



2017 INESCOP

INFORME RESULTADOS

PROYECTO:

OPAN-LEATHER
IDENTIFICACIÓN DE
LA ESPECIE ANIMAL
EN CUEROS

INESCOP trabaja en el proyecto “Identificación optimizada mediante técnicas analíticas térmicas y cromatográficas de la especie animal de pieles de bovino, ovino, caprino y porcino para artículos de calzado y marroquinería (IMDEEA/2017/8)” con el apoyo del Instituto Valenciano de Competitividad Empresarial (IVACE) y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional. En el presente informe se muestra un resumen de los principales resultados obtenidos.

La importancia del etiquetado

El etiquetado de un producto es la principal fuente de información que posee el consumidor para su uso seguro y efectivo. En España hay dos normas legislativas en las que se establece obligatoriamente la indicación de la especie del animal en el etiquetado: el Real Decreto RD 769/1984, que establece la normativa de las denominaciones de piel, cuero, curtido y pieles curtidas para peletería en la elaboración, circulación y comercio de productos de sus manufacturas, y la Orden de 15 de febrero de 1990, que establece la normativa para el etiquetado informativo de los artículos de marroquinería, viaje y de guarnicionería.

El objetivo general de este proyecto es generar el conocimiento necesario para la discriminación de la especie animal del cuero mediante la optimización de diversas técnicas de análisis, con el fin de verificar

el cumplimiento de la legislación en el etiquetado de artículos de marroquinería, piel y cuero en general.

Para el desarrollo del proyecto se han seleccionado las pieles de la tabla 1.

MUESTRA	ESPECIE ANIMAL	RAZA	ORIGEN	NOMENCLATURA EN EL PROYECTO
Caprina	Cabrito	Agrupación de mesetas	Logroño (España)	C
Ovina	Cordero	----	Zaragoza (España)	O
Bovina	Toro	Lidia	Zaragoza (España)	B
Porcina	Cerdo doméstico	Bulgarian white	Bulgaria	P

Tabla 1: Muestras de piel analizadas

Para cada muestra se han utilizado tres tipos de curticiones: cromo, vegetal y glutaraldehído

Objetivo 1: Purificación de muestras

Para eliminar posibles interferencias debidas a las operaciones de terminado y acabado del cuero se ha realizado una extracción y cuantificación de grasas y de sales solubles en agua.

La extracción de las materias grasas se llevó a cabo con el aparato Soxhlet en continuo y con diclorometano. Después de al menos treinta pasadas del disolvente, el diclorometano es destilado y el extracto secado durante 4h a una temperatura de 102 °C. Posteriormente se enfría y se pesa para obtener la pérdida de masa debida a la extracción de grasas. Las sustancias extraíbles se expresan en tanto por ciento sobre masa de muestra seca.

La cuantificación de las materias solubles en agua se realizó tras una extracción acuosa de la muestra durante 2h, por evaporación y secado a 102 °C del extracto. Al sulfatar y calcinar el residuo se obtienen las materias inorgánicas solubles en agua, mientras que las orgánicas se obtienen por diferencia.

La tabla 2 recoge los valores obtenidos del contenido en grasas y de sales para cada una de las muestras. Se confirma que la muestra ovina es la que presenta un mayor porcentaje en contenido graso en las 3 curticiones mientras que curtición vegetal es la que presenta mayor contenido en sales solubles en agua en todas las especies.

MUESTRA	% GRASAS			% SALES		
	Cromo	Glutaraldehído	Vegetal	Cromo	Glutaraldehído	Vegetal
Caprina	27,4	21,0	18,5	1,3	1,9	3,3
Ovina	39,4	35,3	29,8	1,9	2,7	4,9
Bovina	18,2	10,4	9,2	0,9	1,1	1,6
Porcina	20,4	24,8	19,8	1,7	1,0	2,4

Tabla 2: Porcentaje del contenido en grasas y sales solubles en agua

Objetivo 2.1: Análisis térmico por termogravimetría (TG) de muestras purificadas

Las pieles purificadas y sin purificar se han caracterizado térmicamente mediante termogravimetría (TG). Esta técnica estudia la variación de masa que experimenta la muestra en función de la temperatura y se lleva a cabo en termobalanzas, que registran la variación de masa respecto al tiempo o la temperatura en una atmósfera controlada y a una velocidad de calefacción determinada.

El análisis termogravimétrico se ha realizado en termobalanza TGA/SDTA 851 Mettler-Toledo, con un rango de temperaturas de 25 a 800 °C.

Se ha trabajado en atmósfera de nitrógeno con una velocidad de flujo de 50 ml/min y utilizando una velocidad nominal de calentamiento de 10 °C/min. La cantidad de muestra analizada fue alrededor de 8 mg, tomada como porciones cilíndricas de 2 mm de diámetro.

