



## Application Note/Nota de Aplicación

# Determinación de compuestos orgánicos potencialmente alérgenos en equipos textiles de protección individual (EPIs) mediante análisis directo por pirólisis acoplado a cromatografía de gases espectrometría de masas (Py-GC/MS).

Luis Bartolomé\*

\*Servicio Central de Analisis de Bizkaia (SCAB). Servicios Generales de Investigación (SGIker), UPV/EHU.

### ABSTRACT

Nowadays different cases of allergy in different clothes have been observed due to organic components used in industrial preparation of garments. Mainly, these compounds are usually dyes although it is also possible to find other related compounds of the industrial processes such as preservatives. An analytical methodology to detect the presence of organic compounds with potentially allergenic properties in Personal Protective Equipment (PPE) has been developed. Samples previously homogenized in a cryogenic mill, were introduced into a Py-GC/MS. With this methodology, the presence of a potential allergen (benzyl benzoate) in some of the new clothes analyzed could be detected and, simultaneously, the presence of dyes would be also discarded. Moreover, the disappearance of this compound in the contaminated PPE was confirmed after a washing treatment.

### RESUMEN

Se ha observado en los últimos años diferentes casos de alergia a distintas prendas de ropa debido a componentes orgánicos utilizados industrialmente en su confección. Principalmente estos compuestos suelen pertenecer a las familias de los colorantes, aunque es posible encontrar otros compuestos relacionados con conservantes o derivados del proceso industrial. Se ha desarrollado una metodología analítica que permite revelar la presencia de compuestos orgánicos con propiedades potencialmente alérgenos en Equipos de Protección Individual (EPIs) de carácter textil. Para ello, las muestras, previamente homogeneizadas en un molino criogénico, se introdujeron en un pirolizador acoplado a un cromatógrafo de gases con detector de espectrometría de masas (Py-GC/MS). Gracias a esta metodología, se detectó la presencia de un alérgeno potencial (bencil benzoato) en algunas de las prendas analizadas y se descartó de forma simultánea la presencia de otros compuestos de la familia de las resina o colorantes. Además, se comprobó la desaparición de este compuesto en las prendas después de un tratamiento de lavado.

## 1. INTRODUCCIÓN

Múltiples estudios han mostrado la posibilidad de que distintos componentes de los productos textiles tales como colorantes, conservantes o aditivos puedan ocasionar procesos alérgicos en la piel [1-3].

Las propiedades físico-químicas de estos compuestos son muy diferentes debido a que pertenecen a familias muy distintas. Mientras que, los colorantes y conservantes suelen ser moléculas de alto peso molecular, [4] los aditivos pueden ser moléculas mucho más pequeñas y, por lo tanto, más volátiles [5].

El análisis químico, mediante un pirolizador acoplado a un cromatógrafo de gases con detector de espectrometría de masas (Py-GC/MS), permite un

análisis directo de los tejidos textiles sin necesidad de tratamientos previos de extracción. Además, la posibilidad de analizar a distintas temperaturas hace que en un análisis simultáneo de una única muestra se pueda obtener información tanto de los compuestos adheridos al tejido, como aditivos y conservantes (temperaturas de pirólisis bajas), como de los compuestos absorbidos en las cadenas de textil, como colorantes y tintes (temperatura de pirólisis más altas). Por todo esto, el objetivo de esta nota técnica fue conseguir una metodología Py-GC/MS que sirviera para identificar en un material textil la presencia de algún compuesto orgánico potencialmente alérgeno mediante programas secuenciales de temperatura.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Muestreo y pretratamiento.

Se recibió 1 prenda nueva de referencia y 2 prendas (muestra 1 y muestra 2) usadas como EPIs en una empresa dedicada a la industria de la automoción. Siguiendo las indicaciones del médico de empresa, se seleccionaron 3 partes distintas donde realizar el muestreo de las prendas. En la Figura 1 se puede observar en rojo las zonas de muestreo. Para cada una de las prendas analizadas se tomó aproximadamente la misma cantidad de tela (2 g).



Figura 1. Zonas de muestreo en una de las prendas (EPI) analizadas.

Las muestras de tela de cada camiseta se molieron en un molino criogénico (Molino criogénico 6770 Freezer mill, SPEX Sample prep, Stanmore, UK). El programa utilizado consistió en 10 minutos de molienda con una etapa previa de criogenización de 4 minutos. Una vez molidas, las muestras textiles fueron almacenadas en botes de cristal (Figura 2) previamente sometidos a un tratamiento térmico de limpieza.



