

Determinación de estireno en aire exhalado - Método de captación en tubo adsorbente, desorción térmica / Cromatografía de gases

MTA/MB-020/A92

Palabras clave: estireno, aire exhalado, cromatografía de gases.

PRESENTACIÓN

El estireno es el componente básico en la fabricación de plásticos de poliestireno reforzados con fibra de vidrio. Por esta razón resulta de interés disponer de un método ensayado y validado para la determinación de este compuesto en el aire exhalado final, para su utilización en el control biológico de la exposición a este compuesto.

El método "*Determinación de estireno en aire exhalado*" es un **MÉTODO ACEPTADO** por el [Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo \(INSHT\)](#). Como **MÉTODO ACEPTADO** se entiende un método evaluado por el INSHT y que ha sido sometido a un protocolo de validación por organizaciones oficiales competentes en el área de la normalización de métodos analíticos, o bien ha sido adoptado como método recomendado por asociaciones profesionales dedicadas al estudio y evaluación de riesgos por agentes químicos, así como, aquellos métodos recomendados por la CE o basados en métodos ampliamente conocidos y evaluados por especialistas en este tipo de análisis.

El método que se presenta se ha estudiado siguiendo el protocolo de validación (10.2) establecido por el INSHT.

Índice

1. OBJETO Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

2. DEFINICIÓN

2.1. Aire exhalado final

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

4. REACTIVOS Y PRODUCTOS

4.1. Gases

4.2. Reactivos

4.3. Disoluciones para la preparación de tubos patrón para calibración

5. APARATOS Y MATERIAL

5.1. Material para la toma de muestras

5.2. Aparatos y material para el análisis

6. TOMA DE MUESTRA

7. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

7.1. Preparación de muestras y blancos

7.2. Calibración

7.3. Análisis cromatográfico

7.4. Determinación de la eficacia de desorción

8. CÁLCULOS

8.1. Cálculo de la eficacia de desorción

8.2. Determinación de la concentración de analito presente en cada tubo adsorbente

8.3. Determinación de la concentración de analito en aire exhalado

9. PRECISIÓN

10. BIBLIOGRAFÍA

ANEXO A

1. OBJETO Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

Se describe en este método el procedimiento a seguir y el equipo necesario para la captación y el análisis de vapores de estireno (N° CAS 100-42-5) en aire exhalado. La captación se realiza mediante un sistema (5.1.1) que permite la selección de la fracción final del aire exhalado (2.1 y 6), reteniéndose los vapores de estireno presentes en un tubo adsorbente relleno de Tenax (5.1.2), para su análisis posterior mediante desorción térmica y cromatografía de gases.

El método se ha ensayado en el siguiente intervalo de concentraciones de estireno en aire exhalado (10.1, 10.2):

$$3,8 \text{ mg/m}^3 \text{ a } 26,6 \text{ mg/m}^3$$

Los datos de validación para este intervalo se incluyen en el [anexo A](#).

Estos límites se pueden modificar en la práctica, modificando el procedimiento operativo de toma de muestra, puesto que el sistema utilizado descrito en (5.1.1) permite enriquecer la muestra recogida en el tubo adsorbente (5.1.2) hasta alcanzar la cantidad adecuada para su análisis cromatográfico.

Cualquier compuesto presente en el aire exhalado que pueda captarse en el tubo adsorbente, y que tenga el mismo tiempo de retención que el estireno, en las condiciones descritas en el método, debe ser considerado como una interferencia.

Estas interferencias pueden minimizarse seleccionando las condiciones y columnas cromatográficas adecuadas.



2. DEFINICIÓN

2.1. Aire exhalado final: Es la fracción final del aire exhalado recogida siguiendo un procedimiento predeterminado. Esta fracción es la que mejor se puede identificar con la fracción alveolar (10.3). El procedimiento utilizado en este método (6.2 a 6.5) está basado en el descrito en (10.4).



