



<b>EXPEDIENTE</b>	IMDEEA/2017/6
<b>ACRÓNIMO</b>	AINOCBABY
<b>PROGRAMA</b>	Proyectos de I+D de carácter no económico realizados en cooperación con empresas
<b>TÍTULO DEL PROYECTO</b>	ALTERNATIVAS TÉCNICAMENTE VIABLES PARA LA ELIMINACIÓN DE FTALATOS TÓXICOS Y MBT EN CALZADO DE NIÑO

## **Entregable E3.1**

# **INFORME SOBRE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA FTALATOS Y MBT**

## ÍNDICE

1. Descripción del entregable.....	3
2. Trabajo realizado .....	3
2.1. Metodología de determinación del contenido en 2-Mercaptobenzotiazol (MBT) en artículos de caucho para calzado, mediante cromatografía de líquidos.....	3
2.2. Condiciones óptimas de liberación de ftalatos.....	6
2.2.1 Optimización del método por extracción en medio solvente.....	6
2.2.2 Optimización del método de desorción térmica.....	6

## 1. Descripción del entregable

En este informe se incluye una descripción de la metodología desarrollada para el análisis de MBT. Por otro lado, se describen las condiciones óptimas de máxima liberación de ftalatos.

## 2. Trabajo realizado

### 2.1. Metodología de determinación del contenido en 2-Mercaptobenzotiazol (MBT) en artículos de caucho para calzado, mediante cromatografía de líquidos

#### 1 OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma especifica un método de ensayo para la determinación del contenido en 2-Mercaptobenzothiazole (MBT) en artículos de caucho para calzado mediante cromatografía de líquidos.

#### 2 PRINCIPIO DEL MÉTODO

Se extrae la muestra caucho mediante un disolvente adecuado utilizando un baño de ultrasonidos. El extracto filtrado se analiza mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con un detector ultravioleta (UV) y Detector de Fluorescencia (FLD).

#### 3 REACTIVOS

- 3.1 MBT (2-Mercaptobenzotiazol) mínimo 97%.
- 3.2 Solución madre de MBT, 500mg/l en acetonitrilo.
- 3.3 Acetonitrilo, de grado HPLC.
- 3.4 Agua, de grado HPLC.

#### 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 y FLD
- 4.3 Columna de separación, con fase estacionaria C18 con la precolumna correspondiente.
- 4.4 Baño de ultrasonidos, 40 KHz
- 4.5 Filtro de membrana, teflón de 0,2 µm.

#### 5 PROCEDIMIENTO OPERATORIO

##### 5.1 Preparación de muestras

Se trocean las muestras a estudio con un tamaño de 3-5 mm<sup>2</sup>.

## 5.2 Preparación de la solución analítica

Se pesa ( $1 \pm 0,01$ ) g de muestra en un matraz erlenmeyer de 100 ml. Se pipetea 20 ml de acetonitrilo (3.3) y se añaden a la muestra. Se extrae la muestra a 25 °C en un baño de ultrasonidos (4.4) durante  $1 \text{ h} \pm 5 \text{ min}$ .

Tras la extracción, se filtra parte del extracto con filtro de membrana (4.5) a un vial adecuado. El filtrado se analiza mediante HPLC (4.2) y se cuantifica el MBT detectado.

## 5.3 Condiciones cromatográficas

Columna de separación:	columna fase estacionaria (C18 de sílica gel 250/4,6 mm 120 Å, 5 µm), con precolumna.
Caudal:	1 ml/min
Fase móvil	A: Agua; B: Acetonitrilo
Gradiente	1) Isocrático 40 % B durante 3 minutos; 2) Lineal hasta 95 % B en 15 minutos; 3) Isocrático 95 % B durante 5 minutos; 4) Lineal hasta 40 % B en 5 minutos.
Horno de columna	30 °C
Detección UV	240 nm y 320 nm.
Volumen de inyección	20 µl

## 5.4 Calibrado

El calibrado se realiza utilizando un patrón externo. Se preparan diluciones adecuadas (en acetonitrilo) de la solución madre de MBT (3.2).

Se prepara una solución madre intermedia de 100 ppm de MBT. A partir de esta solución de MBT, se prepara el calibrado que debe realizarse con al menos 6 niveles de concentración.

Los puntos del calibrado a preparar, comprenden concentraciones de MBT entre 20 ppm y 0,5 ppm.

Conc. (ppm)	V(ml) int de madre 100ppm	Vfinal (ml)
20	2	10
10	1	10
5	0,5	10
2	0,2	10
1	0,1	10
0,5	0,1	20
0	0	10

El calibrado se realiza trazando un gráfico del área del pico del MBT con respecto a su concentración.

