Coruña, España

³Departamento de Ingeniería Química, Escuela Técnica Superior de Ingeniería (ETSE), Universidad de Santiago de Compostela, 15782-Santiago de Compostela, España

⁴Departamento de Contaminación Química, Instituto Tecnológico para el Control del Medio Marino de Galicia (INTECMAR). Xunta de Galicia, 36611-Vilagarcía de Arousa, España
sergio.sonora.otero@usc.es, andres.duque.villaverde@usc.es

Linkedin: LIDSA usc

Abstract

El granulado de caucho, que procede del triturado de neumáticos fuera de uso, se emplea en superficies de uso diario como campos de fútbol sintéticos o parques infantiles. El problema medioambiental del empleo del granulado reside en que liberan microplásticos en él, siendo la principal fuente no intencionada. Además, estos gránulos contienen gran cantidad de compuestos químicos, como metales, agentes vulcanizantes y antiozonantes, algunos de los cuales están relacionados con la muerte de especies acuáticas. En este trabajo se describen diferentes metodologías para el análisis de agentes químicos procedentes del caucho de neumáticos en el propio material de caucho y en muestras de agua, así como también su posible bioaccesibilidad en fluidos biológicos simulados y la evaluación a la exposición por contacto dérmico. Además, también se analiza el contenido en metales de dicho material.

1. Introducción

Una vez terminada la vida útil de los neumáticos, estos son triturados y convertidos en granulado de caucho. Este material se emplea ampliamente en suelos urbanos, incluyendo parques infantiles, pero su principal uso está como relleno en campos de fútbol sintéticos. Este material supone la mayor fuente de microplásticos no intencionada al medioambiente [1]. En septiembre de 2023, la Comisión Europea anunció la prohibición del uso del granulado de caucho como relleno en campos sintéticos, dando un periodo transitorio de 8 años para sustituir dicho material [2].

La problemática del granulado de caucho aparece por dos vías, su tamaño, ya que es un microplástico; y su composición, que es la misma que la del neumático del que procede. Los compuestos químicos presentes en el granulado de caucho pueden ser lixiviados y han aparecido en diferentes matrices medioambientales, tales como

aguas [3]. Además, también se han publicado estudios sobre la presencia de metales pesados y metaloides en este tipo de material [4].

Una clase de compuestos presentes en el neumático son los agentes antioxidantes y antiozonantes, que previenen la oxidación; los reticulantes, que permiten la unión entre varias cadenas poliméricas; o los vulcanizantes. Hay que señalar el caso del antiozonante N-(1,3-dimetilbutil)-N'-fenil-p-fenilendiamina (6PPD) y su producto de transformación, 2-((4-metilpentan-2-il)amino)-5-(fenilamino)ciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona, la 6PPD-quinona (6PPDq), que están relacionados con la muerte de especies acuáticas [5]. En lo que respecta a la bioaccesibilidad de estos compuestos, existen algunos estudios sobre el 6PPD, el Benzotiazol (BTZ) o el Mercaptobenzotiazol (MBTZ), pero la información sobre este tema es escasa [6,7].

En este artículo se incluye información al respecto recogida en 5 trabajos que fueron presentados en el 34^º Congreso anual de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental en Europa (SETAC Europe). Estos estudios se centran en compuestos químicos procedentes de los neumáticos e incluyen su determinación en partículas de caucho; su análisis en aguas en contacto con superficies de caucho para estudiar la posible lixiviación; su bioaccesibilidad oral y la cantidad de estos agentes que pueden aparecer en la piel tras la exposición al material. Por último, también se estudia el contenido en metales de las muestras de granulado de caucho.

2. Compuestos químicos estudiados

En la Tabla 1 aparecen indicados los nombres completos y las abreviaturas de los compuestos químicos estudiados. Hay que señalar que no en todos los trabajos se han estudiado los 14 compuestos.

Tabla 1. Nombre completo y abreviatura de los compuestos químicos estudiados en los diferentes trabajos.

