



**GENERALITAT
VALENCIANA**

ivACE
INSTITUT VALENCIÀ DE
COMPETITIVITAT EMPRESARIAL

 **UNIÓN EUROPEA**
Fondo Europeo de
Desarrollo Regional
Una manera de hacer Europa



EXPEDIENTE	IMDEEA/2019/27
ACRÓNIMO	NOFORMALD
PROGRAMA	Proyectos de I+D de carácter no económico realizados en cooperación con empresas
TÍTULO DEL PROYECTO	POTENCIALES REDUCTORES EN CUERO ACABADO PARA EVITAR EXPOSICIÓN QUÍMICA A FORMALDEHÍDO

Entregable E.2.1
INFORME SOBRE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA MIGRACIÓN DE FORMALDEHÍDO DURANTE EL USO DE CALZADO

ÍNDICE

1. Descripción del entregable	3
2. Trabajo realizado.....	3
3. Resultados	3

1. Descripción del entregable

En este informe se incluye una descripción de la metodología desarrollada para determinar la migración de formaldehído simulando las condiciones de exposición “reales” de la piel del pie al entrar en contacto directo y prolongado con un material de cuero durante el uso de calzado.

2. Trabajo realizado

Se han realizado matrices de experimentos para establecer las condiciones óptimas de liberación de formaldehído utilizando como simulante soluciones de sudor artificial a distintos pH y composición. La metodología desarrollada ha sido validada para garantizar la fiabilidad del método de análisis.

3. Resultados

Metodología: Determinación de la migración de formaldehído desde cuero en las condiciones de uso de calzado

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma especifica un método de ensayo para determinar la liberación de formaldehído desde cuero en las condiciones de uso de calzado.

2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

Se extrae la muestra de cuero mediante una solución de sudor artificial a pH 6,5. El extracto filtrado el extracto filtrado se mezcla con 2,4-dinitrofenilhidracina, la cual reacciona con los aldehídos y cetonas presentes en el mismo dando lugar a las hidrazonas correspondientes. Éstas se separan mediante HPLC (cromatografía líquida de alta resolución) en fase reversa y se detectan y cuantifican a 360 nm.

3. REACTIVOS

- 3.1 Solución madre de formaldehído, 1000 mg/l en agua.
- 3.2 Sudor artificial a pH 6,5, con la siguiente composición:

Compuesto	Fórmula	mg/L
Urea	CH ₄ N ₂ O	1000
Cloruro de sodio	NaCl	5000
Ácido láctico	C ₃ H ₆ O ₃	1000

3.3. Acetonitrilo

3.4. Agua, de grado HPLC.

3.5. Solución de dinitrofenilhidracina (DNPH), compuesta por 0,3 g de DNPH (2,4-dinitrofenilhidracina) disuelta en 100 ml de ácido o-fosfórico concentrado (al 85 % fracción en masa).

4. APARATOS Y MATERIALES

Se emplea material de laboratorio habitual y en concreto, el siguiente:

4.1 Balanza analítica, con una apreciación de 0,1 mg.

4.2 Sistema HPLC, con detector UV

4.3 Columna de separación, con fase estacionaria C18 con la precolumna correspondiente.

4.4 Baño de agua con agitación

4.5 Filtro de membrana, de poliamida de 0,45 µm.

5. PROCEDIMIENTO OPERATORIO

5.1. Preparación de muestras

Se trocean las muestras a estudio con un tamaño de 3-5 mm².

5.2. Extracción

Se pesa (1 ± 0,01) g de muestra en un matraz erlenmeyer de 100 ml. Se pipetea 20 ml de sudor artificial (3.2) y se añaden a la muestra. Se extrae la muestra a 40 °C en un baño de agua con agitación a 75 rpm (4.4) durante 3 h ± 5 min.

Tras la extracción, se filtra el extracto con filtro de membrana (4.5) en un recipiente.

5.3. Reacción con DNPH

En un matraz aforado de 10 ml se pipetea 4,0 ml de acetonitrilo, una alícuota de 5,0 ml del extracto filtrado y 0,5 ml de la solución de DNPH (3.5). El matraz aforado se enrasa con agua desmineralizada hasta la marca y se agita a mano brevemente para mezclar los componentes. Se deja reposar al menos 60 min, sin sobrepasar un máximo de 180 min. Tras la filtración a través del filtro de membrana en un vial se analiza la muestra mediante HPLC. Si la concentración está fuera del rango de calibración, se deben tomar alícuotas más pequeñas.

5.4. Condiciones del HPLC

Las condiciones cromatográficas para el análisis se exponen a continuación:

- Columna de separación: columna de fase inversa C18 con precolumna (1 cm, RP18)
- Caudal: 1 ml/min.
- Fase móvil: acetonitrilo/agua
- Gradiente: 60:40
- Detección UV: 355 ± 5 nm.
- Volumen de inyección 20 μ l.

5.5. Calibrado

Se prepara una solución patrón intermedia de 2 mg/l a partir de la solución madre de 1000 mg/l (3.1).

Posteriormente, en seis matraces aforados de 10 ml se añaden 4 ml de acetonitrilo y a continuación, se añade una serie de volúmenes de 0,5 ml; 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml y 5,0 ml, respectivamente, de la solución patrón de 2 ppm. Inmediatamente después de la adición de la solución de formaldehído, se agita cada matraz y se añaden 0,5 ml de solución de DNPH. Se enrasan los matraces hasta la marca con agua destilada y se agitan de nuevo. Tras haber transcurrido un mínimo de 60 min y sin superar un máximo de 180 min, se deben analizar las muestras mediante HPLC después de filtrarlas con el filtro de membrana. La curva de calibrado se efectúa representando un gráfico del área del pico del derivado de formaldehído frente a la concentración en microgramos por 10 ml.

5.6. Cálculo del contenido de formaldehído en las muestras de piel

$$w_F = \frac{\rho_S \times F}{m}$$

donde

w_F es la concentración de formaldehído en la muestra en miligramos por kilogramo (mg/kg) redondeada a 0,01 mg/kg;

ρ_S es la concentración de formaldehído obtenida del gráfico de calibrado en μ g/10 ml;

F es el factor de dilución en mililitros (ml);

m es la masa de piel pesada expresada en gramos (g).