Figura 2. Muestras molidas y almacenadas para su análisis posterior.

### 2.2. Procedimiento Experimental:

#### 2.2.1. Análisis químico mediante Py-GC/MS

Las muestras (aproximadamente 100  $\mu\text{g}$ ), se introdujeron en un microtubo de cuarzo encapsulado en lana de vidrio. La misma muestra se analizó a 3 temperaturas diferentes: 280° C, 600° C y 750° C con el fin de observar tanto los compuestos adheridos al textil (disolventes o modificadores) en la temperatura baja

(280° C), como los compuestos incluidos en la cadena de fibras que componen la prenda EPI (600 y 750° C). En la Tabla 1 se enumeran los parámetros cromatográficos seleccionados. Se realizó también a todas las temperaturas el análisis de un blanco (sin textil, solamente el tubo portamuestra con la lana de cuarzo)

Tabla 1. Parámetros cromatográficos de los análisis realizados

Cromatógrafo de gases (GC)
Inyección: Pyrolizador
Modo de inyección: split (1:10)
Temperatura de inyección: 300° C
Temperatura de línea de transferencia: 330° C
Columna cromatográfica: HP 5 (30 mx25 mmx0.25 $\mu\text{m}$ )
Gas portador: Helio 2.0 mL $\text{min}^{-1}$
Rampa de temperaturas:
T inicial: 40° C
de 40° C a 330° C a 10° C $\text{min}^{-1}$
T final: 330° C, durante 10 min
Detector de masas (MS)
Modo SCAN (40-550 m/z)

#### 2.2.2. Estudio de las prendas después de uso

Aproximadamente 500 mg de la EPI nueva de referencia previamente tratada, se sumergió en una muestra de 5 mL de sudor artificial (Preparado según norma ISO pH 5.5) [6] durante dos horas. Una vez pasado el tiempo se centrifugó, se retiró la solución acuosa y se dejó secar al aire en papel absorbente. La muestra, aproximadamente 100  $\mu\text{g}$ , se introdujo en un microtubo de cuarzo y se encapsuló en lana de vidrio. La misma muestra se analizó a 3 temperaturas diferentes: 280° C, 600° C y 750° C. Las condiciones de medida fueron las mismas que las anteriores descritas en la Tabla 1.

### 2.2.3. Estudio de las prendas después de lavado

Se tomó de nuevo muestra de tres partes de la camiseta nueva de referencia en la que se había encontrado el potencial alérgeno. Estos tres trozos de camiseta se sometieron a un lavado en el laboratorio. Este lavado consistió en dejar durante una hora (tiempo aproximado de lavado en una lavadora normal) con una proporción aproximada al 2% (V/V) de jabón líquido comercial. El agua que se utilizó para el lavado fue agua del grifo. Después del proceso de lavado, las muestras se aclararon con agua del grifo y se dejaron secar durante unas horas. Una vez que estuvieron secas, se realizó la molienda del textil de la misma manera que en los casos anteriores, se introdujo en un vial de cuarzo y se analizó a las mismas temperaturas utilizando los mismos parámetros descritos en la Tabla 1.

### 2.2.4. Tratamiento de datos.

Tras la medida de las muestras, los compuestos encontrados fueron contrastados e identificados con la librería de espectros NIST 11. Para ello, se sustrajo la línea base de los cromatogramas y se realizaron distintos modos de comparación con la librería de espectros. Algunas de las señales fueron deconvolucionadas usando el propio software del equipo (*Chemstation, CA, USA*)

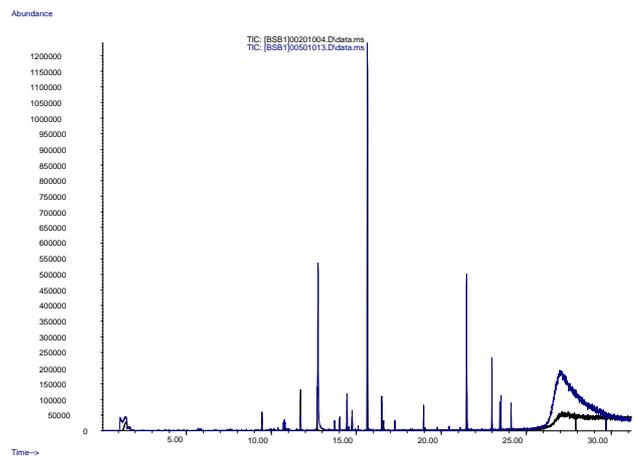
## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Estudio de los compuestos adheridos al textil (disolventes o modificadores)