Nombre completo	Abreviatura
N-(1,3-dimetilbutil)-N'-fenil-p-fenilendiamina	6PPD
2-((4-metilpentan-2-il)amino)-5-(fenilamino)ciclohexa-2,5-dieno-1,4-diona	6PPDq
Benzotiazol	BTZ
N-ciclohexilbenzotiazol-2-sulfenamida	CBS
1,3-Dimetilbutilamina	DMBA
N,N-Dimetildodecilamina	DMDA
N,N-Dimetiltetradecilamina	DMTDA
1,3-difenil guanidina	DPG
N, N'-Difenil-1,4-fenilendiamina	DPPD
1,3-Di-o-tolilguanidina	DTG
Hexametoximetil melamina	HMMM
4-Isopropilaminodifenilamina	IPPD
2-Mercaptobenzotiazol	MBTZ
Triocil fosfato	TEHP

3. Análisis del granulado de caucho

Este trabajo se centra en la caracterización de partículas de neumáticos, siendo principalmente el granulado de caucho la matriz objetivo. Concretamente, se ha desarrollado una metodología analítica capaz de aislar y determinar 11 analitos de la Tabla 1. Este trabajo ha sido publicado en la revista *Science of the Total Environment* [8].

Se han analizado una gran variedad de muestras procedentes de campos de fútbol sintéticos, parques infantiles, superficies urbanas, así como también muestras comerciales. Además, se han estudiado materiales de relleno alternativos con la finalidad de evaluar si son opciones más seguras.

Para la extracción de los compuestos, se ha empleado la extracción asistida por ultrasonidos (UAE). Mediante un

diseño de experimentos se ha optimizado la metodología. Las condiciones óptimas (Fig. 1) implican el empleo de 200 mg de muestra y, como disolvente de extracción, 2 mL de acetato de etilo (AcOEt). La extracción se lleva a cabo en un baño de ultrasonidos durante 15 min. Luego de la extracción, se recoge el sobrenadante orgánico, se filtra, y se evapora hasta sequedad bajo corriente de nitrógeno. Se reconstituye con metanol (MeOH) y se diluye con la fase acuosa y fase orgánica empleadas en el análisis cromatográfico. Finalmente, se realiza la determinación empleando la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).

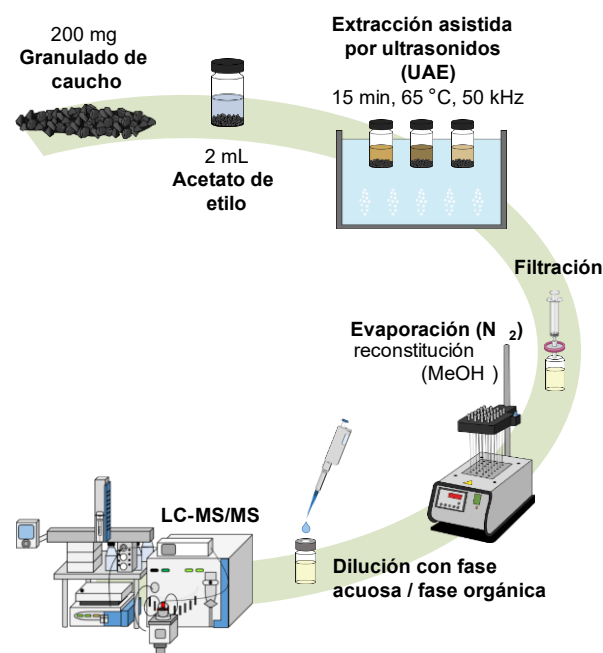


Fig. 1. Procedimiento experimental llevado a cabo en el trabajo de análisis de granulado de caucho [8].

El antiozonante 6PPD es el agente químico encontrado en concentraciones más elevadas, alcanzando valores de entre 1000 y 2000 $\mu\text{g/g}$ (0,1-0,2 % m/m) en campos de fútbol sintéticos de nueva construcción. La 6PPDq se encuentra a concentraciones de hasta decenas de $\mu\text{g/g}$. En general, se puede destacar que hay una mayor frecuencia y mayores concentraciones de los compuestos objetivo en las muestras procedentes de los campos de fútbol en comparación con las de los parques infantiles. Además, los materiales de relleno alternativos están libres de los compuestos estudiados.

4. Análisis de aguas

En este segundo trabajo, el objetivo es el desarrollo de una metodología analítica para determinar los mencionados agentes químicos, basada en micro-extracción en fase sólida (SPME).

Se han analizado 12 muestras reales de agua que habían estado en contacto con superficies de caucho, recogidas de parques infantiles y campos de fútbol.

Al igual que en el estudio anterior, se ha optimizado la metodología mediante un diseño de experimentos, estudiando diferentes factores que afectan a la extracción (temperatura, recubrimiento de la fibra, modo de extracción y la adición de sal). El análisis se realiza en empleando la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem (GC-MS/MS).

Se ha detectado 6PPD y 6PPDq en casi todas las muestras, a concentraciones comprendidas entre 0,01 y 0,6 $\mu\text{g/L}$. También se han encontrado concentraciones de HMMM y eBTZ de hasta 1 y 2 $\mu\text{g/L}$, respectivamente.