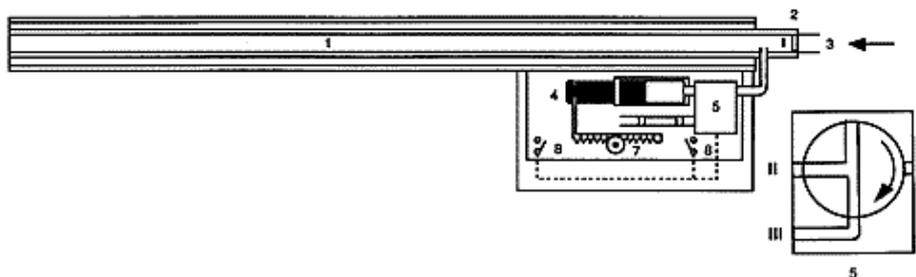
3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El aire exhalado final (2.1) se recoge con un tubo de Haldane -Priestley modificado (véase 5.1.1 y figura 1), siguiendo el procedimiento descrito en (6). El aire exhalado final recogido, procedente de cinco exhalaciones sucesivas, se hace pasar vía una válvula a través de un lecho adsorbente (Tenax TA) con objeto de retener los vapores orgánicos que contenga.

Los vapores retenidos se desorben térmicamente y se analizan directamente en un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización de llama.

Mediante el área del pico de estireno, se determina la cantidad del mismo presente en la muestra y a partir de este valor se calcula la concentración en aire exhalado, en función del volumen de aire recogido en cada tubo.

FIGURA 1 SISTEMA DE CAPTACIÓN DE AIRE EXHALADO



- | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1) Tubo de aluminio calorifugado | 5) Válvula de tres vías |
| 2) Válvula antirretroceso | 6) Tubo de adsorbente |
| 3) Tubo de cartón desechable | 7) Motor |
| 4) Jeringa | 8) Interruptores final de carrera |

4. REACTIVOS Y PRODUCTOS

4.1. Gases

4.1.1. Nitrógeno purificado

4.1.2. Hidrógeno purificado

4.1.3. Aire sintético puro

4.2. Reactivos

Todos los reactivos serán de calidad analítica como mínimo.

4.2.1. Estireno

NOTA: SUSTANCIA NOCIVA. Frases (R) 10-20-36/38. Frases (S) 23. Real Decreto 2216/1985 (10.5).

4.3. Disoluciones para la preparación de tubos patrón para calibración de concentraciones similares a las que se vayan a determinar en las muestras (7.2). Esta disolución debe prepararse por triplicado.

5. APARATOS Y MATERIAL

5.1. Material para la toma de muestras

5.1.1. Sistema de captación

El sistema consta de (figura 1):

- Un tubo de aluminio de 1 m de longitud y 26 mm de diámetro, conectado a una boquilla desechable con una válvula que se abre al entrar el aire exhalado a través del sistema y se cierra al finalizar la exhalación. El tubo está calorifugado y recubierto por una camisa aislante de 15 mm de espesor que permite mantener la temperatura a 40 - 45 °C.
- Una válvula de tres vías que está conectada a:
 - I. extremo del tubo de aluminio de Haldane-Priestley donde está insertada la boquilla (aproximadamente a 5 cm de la misma);
 - II. jeringa de gases de 50 ml instalada en un sistema de cremallera que permite el llenado y vaciado de la misma;
 - III. tubo adsorbente (5.2.1).

Como se muestra en la [figura 1](#), el sistema de captación está basado en la posibilidad de invertir el giro del motor que acciona la jeringa, con lo que ésta puede realizar alternativamente movimientos de aspiración del aire exhalado recogido en el tubo de aluminio e impulsión hacia el tubo adsorbente, mediante el cambio automático de la posición de la válvula de tres vías.

El mecanismo de control de la válvula, según se detalla en la [figura 1](#) permite abrir las vías I y II durante la etapa en la que el aire exhalado recogido se hace pasar desde el tubo de Haldane-Priestley hasta la jeringa, manteniendo la vía III cerrada.

