

DETERMINACIÓN DE FORMALDEHÍDO EN AIRE - MÉTODO DE CAPTACIÓN EN SÍLICA GEL IMPREGNADA CON 2,4-DINITROFENILHIDRACINA / CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

MTA / MA – 062/A08

Organismos participantes en el Programa Nacional de Normalización de Métodos de Toma de Muestra y Análisis:

- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
- Centro Nacional de Condiciones de Trabajo - Barcelona
- Centro Nacional de Medios de Protección - Sevilla
- Centro Nacional de Nuevas Tecnologías - Madrid
- Centro Nacional de Verificación de Maquinaria - Vizcaya

Coordinación:

Centro Nacional de Verificación de Maquinaria - Vizcaya

Edita:

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo
C/ Torrelaguna, 73 - 28027 MADRID



DETERMINACIÓN DE FORMALDEHÍDO EN AIRE - MÉTODO DE CAPTACIÓN EN SÍLICA GEL IMPREGNADA CON 2,4-DINITROFENILHIDRACINA / CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

Palabras clave: formaldehído, 2,4-dinitrofenilhidraca (2,4-DNPH), formaldehído-2,4-dinitrofenilhidrazone, aire, cromatografía líquida (HPLC).

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Se describe en este método el procedimiento a seguir y el equipo necesario para la determinación de concentraciones de vapores en aire de formaldehído presentes en los lugares de trabajo, mediante la captación en un tubo contenido como adsorbente sílica gel impregnada de 2,4-dinitrofenilhidraca (2,4-DNPH) y análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) del formaldehído-2,4-dinitrofenilhidrazone formado en el proceso de captación.

El formaldehído tiene únicamente valor límite de corta duración con periodo de referencia de 15 minutos (10.1.), por lo que siguiendo los criterios establecidos en el protocolo de validación del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) (10.2.) y de acuerdo con lo recogido en la normativa europea sobre la materia (10.3.) el método se ha validado en un intervalo de concentración de 0,15 mg/m³ a 0,77 mg/m³. Los límites inferior y superior de este intervalo corresponden aproximadamente a la mitad y al doble del valor límite ambiental de exposición corta (VLA - EC) para muestras de 3 litros de aire captadas a un caudal de 200 ml/min. Los datos de la validación se incluyen en el anexo A.

Este método también se podría utilizar en un intervalo de concentraciones más amplio que el indicado anteriormente. En cualquier caso, el límite superior del intervalo útil depende de la capacidad de reacción de la sílica gel impregnada utilizada. El límite inferior depende de una serie de factores tales como blancos de muestra y reactivos, recuperación analítica y nivel de ruido del detector.

El método podría ser aplicable, igualmente, a otros aldehídos y cetonas dado el buen comportamiento que presentan en general estos compuestos con el adsorbente utilizado.

Se considera interferencia cualquier otro compuesto orgánico, que presente el mismo o próximo tiempo de retención que el compuesto a analizar, en las condiciones de operación descritas en este método. Estas inter-

ferencias pueden minimizarse seleccionando las condiciones y columnas cromatográficas adecuadas.

Este método de toma de muestra y análisis se ha desarrollado para determinar concentraciones medias ponderadas en el tiempo de formaldehído en aire en tomas de muestra personales y en lugares fijos, y puede ser utilizado para realizar mediciones para comparar con los valores límite y mediciones periódicas (UNE-EN 482) (10.4.).

2. DEFINICIONES

2.1. Sesgo

Es la desviación o diferencia de los resultados obtenidos aplicando un procedimiento de medida con respecto al valor aceptado como referencia (10.2.).

2.2. Precisión

Es el grado de concordancia entre los resultados obtenidos aplicando el método repetidas veces bajo condiciones determinadas (10.2.).

2.3. Recuperación analítica

Es la relación entre la masa de analito medida en la muestra y la masa de analito añadida en la muestra (10.3.).

2.4. Incertidumbre global

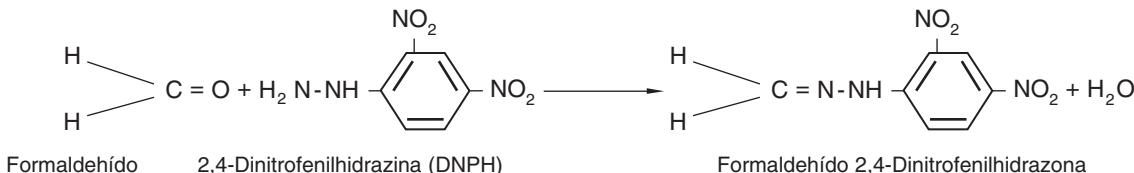
Es una cantidad que combina el sesgo y la precisión, y que se utiliza para caracterizar, como un todo, la incertidumbre del resultado dado por un procedimiento de medida (10.2.).

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Las muestras se obtienen haciendo pasar, con la ayuda de una bomba de muestreo personal, un volumen de 3 litros de aire a través de un tubo relleno de sílica gel impregnada con 2,4-dinitrofenilhidraca, quedando los

vapores de formaldehído retenidos al formarse el complejo formaldehído-2,4-dinitrofenilhidrazone.

La hidrazone formada se extrae con acetonitrilo. La disolución resultante se analiza en un cromatógrafo de



4. REACTIVOS Y PRODUCTOS

4.1. Reactivos

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica para HPLC.

4.1.1. Acetonitrilo [C₂H₃N] N° CAS: 75-05-8

NOTA: SUSTANCIA FÁCILMENTE INFLAMABLE Y NOCIVA. Frases (R) 11-20/21/22-36. Frases (S) 16-36/37. Real Decreto 363/1995 (10.5.).