5. Estudio de la bioaccesibilidad oral in vitro

En este estudio, el objetivo es la evaluación de la bioaccesibilidad oral, simulando la ingesta del granulado de caucho. Para ello, se emplean cuatro disoluciones con diferentes contenidos salino y enzimático que simulan cuatro fluidos (saliva, jugo gástrico, bilis y jugo duodenal), de acuerdo al UBM (*unified bioaccessibility method*). Este trabajo ha sido publicado en la revista *Chemosphere* [9]. Se han estudiado 10 muestras diferentes, siendo 7 procedentes de campos de fútbol, 1 de un parque infantil y 2 granulados comerciales. Estas muestras se analizan de acuerdo al procedimiento indicado en la Fig. 2.



Fig. 2. Procedimiento de análisis para la realización de los estudios de bioaccesibilidad [9].

Se toman 200 mg de granulado de caucho y se añade jugo gástrico y saliva. Se ajusta el pH hasta un valor de $1,2 \pm 0,1$ y se coloca durante 1 h en un agitador *end-over-end* a 37 °C para simular la digestión. Al terminar, se añade jugo duodenal y bilis, se reajusta el pH ($6,3 \pm 0,5$) y se agita 4 h más. Al finalizar, se centrifuga, se recoge el sobrenadante y se añade MeOH para prevenir el efecto pared de los analitos.

La extracción de los analitos se realiza mediante extracción en fase sólida (SPE), que se ha optimizado estudiando diferentes factores como el volumen de muestra, volumen y disolvente de elución, o material sorbente. Las condiciones finales son 5 mL de muestra que se cargan en un cartucho OASIS HLB Prime de 30 mg. Luego, se eluye con 1 mL de MeOH y el extracto obtenido es analizado por LC-MS/MS.

Las concentraciones encontradas llegan en algún caso a los 30 $\mu\text{g/g}$ en muestras comerciales. Los analitos más bioaccesibles son el BTZ, seguido del DMBA y del MBTZ. Tres analitos, incluyendo el BTZ, el DMBA y la 6PPDq, se detectaron en la totalidad de las muestras analizadas. Estos resultados demuestran la bioaccesibilidad de todos los compuestos estudiados, dada su presencia en los fluidos biológicos analizados.

6. Evaluación por contacto dérmico

El objetivo de este trabajo es evaluar la exposición a los diferentes agentes químicos presentes en el neumático a través del contacto dérmico.

Se realizaron dos tomas de muestras a dos grupos de voluntarios diferentes expuestos a un campo de fútbol con suelo de granulado de caucho. El primer grupo de voluntarios ($n=8$) estuvo expuesto aproximadamente 2 h. Se tomó muestra de ambas manos con media toallita higiénica. Con el segundo grupo de voluntarios ($n=26$), el tiempo de exposición fue ligeramente superior, aproximadamente 3 h. Para la toma de muestra, además de emplear las toallitas higiénicas, también se empleó un disco de algodón humedecido por ambas caras con etanol ultrapuro. En todos los casos, las muestras se congelaron hasta su análisis.

En el primer grupo, la técnica de extracción empleada fue la extracción por líquidos presurizados (PLE), mientras que en el segundo grupo se optó por el uso de la UAE como técnica de extracción. En ambos casos, se empleó AcOEt como extractante y GC-MS/MS para la determinación analítica.

Ambas técnicas de extracción, PLE y UAE, demostraron resultados adecuados y similares. En las muestras se detectaron 7 de los 8 compuestos analizados en una cantidad del orden de ng. El BTZ fue el compuesto químico detectado a mayores cantidades.

7. Evaluación del contenido en metales

El objetivo de este último trabajo es evaluar la presencia de 32 elementos químicos, incluyendo 28 metales y 4 metaloides, en partículas derivadas de neumáticos.

Las muestras analizadas incluyen neumáticos, parques infantiles, campos de fútbol (nacionales e internacionales) y pavimentos urbanos. Además, se estudiaron diferentes muestras alternativas, incluyendo arena, corcho y elastómeros termoplásticos. En total, el número de muestras analizadas fue de 34.

La preparación de muestra consistió en una digestión ácida (ácido sulfúrico y ácido nítrico) asistida por microondas de 0,25 g de material, previa al análisis por espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).