En una segunda etapa se mantienen abiertas las vías II y III para hacer pasar el aire desde la jeringa al tubo adsorbente, manteniendo cerrada la vía I.

5.1.2. Tubos adsorbentes. Se utilizan tubos de acero inoxidable de 69 mm de longitud y 6,4 mm de diámetro, empaquetados con 150 mg de Tenax TA de 20/40 mallas. Antes de su uso es necesario acondicionarlos en las mismas condiciones que se vayan a utilizar en la desorción ([7.3.1](#)).



5.2. Aparatos y material para el análisis

5.2.1. Sistema de desorción térmica en dos etapas, equipado con una trampa fría rellena con 20 mg de Tenax TA capaz de alcanzar -30°C, conectado mediante una línea de transferencia calentada a un cromatógrafo de gases.

5.2.2. Cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama capaz de detectar una inyección de 2 ng de estireno con una relación señal-ruido de al menos 5 a 1 para una atenuación de 16 x 1.

5.2.3. Columna cromatográfica capilar de FFAP unido químicamente, de 25 m x 0,2 mm o cualquier otra capaz de separar los analitos de interés.

5.2.4. Integrador electrónico u otro modo equivalente para la medida de las áreas de los picos.

5.2.5. Sistema para la generación de atmósferas de estireno de concentraciones conocidas para la preparación de los tubos patrón para calibración (véase [figura 2](#) y [7.2](#)).



6. TOMA DE MUESTRA

6.1. Insertar el tubo adsorbente ([5.1.2.](#)) en el sistema de captación ([5.1.1.](#)), asegurando su hermeticidad.

6.2. Después que el individuo al que se tomará la muestra realice dos o tres respiraciones profundas y seguidas, deberá mantener el aire de la última inhalación durante 10-15 segundos antes de realizar una exhalación prolongada y total a través del tubo de aluminio del sistema de captación ([5.1.1.](#) y [figura 1](#)). El ritmo de esta exhalación debe ser lento y continuado. En cualquier caso la realización de dos o tres experiencias previas, sirve para adecuar la velocidad de esta exhalación.

6.3. Una vez finalizada la exhalación se hacen pasar por el tubo adsorbente y por medio de la jeringa (véase [figura 1](#)), 4 alícuotas de 50 ml cada una.

6.4. El procedimiento descrito en [6.2](#) y [6.3](#) puede repetirse 5 veces sin cambiar el tubo adsorbente, con lo cual se muestreará un volumen total de aire exhalado de 1 litro, que es el volumen de muestra recomendado en condiciones normales.

Si se conoce que las concentraciones son muy bajas, se pueden muestrear volúmenes de aire exhalado mayores, repitiendo el procedimiento descrito las veces necesarias.

6.5. Para calcular el volumen total de aire exhalado que se ha hecho circular por cada tubo adsorbente, se tomará nota del volumen de la jeringa, del número de alícuotas tomadas en cada exhalación y en su caso, del número de veces que se repite el procedimiento completo sin cambiar el tubo adsorbente.

6.6. Una vez terminado el muestreo se tapan ambos extremos del tubo adsorbente asegurando la hermeticidad del mismo.

6.7. Durante el transporte, las muestras no deben someterse a temperaturas elevadas, y debe impedirse el contacto con productos que puedan contener componentes orgánicos volátiles.

6.8. En las condiciones de validación del [anexo A](#), el almacenamiento durante dos semanas a temperaturas ambiente no produce pérdidas significativas. El almacenamiento durante períodos mayores deberá comprobarse previamente y en cualquier caso es recomendable realizarlo en refrigerador.



7. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

7.1. Preparación de muestras y blancos

Sustituir los tapones de transporte de los tubos por los cabezales de desorción estándar, teniendo la precaución de colocarlos de tal forma que, siguiendo las instrucciones específicas del sistema de desorción, ésta se realice en sentido contrario a como se realizó la adsorción.