Se analizaron un total de 5 muestras; 2 réplicas de la muestra de referencia, una muestra blanco y una inyección de cada una de las muestras sospechosas de poder tener algún alérgeno (muestra 1 y muestra 2). Con respecto al blanco se pudo observar que las señales observadas no representaban ninguna interferencia significativa para nuestros ensayos (no se muestran los resultados). En la Figura 3 se muestran los cromatogramas superpuestos de las dos réplicas de la muestra referencia a una temperatura de 280° C.

La mayoría de las señales cromatográficas son idénticas excepto en el caso de una de ellas ( $t_R$ : 12.74 min) que sólo aparece en la segunda réplica de la muestra de referencia. Esta señal ha sido identificada como *D-Allose* (CAS-number 2595-97-3) por la librería de espectros y también se ha podido observar en las muestras 1 y 2 (ver Figura 3). Este compuesto es un monómero de

compuestos orgánicos vegetales sin propiedades alérgicas conocidas.



50

Figura 3. Cromatogramas superpuestos en modo SCAN para las dos réplicas de la camiseta de referencia sin problemas alérgenos (negro y azul).

Si se comparan los cromatogramas de las muestras 1 y 2 usadas por los operarios con la muestra de referencia (ver Figura 4) se puede observar cómo, en la muestra de referencia, existe una señal (observada en ambas réplicas realizadas) que no se ha observado en las muestras sospechosas. Esta señal se observa a tiempo de retención  $t_R$ : 15.64 min y ha sido identificada como *Benzil Benzoato* (CAS number 120-51-4). Aunque esta sustancia, no tiene la clasificación CLP (Reglamento CE, nº 1272/2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas) de alérgeno (H317), sí que se ha clasificado como alérgeno en la industria cosmética. Lo curioso de este caso es que esta sustancia se ha encontrado en la camiseta nueva de referencia y no en las camisetas 1 y 2 que habían sido previamente usadas por trabajadores de la fábrica. En la Figura 4 se pueden observar los cromatogramas superpuestos de las 4 muestras inyectadas (2 réplicas de la muestra de referencia en negro y verde, la muestra 1 en azul y la muestra 2 en rojo). Como hemos comentado se puede ver *D-Allose* en las muestras sospechosas y no en una de las réplicas de referencia. El *Benzil Benzoato* se puede observar en las dos réplicas de la muestra de referencia pero en ninguna de las muestras problema. Existen también algunos compuestos presentes únicamente en las muestras 1 y 2 que no han podido ser identificados con seguridad por contraste con la librería de espectros. Es probable que sean compuestos orgánicos exudados por el propio cuerpo de los trabajadores (aceites y grasas).

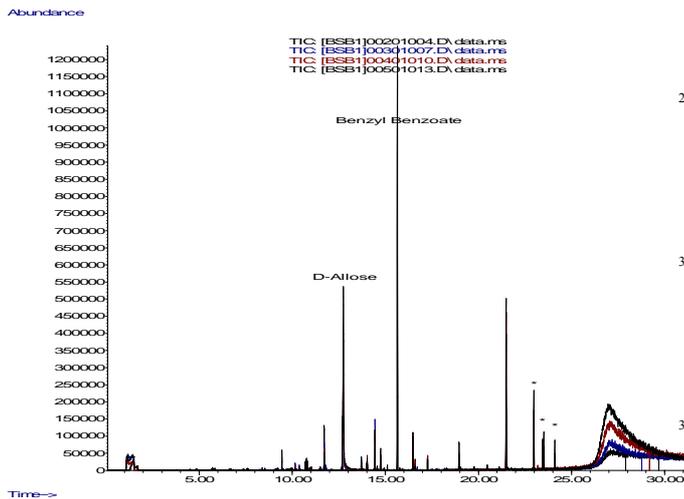


Figura 4. Cromatogramas superpuestos en modo SCAN para la muestra de referencia (negro y verde), para la muestra 1 (azul) y la muestra 2 (rojo). \*Compuestos presentes únicamente en las muestras 1 y 2 no identificados con seguridad.