Los resultados de las pieles purificadas se han comparado con las pieles sin purificar, observándose diferencias en el perfil de las curvas de descomposición, tal y como se muestra en la figura 1.

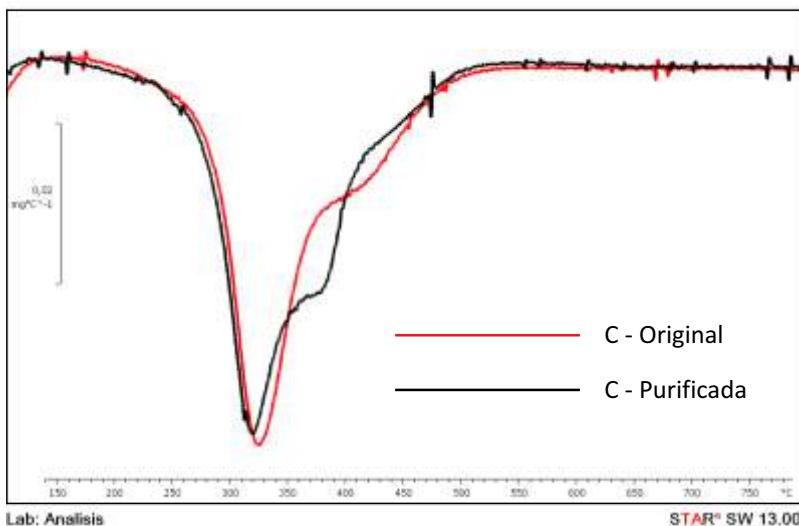


Figura 1: Derivada de la curva de termogravimetría (DTG) para la muestra caprina con curtición cromo

A partir de las gráficas de TG se ha obtenido el valor de residuo final de las muestras y a partir de las gráficas DTG se han calculado los parámetros de temperatura, área e intensidad de pico tanto para el pico de máxima descomposición como para el pico

minoritario, junto con el valor de la derivada en el último punto.

El estudio estadístico de componentes principales (PCA) aplicado a estos parámetros indica qué

diferencias observadas son significativas, puesto que en la representación gráfica de los componentes principales (figura 2) el grupo de muestras originales y el grupo de muestras extraídas aparecen claramente diferenciados.

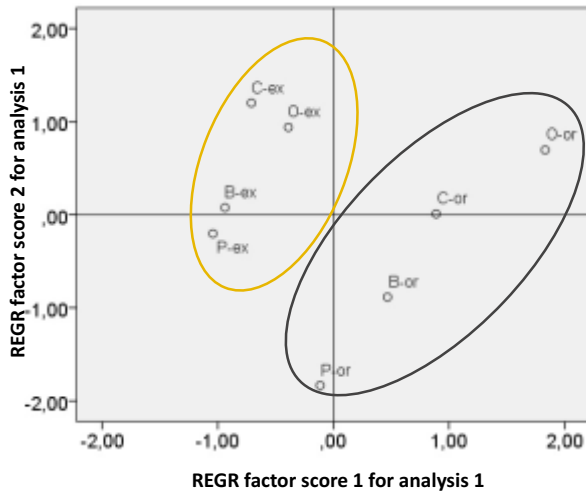


Figura 2: Gráfico de componentes principales (PCA) de las muestras originales (or) y extraídas (ex)

Los parámetros de descomposición obtenidos en las pieles purificadas se han analizado estadísticamente mediante análisis de componentes principales (PCA) dando lugar a una separación de especies sin interferencias, tal y como aparece en la figura 3.

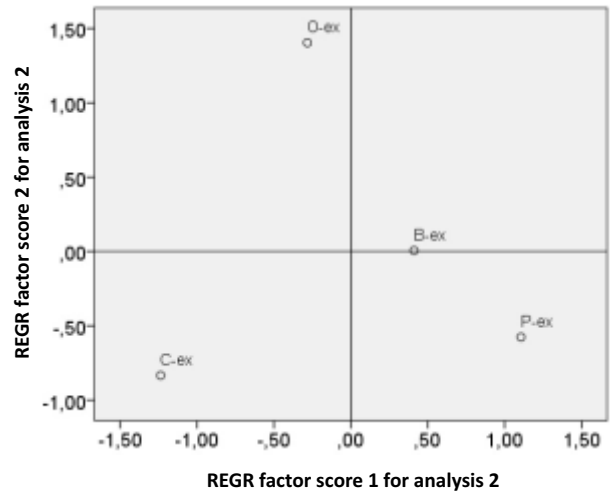


Figura 3: Gráfico de componentes principales (PCA) de las muestras extraídas (ex)

Objetivo 2.2: Análisis térmico por pirólisis flash (Py-GC/FTIR) de muestras purificadas

Las pieles purificadas y sin purificar también se han caracterizado mediante pirólisis flash (Py-GC/FTIR) utilizando un nuevo equipo pirolizador (Pyroprobe 6200), que se muestra en la figura 4, con el objetivo de confirmar las diferencias observadas mediante el análisis termogravimétrico.