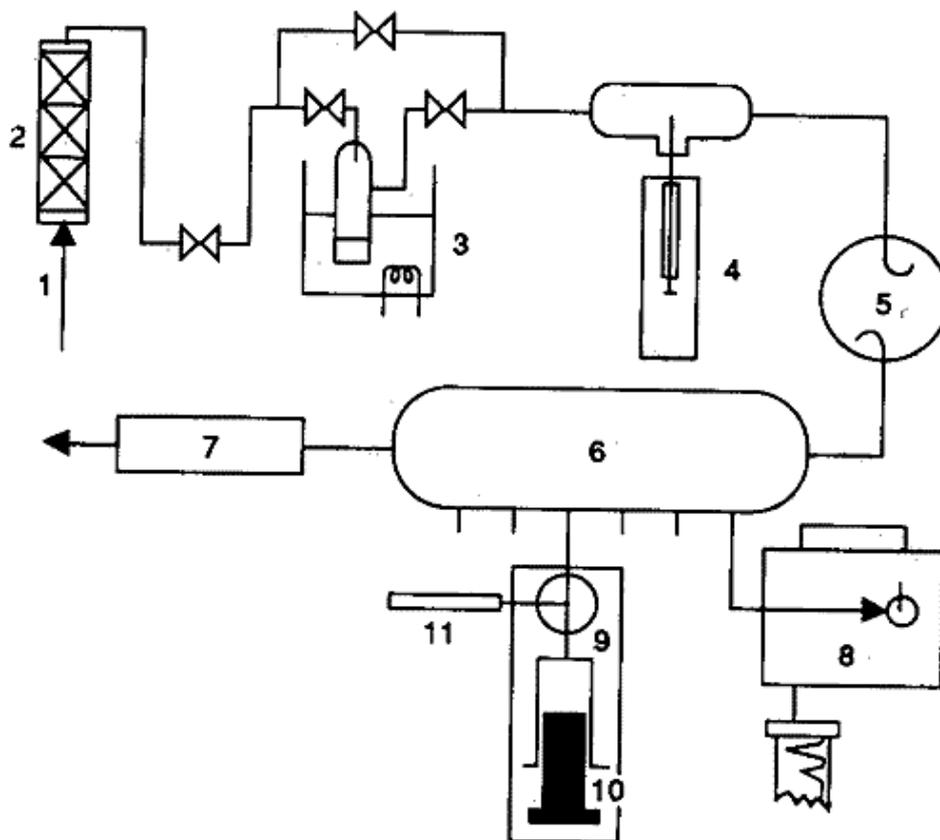
7.2. Calibración

La calibración se realiza mediante la preparación de tubos patrón por triplicado, utilizando el sistema descrito en la figura 2, que permite pasar volúmenes conocidos de una atmósfera de estireno de concentración conocida a través del tubo adsorbente, obteniendo así tubos patrón para la calibración en el intervalo de interés.

Una opción alternativa para la preparación de los tubos patrón consiste en la utilización de un inyector convencional de un cromatógrafo de gases. Para lo cual se coloca el tubo adsorbente como si fuera una columna cromatográfica y se hace pasar el gas portador a través de él. Se inyecta una disolución (4.3) del compuesto a analizar en un disolvente apropiado que eluya con la suficiente antelación respecto del estireno como para permitir detener el proceso cuando el disolvente haya eluido totalmente dejando atrapado en el tubo el compuesto de interés. Repitiendo este procedimiento con disoluciones de diferente concentración se pueden obtener una serie de tubos patrón para calibración en el intervalo deseado.

En ambos casos, se construye la curva de calibración representando en una gráfica las cantidades de estireno adicionadas a los tubos patrón frente a los correspondientes valores medios de las áreas de los picos cromatográficos. En la figura 3 se expone la curva de calibración obtenida con ambos procedimientos.