## 6 Cálculo

Se calcula la concentración de MBT detectado en miligramos por kilogramo (mg/kg) de muestra, mediante la ecuación

$$w_i = \frac{\rho * V * F * 1000}{m * 1000}$$

Donde:

- $w_i$  es la fracción de masa de MBT, expresada en miligramos por kilogramo (mg/kg) de muestra;
- $\rho$  es la concentración de masa de MBT obtenida a partir del calibrado, expresada en microgramos por mililitro ( $\mu\text{g/ml}$ );
- $V$  es el volumen expresado en mililitros (ml);
- $F$  es el factor de dilución
- $m$  es la cantidad de muestra expresada en (g).

## 2.2. Condiciones óptimas de liberación de ftalatos.

El objetivo de la tarea ha sido la optimización del método de cuantificación de los ftalatos presentes en los materiales de calzado utilizando la extracción en medio solvente o la desorción térmica, para la obtención de la máxima concentración de los mismos independientemente de la naturaleza polimérica de la muestra.

El contenido total de plastificantes de tipo ftalato extraíbles se calcula en peso usando detección por cromatografía de gases acoplada a un detector para identificar y cuantificar los ftalatos de forma individual. En el caso de la extracción, se emplea un detector de espectrometría de masas (CG-MS); en el caso de desorción térmica se emplea un detector de llama (CG-FID).

### 2.2.1 Optimización del método por extracción en medio solvente.

#### 2.2.1.1 Extracción por ultrasonidos.

##### A) Extracción con mezcla binaria Hexano y Acetona.

Mediante la realización de un diseño de experimentos de 3 niveles, con 4 factores:  $3^4$ , las condiciones óptimas para la extracción de los ftalatos son:

	Condiciones óptimas
Hexano - Acetona	7:3
volumen extracción (ml)	30
tiempo extracción (min)	70
temperatura extracción (°C)	50

##### B) Extracción con Tetrahidrofurano y posterior precipitación con n-hexano.

Mediante la realización de un diseño de experimentos de 3 niveles, con 3 factores:  $3^3$ , las condiciones óptimas para la extracción de los ftalatos son:

Hexano	Condiciones óptimas
Volumen de precipitación (ml)	15
tiempo extracción (min)	65
temperatura extracción (°C)	50

#### 2.2.1.2 Extracción por microondas.

Tarea incompleta. Se continúa en la segunda anualidad del proyecto.

### 2.2.2 Optimización del método de desorción térmica.

Este método está diseñado para determinar de forma cualitativa y cuantitativa la presencia de ftalatos en los materiales de calzado utilizando la desorción térmica.

La muestra es introducida directamente en el pirolizador, donde se extrae térmicamente la cantidad de ftalatos presentes en la muestra quedando éstos atrapados en una trampa específica. Posteriormente, los ftalatos se desorben y se introducirán en el sistema de cromatografía de gases mediante una línea de transferencia con control de temperatura.

Esta técnica nos aporta una rápida cuantificación de ftalatos presentes en la muestra, empleando una cantidad mínima de la misma. Usando este método, además de no verse influenciada la liberación de los ftalatos por la naturaleza de la muestra se permite la eliminación del uso de disolventes, reduciendo la acumulación de residuos.

A diferencia del método de extracción, el método desarrollado emplea el siguiente instrumental:

- Balanza, con una resolución de 1 mg.
- Piroizador con accesorio de desorción térmica (Pyr-TD)
- Cromatógrafo de gases con detector de llama (GC-FID).

### **1 Toma de muestras.**

La muestra consta de un único material obtenido del calzado, como por ejemplo cuero, textil, material recubierto u otro tipo de material polimérico. La cantidad que se utiliza de la misma está comprendida entre 1 y 2 mg.

### **2 Patrones y calibrado.**

En el desarrollo de la tarea se ha empleado un soporte textil, previamente analizado, el cual se ha dopado de manera individual con cada uno de los patrones de ftalato analizados.

### **3 Condiciones de medida.**

#### **3.1 Programa de desorción térmica.**

- Atmósfera de helio con una velocidad de flujo de 25 ml/min.
- Temperatura de la trampa de absorción: 325 °C.
- Tiempo de absorción: 3 minutos.
- Velocidad nominal de calefacción: 20 °C/ms.
- Tiempo de pirolizado: 20 s.
- Temperatura nominal de pirólisis: 600 °C.
- Cantidad de muestra tomada: 2 mg.

#### **3.2 Condiciones cromatográficas.**

Columna capilar:	100 % de dimetilpolisiloxano; longitud 30 m; 0,535 mm de diámetro interno y 1,50 µm de espesor de película.
Gas portador:	Helio.
Caudal:	9 ml/min.
Temperatura del inyector:	270 °C, modo split.
Volumen de inyección:	1,0 µl
Programa de temperatura:	35 °C durante 4 min. Hasta 260 °C a 8 °C/min. Isotherma 10 min. Tiempo total 42,125 min.
Detector FID	300 °C.