La pirólisis flash es una de las técnicas más utilizadas en la caracterización y discriminación de diversos materiales, ya que las moléculas volátiles y semivolátiles que se generan en el proceso pueden ser

fácilmente analizadas si se combina a continuación con técnicas analíticas adecuadas. La principal ventaja de la pirólisis flash es que permite tiempos de residencia de los volátiles muy cortos, evitando así reacciones secundarias posteriores. Además, es un método rápido que proporciona datos reproducibles utilizando muy poca cantidad de muestra.

La cantidad de muestra pirolizada en cada experimento ha sido de aproximadamente 150 µg, introducidos en un capilar de cuarzo. El capilar se

inserta automáticamente en el centro de una resistencia espiral de platino que se calienta en atmósfera inerte. La velocidad nominal de calefacción fue de 20 °C/ms, con un tiempo de pirolizado de 20 s y una temperatura nominal de 500 °C.

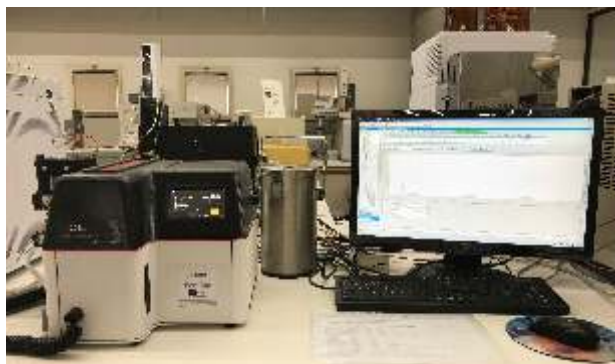


Figura 4: Pirolizador Pyroprobe 6200

Este dispositivo permite el arrastre rápido de los productos generados en la pirólisis mediante el flujo del gas portador (helio). Los volátiles circulan a través de una línea de transferencia a temperatura de 280 °C hasta introducirse en un cromatógrafo de gases provisto de detector de ionización de llama (GC-FID). Además, el cromatógrafo está conectado en serie a un espectrómetro de infrarrojos (FTIR), obteniendo los espectros de cada pico que se va a obtener en el cromatograma. Estos espectros nos dan información acerca de las especies que se generan tras emplear la pirolisis en la piel curtida.

Objetivo 3: Análisis de aminoácidos totales mediante cromatografía líquida (HPLC)

Para la cuantificación de los aminoácidos totales de la piel es necesario un tratamiento previo de hidrólisis ácida para romper la proteína. La cantidad de muestra utilizada oscila en el rango de 0,1 a 0,2 g y se trata con ácido clorhídrico a 110 °C durante 24h. Transcurrido el tiempo de hidrólisis, el exceso de ácido se concentra y la muestra seca se diluye y neutraliza a pH 7.

A continuación, la muestra neutralizada y diluida con tampón borato en proporción 0,5/10 se analiza mediante un cromatógrafo de alta eficacia con detector ultravioleta de secuencia de diodos y detector de fluorescencia (HPLC-UV-FLD) con los que se identifican y cuantifican los aminoácidos.

La columna que se emplea para la separación de aminoácidos tiene como fase estacionaria C18 de sílica gel, con un tamaño de partícula de 5 µm, tamaño de poro 90 Å, de dimensiones 4,6 x 250 mm (con precolumna) y en este caso se trabaja a una temperatura de 40 °C. El caudal es constante durante todo el análisis siendo de 1,5 ml/min. Como se produce la derivatización de la muestra, la fase móvil consta de un Eluyente A, que es un medio tampón acuoso, y un Eluyente B, que se trata de una mezcla ternaria Acetonitrilo-Metanol-Agua. El volumen de muestra inyectada es de 1 µl. Para el detector de ultravioleta, se fijan las longitudes de onda de trabajo en 338 nm y 262 nm. Y para el detector de fluorescencia, la longitud de excitación empleada es 230 nm, y la de emisión 450 nm.

Tras el análisis, los aminoácidos primarios salen a tiempos de retención no superior a 25,70 minutos. Posteriormente, se obtienen los secundarios con un tiempo de análisis total de 46 minutos.

La figura 5 muestra los porcentajes obtenidos de cada aminoácido identificado en las muestras.