FIGURA 2
SISTEMA PARA PREPARAR LOS PATRONES PARA LA CALIBRACIÓN



- (1) entrada de aire;
- (2) filtro;
- (3) humidificador;
- (4) inyector automático;
- (5) cámara de mezcla;
- (6) cámara de muestreo;
- (7) sensor de humedad;
- (8) cromatógrafo de gases;
- (9) válvula de tres vías;
- (10) jeringa con servomotor;
- (11) tubo adsorbente

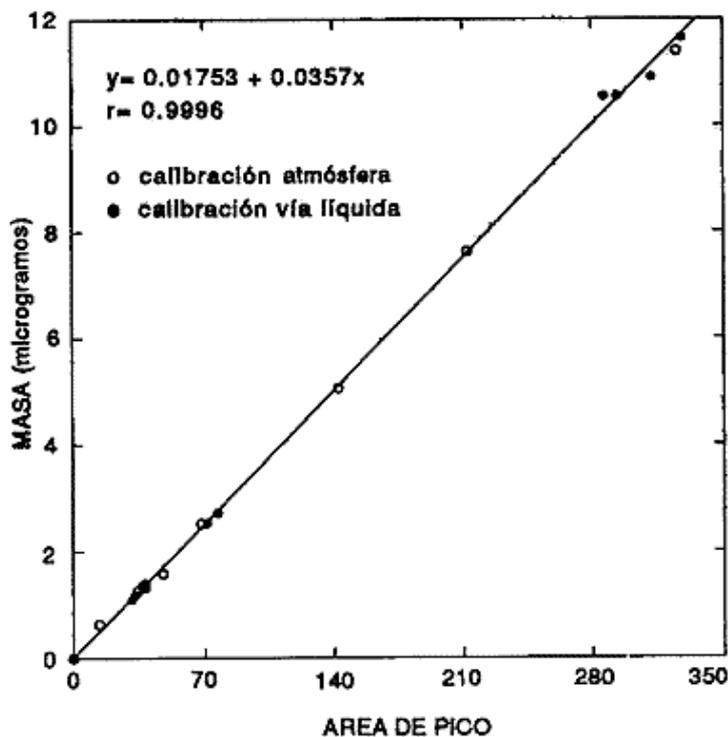
7.3. Análisis cromatográfico

7.3.1. Condiciones de desorción térmica. Se realiza una desorción en dos etapas. En la primera los vapores de estireno son conducidos desde el tubo situado en el horno de desorción hasta la trampa fría. En la segunda etapa se produce un calentamiento de dicha trampa para conducir los vapores directamente hasta el cromatógrafo de gases, sin división de flujo.

Las condiciones de desorción son las siguientes:

1ª Etapa	
Gas portador, nitrógeno:	68,90 kPa (10 psi)
Temperatura del horno:	200 °C
Tiempo de desorción:	10 min
Temperatura de la trampa fría:	- 30 °C
2ª Etapa	
Temperatura de la trampa fría:	300 °C

**FIGURA 3
RECTA DE CALIBRACION**



7.3.2. Condiciones cromatográficas. Las condiciones típicas de trabajo con el cromatógrafo de gases equipado según se indica en 5.2.2 y 5.2.3 son las siguientes:

Gas portador, nitrógeno: 68,90 kPa (10 psi)

Hidrógeno: 35 ml/min

Aire Sintético: 220 ml/min

Temperatura línea de transferencia: 120 °C

Temperatura del horno: 120 °C (isoterma).

Temperatura del detector: 200 °C

7.3.3. Inyección. El sistema de desorción utilizado (5.2.1) coloca automáticamente el tubo en el horno de desorción, secuenciando las distintas etapas del proceso para iniciar el análisis cromatográfico en el mismo instante de iniciar la segunda etapa de desorción.