### 3.2. Estudio de los compuestos incluidos en la cadena de fibras que componen la camiseta

Para ello se realizó la pirólisis de las muestras a 600 y 750 °C. Los perfiles cromatográficos de la muestra de referencia y de las muestras 1 y 2, han sido prácticamente iguales a ambas temperaturas. En la figura 5 se muestran los cromatogramas superpuestos de todas las muestras analizadas. En el estudio de cada una de las señales encontradas y en el posterior contraste con la librería de espectros, no se ha identificado ningún elemento que pueda ser perteneciente a la familia de los colorantes o aditivos con potencialidad alérgica.

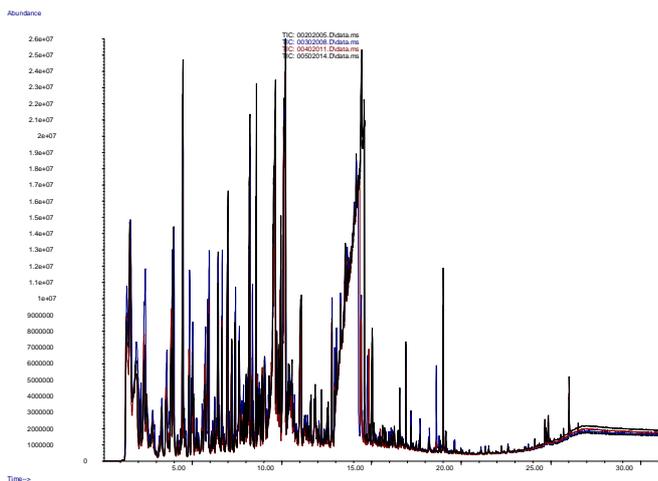


Figura 5. Cromatogramas superpuestos de las muestra de referencia (negro y verde), la muestra 1 (azul) y la muestra 2 (rojo).

### 3.3. Estudio de las prendas después de uso

Como se ha podido observar de los resultados obtenidos, la presencia del bencil benzoato era sólo visible en prendas nuevas no así en muestras que habían sido previamente usadas por los trabajadores y que ya habían dado procesos alérgicos. Para explicar el hecho de la no presencia de este compuesto en las prendas ya usadas, se pensó que el propio sudor de los trabajadores había servido de vehículo para eliminar este compuesto debido a su polaridad (soluble en soluciones acuosas) y a su posible desorción sencilla de las prendas al no estar incluido en la matriz de tejido. Este último hecho ha sido corroborado al observar únicamente este compuesto en la temperatura más baja de análisis (280° C).

Se inyectaron un total de 3 muestras; una muestra blanco (sin textil, solo la lana de cuarzo y el tubo portamuestra) y 2 réplicas de la muestra de referencia después de la inmersión en el sudor artificial. En la Figura 6 se puede observar cómo todas estas señales han desaparecido una vez se ha realizado el tratamiento con el sudor artificial. Esto puede ser la explicación de porqué se encontró el compuesto en la muestra de referencia (sin usar) y no en las muestras que habían dado respuesta alérgica (usadas).

Tanto a la temperatura de 600° C como a la de 750° C, los perfiles cromatográficos de la muestra de referencia como de las muestras sospechosas fueron iguales tanto antes como después del proceso con el sudor sintético (no se muestran).

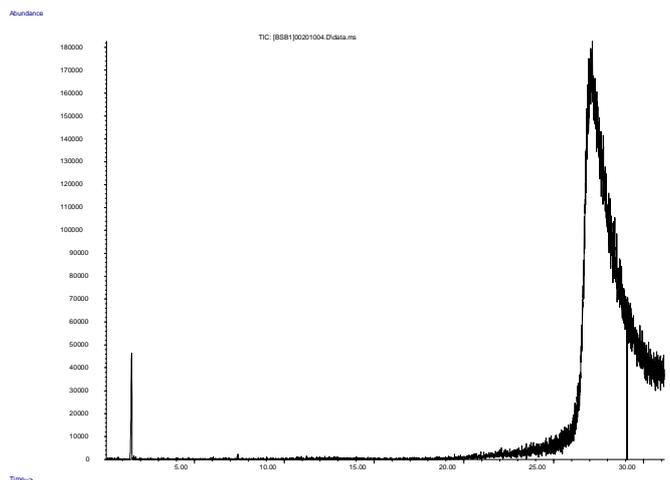


Figura 6. Cromatogramas en modo SCAN para la muestra nueva de referencia después del proceso de lavado con el sudor sintético

### 3.4. Estudio de las prendas después de lavado

En la Figura 7 se muestra el cromatograma de la muestra de referencia después de haber sufrido el proceso de lavado. Se puede observar que la señal correspondiente al compuesto benzyl benzoato desaparece una vez se ha realizado el lavado con jabón líquido. Para el caso del resto de temperaturas, los cromatogramas obtenidos fueron idénticos a los mostrados anteriormente. La única señal visible es un derivado volátil probablemente debido a alguna fragancia del jabón líquido de lavado.