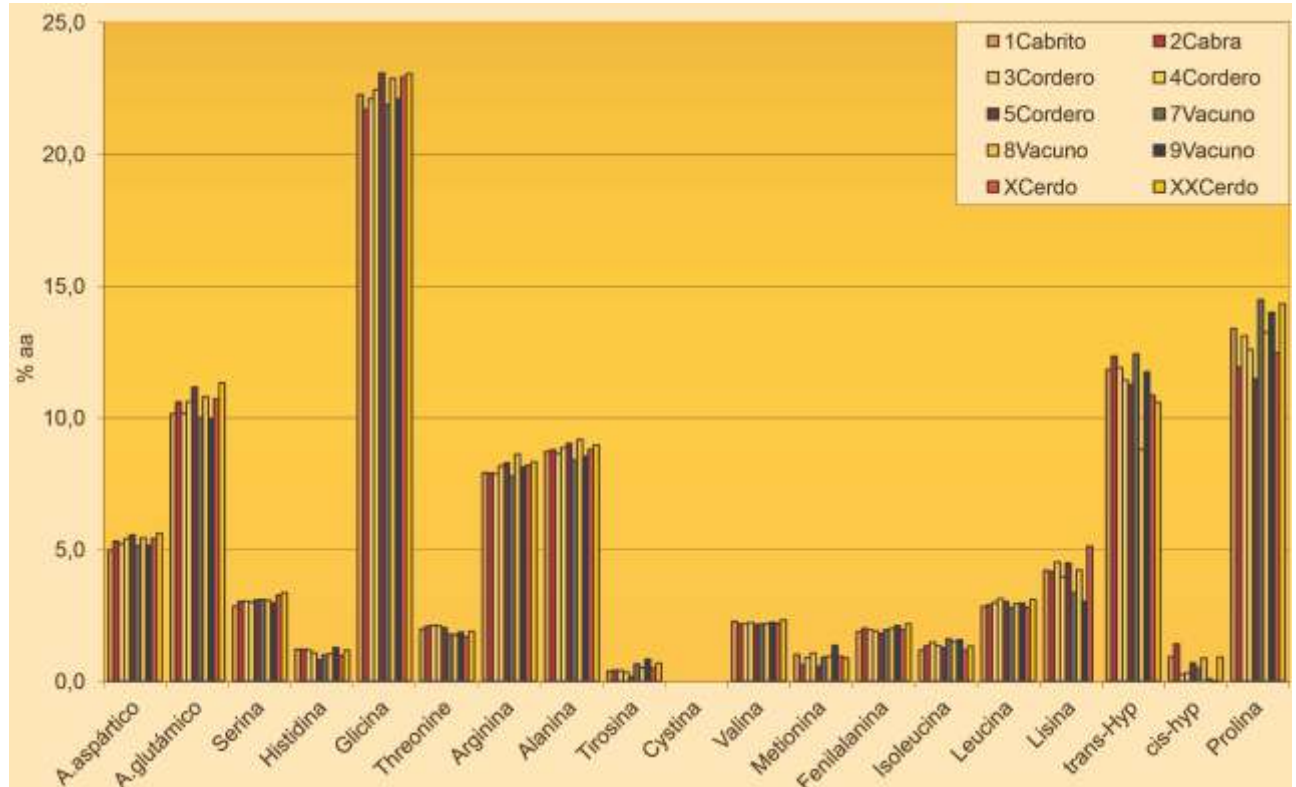


Figura 5: Porcentaje de aminoácidos identificados

Los resultados obtenidos confirman que la Glicina es el aminoácido mayoritario, puesto que se encuentra siempre en la primera posición de los tripletes que forman la proteína de colágeno, seguido de la Prolina, aminoácido esencial para favorecer la

formación de triple hélice del colágeno. En la figura 5 también se puede observar que las diferencias entre especies son pequeñas y habría que confirmar desde el punto de vista estadístico si son significativas para la identificación.

DATOS DEL PROYECTO

TÍTULO: IDENTIFICACIÓN OPTIMIZADA MEDIANTE TÉCNICAS ANALÍTICAS TÉRMICAS Y CRONOMATOGRÁFICAS DE LA ESPECIA ANIMAL DE PIELS DE BOVINO, OVINO, CAPRINO Y PORCINO PARA ARTÍCULOS DE CALZADO Y MARROQUINERÍA

ACRÓNIMO: OPAN-LEATHER

PROGRAMA: PROYECTOS DE I+D EN COOPERACIÓN CON EMPRESAS 2017

PERIODO EJECUCIÓN: ENERO 2017 - DICIEMBRE 2017

FINANCIACIÓN:

Convocatoria de ayudas del Instituto Valenciano de Competitividad Empresarial (IVACE) dirigida a centros tecnológicos de la Comunitat Valenciana para proyectos de I+D de carácter no económico realizados en cooperación con empresas para el ejercicio 2017. Proyecto apoyado por el IVACE (Generalitat Valenciana) y cofinanciado en un 50% por la Unión Europea a través del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), dentro del Programa Operativo FEDER de la Comunitat Valenciana 2014-2020, con número de expediente IMDEEA/2017/8.

Desarrolla:



Financia:



Una manera de hacer Europa