7.4. Determinación de la eficacia de desorción

La eficacia de desorción de este procedimiento ha de ser prácticamente del 100%, ya que al ser tubos reutilizables han de quedar activados para una nueva toma de muestra tras cada análisis. No obstante, es necesario calcular dicha eficacia de desorción periódicamente y para cada nuevo lote de adsorbente, para lo cual se toman un mínimo de 3 muestras con el sistema descrito en la [figura 2](#) de forma similar a los tubos patrón para calibración (7.2) y se guardan refrigerados durante 24 horas antes de realizar su desorción y análisis tal y como se hace con las muestras.

Paralelamente se debe preparar un tubo en blanco, que se manipula de la misma manera pero sin que se recoja muestra. En todos los casos se realizará una segunda desorción a cada tubo para comprobar que la primera ha sido total



8. CÁLCULOS

8.1. Cálculo de la eficacia de desorción

La eficacia de desorción (ED) se calcula mediante la siguiente expresión:

$$ED = \frac{m_i - m_b}{m}$$

donde:

m_i es la cantidad promedio (mg) de analito recuperada en cada tubo muestreado.

m es la cantidad (mg) teóricamente añadida en función de la concentración de la atmósfera controlada.

m_b es la cantidad de analito (mg) encontrada en el blanco.

La eficacia de desorción calculada para el estireno es de 0,99 en base a los datos de validación del [anexo A](#).



8.2. Determinación de la concentración de analito presente en cada tubo adsorbente (6)

En función del área del pico cromatográfico y utilizando la recta de calibración se cuantifica la cantidad de analito, presente en cada tubo de muestra obtenido según [6](#), de acuerdo con la expresión:

$$m_s = \frac{m_a}{ED}$$

donde:

m_s es la cantidad de analito presente en el tubo adsorbente en mg.

m_a es la cantidad de analito obtenida en el análisis cromatográfica, en mg.

ED es la eficacia de desorción.

8.3. Determinación de la concentración de analito en aire exhalado

Se calcula la concentración de analito en el aire exhalado, en miligramos por metro cúbico, por medio de la siguiente ecuación:

$$C_{ae} = \frac{m_s \times 1000}{V}$$

donde:

C_{ae} es la concentración de analito en el aire exhalado en mg/m³.

m_s es la cantidad total de analito presente en el tubo adsorbente en mg, obtenida en [8.2](#)

V es el volumen de aire muestreado en litros ([6.5](#)).

La concentración de analito en aire exhalado, expresada en ppm, se calcula por medio de la siguiente expresión:

$$C_{ppm} = C_{aire} \times \frac{24,0}{M} \times \frac{101,30}{P} \times \frac{t + 273,15}{293,15}$$

donde:

P es la presión del aire muestreado en kPa (10³ N/m²)

t es la temperatura del aire muestreado en °C.

M es el peso molecular del analito en g/mol.

9. PRECISIÓN

El coeficiente de variación del método calculado a partir de los datos intralaboratorio de muestras captadas en atmósferas de estireno de concentraciones conocidas, es inferior al 5% en todo el intervalo de aplicación del método ([tabla 1 del anexo A](#)).