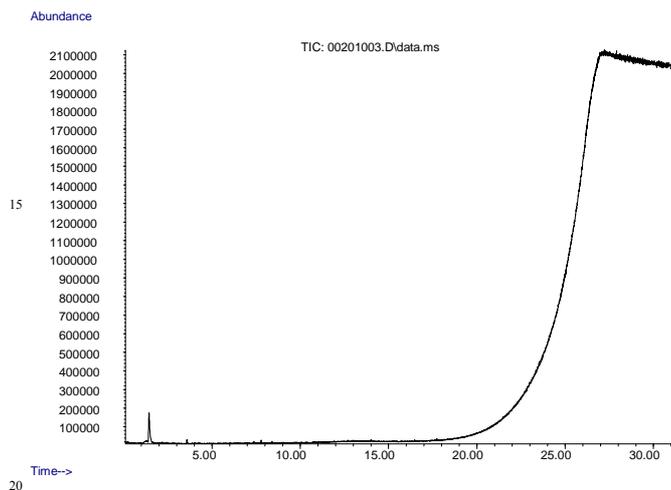


Figura 7. Cromatogramas en modo SCAN para la muestra nueva de referencia después del proceso de lavado con jabón comercial.

### CONCLUSIONES

Se ha descrito una metodología de análisis directa, sencilla y versátil para la detección de posibles agentes alérgenos en prendas textiles mediante un único análisis secuencial haciendo uso de Py-GC/MS. La posibilidad de hacer el análisis secuencialmente con la misma muestra a distintas temperaturas ha posibilitado detectar tanto compuestos orgánicos adsorbidos/adsorbidos sobre la prenda EPI, como productos colorantes o aditivos incorporados en la propia estructura natural ó sintética del producto textil. En este estudio concretamente, se ha detectado un potencial alérgeno en distintas prendas EPI. Se ha comprobado que el hecho de haber identificado únicamente este compuesto en la prenda nueva de referencia había sido debido a que este compuesto se perdía después de estar en contacto con el sudor de los trabajadores. Este hecho ha proporcionado un tratamiento de lavado que ha posibilitado la eliminación total de este compuesto en las prendas EPI.

### BIBLIOGRAFÍA

- [1] K. L. Hatch and H. L. Maibach, (1995) Textile dye dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology* 32, (4) 633-639.
- [2] K. Ryberg, M. Isaksson, B. Gruvberger, M. Hindsén, E. Zimerson and M. Bruze (2006) Contact allergy to textile dyes in southern Sweden. *Contact Dermatitis*. 54, 313-321.
- [3] A. Sánchez-Gilo, E. Gómez-De La Fuente, L. Calzado, and J.L. López-Estebananz, (2008) Textile Contact Dermatitis in a Patient Sensitized to Reactive Orange 107 Dye. *Case and Research Letters* 1, 278-279
- [4] I. Bazin, A. Ibn Hadj Hassine, Y. Haj Hamouda, W.Mnif, A. Bartegi, M. Lopez-Ferber, M. De Waard and C. Gonzalez (2012) Estrogenic and anti-estrogenic activity of 23 commercial textile dyes. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 85, 131-136
- [5] E.V.C. Rosa, L. Mater, M.M. Souza-Sierra, L. R. Rörig, L. M. Vieira, C. M. Radetski (2007) Textile sludge application to non-productive soil: Physico-chemical and phytotoxicity aspects. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68, 91-97
- [6] Kulthong K, Srisung S, Boonpavanitchakul K, Kangwansupamonkon W, Maniratanachote R. (2010). Determination of silver nanoparticle release from antibacterial fabrics into artificial sweat. *Particle and Fibre Toxicology* 7:8.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece la revisión por parte de las investigadoras N. Ayarza, M. Alonso y E. Rico. También se agradece el apoyo tecnológico de los SGIker de la UPV/EHU y la financiación europea (FEDER y FSE).