Se detectaron los 32 elementos estudiados en las muestras analizadas. Entre los metales más abundantes se encontraban el Zn, el Si o el Ca, llegando a valores de 10000-20000 µg/g (1-2 % m/m) en determinadas muestras. Se detectaron metales cancerígenos como el Pb, el Cr, el As o el Cd, con concentraciones comprendidas entre 1 y 25 µg/g. Además, se comprobó la ausencia de estos metales en materiales alternativos, como el corcho o la arena.

8. Reseña congreso

Poder asistir al 34^º Congreso anual de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental en Europa (SETAC Europe) celebrado en Sevilla, nos ha dado la oportunidad de compartir los resultados de las diferentes investigaciones en las que trabajamos diariamente y que están resumidas en este artículo. Además, nos ha permitido conocer investigadores de todo el mundo y compartir visiones en nuestro ámbito de trabajo.

Agradecimientos

Esta Investigación está financiada por los proyectos PID2022-140148OB-I00 (TirePro) y RED2022-134079-T (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, España), ED431B 2023/04 y IN607B 2022/15 (Xunta de Galicia). Este estudio se basa en el trabajo del *Sample Preparation Study Group and Network*, respaldado por la División de Química Analítica de la Sociedad Europea de Química. Todos estos programas están cofinanciados por FEDER (UE). Los autores agradecen el uso de las instalaciones analíticas del RIAIDT-USC. S.S.O. agradece al Ministerio de Ciencia, Innovación e Universidades su contrato predoctoral (PREP2022-000520). S.S.O. y A.D.V. agradecen a la SEQA (Sociedad Española de Química) el otorgarles una beca a cada uno para la asistencia al 34^º Congreso anual de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental en Europa (SETAC Europe).

Referencias

[1] ECHA hot topic. Granules and mulches on sports pitches and playgrounds. <https://echa.europa.eu/en/hot-topics/granules-mulches-on-pitches-playgrounds> (Acceso: 20 de agosto de 2024).

[2] Reglamento de la Comisión (EU), 2023. 2055 de 25 de septiembre de 2023 que modifica, por lo que respecta a las micropartículas de polímeros sintéticos, el anexo XVII del Reglamento (CE) n.º 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y mezclas químicas (REACH). Off. J. Eu. Union L238, 67-88. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R2055> (Acceso: 22 de agosto de 2024).

[3] M. Celeiro, D. Armada, N. Ratola, T. Dagnac, J. De Boer, M. Llompart, Evaluation of chemicals of environmental concern in crumb rubber and water leachates from several types of synthetic turf football pitches. *Chemosphere* 270 (2021) 128610.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128610>

[4] C.A. Graça, F. Rocha, F. O. Gomes, M. R. Rocha, V. Homem, A. Alves, N. Ratola, Presence of metals and metalloids in crumb rubber used as infill of worldwide synthetic turf pitches: Exposure and risk assessment. *Chemosphere* 299 (2022) 134379.

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134379>

[5] Z. Tian, H. Zhao, K.T. Peter, M. Gonzalez, J. Wetzel, C. Wu, X. Hu, J. Prat, E. Mudrock, R. Hettinger, A.E. Cortina, R.G. Biswas, F.V.C Kock, R. Soong, A. Jenne, B. Du, F. Hou, H. He, R. Lundeen, A. Gilbreath, R. Sutton, N. Scholz, J. Davis, M. Dodd, A. Simpson, J. McIntyre, E.P. Kolodziej, A ubiquitous tire rubber-derived chemical induces acute mortality in coho salmon. *Science* 371 (2021) 185-189. <https://doi.org/10.1126/science.abd6951>

[6] National Toxicology Program (NTP) (2019). NTP Research Report on the Chemical and Physical Characterization of Recycled Tire Crumb Rubber.

[7] K. Schneider, M. de Hoogd, P. Haxaire, A. Philipps, A. Bierwisch, E. Kaiser, ERASSTRI-european risk assessment study on synthetic turf rubber infill-part 2: migration and monitoring studies. *Sci. Total Environ.* 718 (2020) 137173.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137173>

[8] A. Duque-Villaverde, D. Armada, T. Dagnac, M. Llompart, Recycled tire rubber materials in the spotlight. Determination of hazardous and lethal substances, *Sci. Total Environ.* 929 (2024) 172674.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172674>

[9] S. Sónora, A. Duque-Villaverde, D. Armada, T. Dagnac, M. Llompart, In vitro human oral bioaccessibility assessment of hazardous chemicals, including N, N' -substituted-p-phenylenediamines, coming from recycled tire crumb rubber, *Chemosphere* 367 (2024) 143534. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143534>