10. BIBLIOGRAFÍA

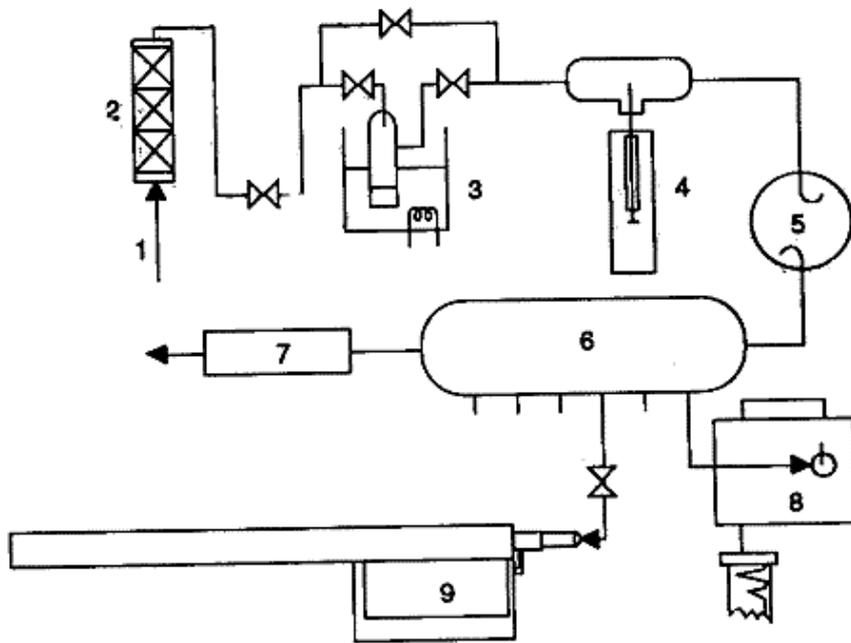
1. F Periago, A. Luna, A. Morente, A. Zambudio. **Design and evaluation of an exhaled breath sampler for biological monitoring of organic solvents**. J. Appl. Toxicol. 12 (2),91-96,1992.
2. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. **"Protocolo de validación para la determinación de vapores orgánicos en aire exhalado"**. MTA/PV-IV/92 (en imprenta).
3. Wilson H.K. **Exhaled air: Physiological basis and sampling techniques**. Scand. J. work. Environ. Health 12, 174-192, 1986.
4. F. Periago. **Control Biológico de disolventes mediante aire exhalado**. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, serie Documentos Técnicos, 63:91, 1991.
5. Real Decreto 2216/1985 ⁽¹⁾ de 23.10 (Presid, BB.OO.E. 27.11.1985, rect. 9.5.1986) **"Reglamento sobre declaración de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas"**. Actualizado por Orden de 9.12.1992 (M. Relac. Cortes, B.O.E. 17.12.1992).

ANEXO A: RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN Y EVALUACIÓN DEL MÉTODO

A.1. ESTUDIO EN ATMOSFERA CONTROLADA

A.1.1. Atmósfera controlada. Se ha utilizado el sistema descrito en la [figura 4](#), equipado con un sistema de inyección dinámica con jeringa. Se utilizó estireno de calidad analítica. El sistema de captación ([5.1.1.](#) y [figura 1](#)) se conectó a la salida de la cámara de captación de la instalación de atmósferas controladas.

FIGURA 4
SISTEMA PARA GENERAR LA ATMÓSFERA CONTROLADA



- | | |
|-------------------------|---|
| (1) entrada de aire | (6) cámara de muestreo |
| (2) filtro | (7) sensor de humedad |
| (3) humidificador | (8) cromatógrafo de gases |
| (4) inyector automático | (9) sistema de captación de aire exhalado |
| (5) cámara de mezcla; | |

A.1.2. Condiciones estudiadas

Humedad Relativa: 40%
100%

Concentración de estireno en aire: 3,8 mg/m³
26,6 mg/m³

A.1.3. Eficacia de desorción

Se determinó mediante el coeficiente de recuperación obtenido en 6 tubos adicionales obteniéndose el siguiente valor:

$$ED = 0,99$$

A.1.4. Velocidad del aire en la cámara de captación:

0,7 - 1 m/s

A.1.5. Estudio muestreo-análisis

La influencia que puede tener en la captación la humedad, la concentración y el almacenamiento, se estudió mediante el análisis de varianza de las recuperaciones obtenidas en cada caso, calculadas según la expresión:

$$r = \frac{C_t}{C_A}$$

donde:

C_t es la concentración obtenida mediante el análisis de las muestras.

C_A es la concentración teórica de la atmósfera.

En la [tabla 1](#) se exponen los resultados y condiciones experimentales utilizadas en el estudio de muestreo y análisis, y en la [tabla 2](#), los

resultados del análisis de varianza de dos vías, de las recuperaciones obtenidas en estas experiencias.

TABLA 1
Condiciones experimentales y resultados del estudio de muestreo y análisis en atmósferas de estireno de concentración conocida.

Volumen captación (litros)	Humedad relativa %	Concentración (mg/m ³)	Recuperación C_t/C_A ^(a)
1 (5 x 0,2)	40	3,8	0,975 ±0,033 (6)
1 (5 x 0,2)	40	26,6	1,004 ±0,033 (6)
1 (5 x 0,2)	100	3,8	0,995 ±0,026 (6)
1 (5 x 0,2)	100	26,6	1,019 ±0,047 (6)
1 (5 x 0,2)	100	26,6	0,946 (n=2) ^(b)

C_t : Concentración obtenida en el tubo adsorbente.

C_A : Concentración de la atmósfera controlada.

(a): Media ±desviación típica (número de muestras).

(b): Muestras analizadas 15 días después de ser tomadas.

TABLA 2
Resultados del análisis de varianza de las recuperaciones obtenidas en las experiencias realizadas en atmósferas controladas.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadros	Cuadrado medio	F calculada	Prueba F
Humedad relativa	1	1,7340E-03	1,7340E-03	1,321	NS
Concentración	1	4,3202E-03	4,3202E-03	3,292	NS
Interacción	1	4,2667E-05	4,2667E-05	0,0325	NS

NS - No significativo al 5 %

A.1.6. Almacenamiento

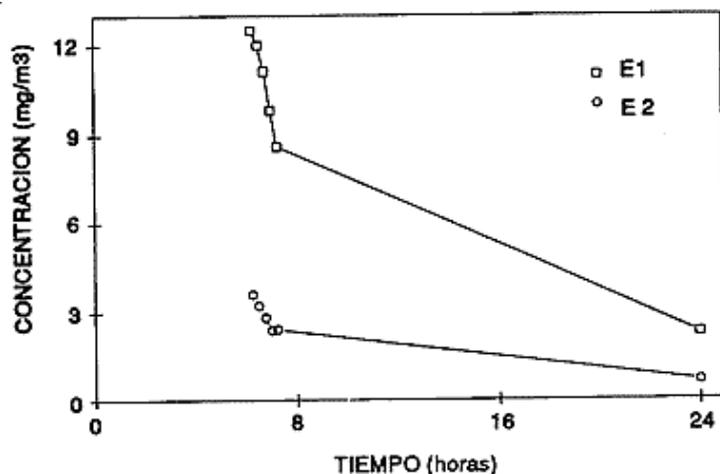
Los resultados obtenidos en los ensayos de almacenamiento durante 15 días se exponen en la [tabla 1](#), cuando se mantuvieron durante este período de tiempo tubos muestreados en las condiciones máximas de humedad y concentración.



A.2. ESTUDIOS EN PERSONAS EXPUESTAS

Se realizaron determinaciones de estireno en aire exhalado a dos personas expuestas laboralmente a estireno en las condiciones descritas en la [figura 5](#), donde también se exponen los resultados obtenidos.

FIGURA 5
PERFILES DE ESTIRENO EN AIRE EXHALADO
Perfiles de estireno en aire exhalado de dos personas después de una exposición en el ambiente de trabajo



E₁: Concentración ambiental-360 mg/m³; tiempo de exposición: 6 horas

E₂: Concentración ambiental-243 mg/m³; tiempo de exposición: 6 horas

Para cualquier observación o sugerencia en relación con este Método puede dirigirse al
Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
 Centro Nacional de Verificación de Maquinaria
 Camino de la Dinamita, s/n Monte Basatxu-Cruces - 48903 BARACALDO (VIZCAYA)
 Tfn. 944 990 211 - 9 44 990 543 Fax 944 990 678
 Correo electrónico.- cnvminsht@mtas.es

ADENDA

Revisión normativa

Las disposiciones siguientes han sufrido modificaciones después de la edición de este método en formato papel:

(¹) Real Decreto 2216/1985: Derogado por el [Real Decreto 363/1995](#)