4.1.2. Solución acuosa de formaldehído con una concentración de 4 mg formaldehído/ml agua, Hach o similar.

4.1.3. Solución patrón de formaldehído-2,4-dinitrofenilhidrazone, con una concentración de 500 µg de formaldehído/ml de acetonitrilo, Cerillant o similar.

4.1.4. Agua ultrapura, de calidad 1 de acuerdo con la norma ISO 3696 (10.6.).

4.2. Disoluciones

4.2.1. Disolución de extracción. La disolución de extracción utilizada es acetonitrilo.

4.2.2. Disolución (A) para la determinación de la recuperación analítica. Se prepara tomando 600 µl de la solución acuosa de formaldehído (4.1.2.) y llevándolos a un volumen final de 5 ml con acetonitrilo. La concentración de esta disolución es de 480 µg/ml de formaldehído.

4.2.3. Disolución (B). Se prepara tomando 500 µl de la solución patrón de formaldehído-2,4-dinitrofenilhidrazone (4.1.3.) y llevándolos a 5 ml con acetonitrilo. La concentración de esta disolución es de 50 µg/ml de formaldehído.

4.2.4. Disoluciones patrón para la calibración en un intervalo de 0,5 VL a 2 VL (recta regular de análisis).

Se preparan adicionando diferentes cantidades de la disolución (B) (4.2.3.) a un volumen conocido de acetonitrilo a fin de obtener disoluciones patrón cuya concentración cubra el intervalo de aplicación del método, de 0,45 µg/ml a 2,3 µg/ml de formaldehído. Para la validación del método se han preparado seis disoluciones patrón adicionando 5; 10; 20; 30; 40 y 60 µl de la disolución (B) (4.2.3.) a viales y llevándolos hasta 1 ml de acetonitrilo.

líquidos equipado con un detector ultravioleta visible. A partir de la masa de hidrazone encontrada en la muestra y teniendo en cuenta el volumen de aire muestreado se obtiene la concentración de formaldehído ambiental.



4.2.5. Disolución (C). Se prepara tomando 50 µl de la disolución patrón de formaldehído-2,4-dinitrofenilhidrazone (4.1.3.) y llevándolos a 5 ml con acetonitrilo. La concentración final de esta disolución es de 5 µg/ml de formaldehído.

4.2.6. Disoluciones patrón para la determinación del blanco (recta de patrones de baja concentración). Se preparan adicionando diferentes cantidades de la disolución (C) (4.2.5.) a un volumen conocido de acetonitrilo a fin de obtener disoluciones patrón cuya concentración cubra el intervalo de 0,01 µg/ml a 0,15 µg/ml de formaldehído. Para la validación del método se han preparado siete disoluciones patrón adicionando 2; 5; 10; 15; 20; 25 y 30 µl de la disolución (C) (4.2.5.) a viales y llevándolos hasta 1 ml con acetonitrilo.

NOTA: Todas las disoluciones han sido preparadas llevando a cabo un control gravimétrico (con balanza de precisión) de las mediciones volumétricas. Este control gravimétrico mejora la calibración y por ende la calidad de los resultados analíticos. Alternativamente, las disoluciones pueden ser preparadas utilizando únicamente microjeriginas y material volumétrico calibrado.

5. APARATOS Y MATERIAL

5.1. Aparatos y material para la toma de muestra

5.1.1. Bomba de muestreo. Se requiere una bomba tipo G, capaz de mantener un funcionamiento continuado durante todo el tiempo de muestreo. El caudal de la bomba ha de mantenerse constante dentro de un intervalo $\pm 5\%$. La bomba cumplirá los requisitos recogidos en UNE-EN 1232 (10.7.) (10.8.).

Para conectar la bomba y el tubo de carbón se utilizará un tubo de goma o plástico de longitud y diámetro adecuados, a fin de evitar estrangulamientos y fugas en las conexiones.

5.1.2. Medidor de caudal externo, para la calibración de la bomba de muestreo, calibrado frente a un patrón primario (trazable a patrones nacionales o internacionales). Es recomendable la utilización de un medidor de caudal de burbuja ya que sus lecturas son independientes de la temperatura y la presión atmosférica (CEN/TR 15230) (10.9.).

5.1.3. Tubos de muestreo. Se utilizarán tubos de vidrio con los dos extremos cerrados a la llama, de 11 cm de

longitud, 6 mm de diámetro externo y 4 mm de diámetro interno, conteniendo dos secciones de sílica gel impregnada con 2,4-dinitrofenilhidracina separadas por una porción de espuma de poliuretano de 2 mm, SKC o similar. La primera sección contiene 300 mg de sílica gel 20/40 mallas y la segunda, 150 mg. Entre el extremo de salida del tubo y la segunda sección se coloca una porción de 3 mm de espuma de poliuretano. Delante de la primera sección se coloca un tapón de lana de vidrio silanizada.

Los tubos deberán disponer de tapones de polietileno que ajusten bien, para prevenir fugas durante el transporte y almacenamiento de las muestras.

5.2. Aparatos y material para el análisis

5.2.1. Cromatógrafo de líquidos (HPLC) equipado con desgasificador de disolventes, inyector automático, bomba cuaternaria, compartimento de columna termostatizada y detector ultravioleta-visible de longitud de onda múltiple.

5.2.2. Columna cromatográfica de sílice fundida de fase reversa C18 Zorbax Eclipse Plus o similar de 150 mm de longitud, 4,6 mm de diámetro interno y 3,5 micras de tamaño de poro.

5.2.3. Sistema informático de tratamiento de datos.

5.2.4. Balanza calibrada, para la preparación de los patrones de calibración.

5.2.5. Pipetas y material volumétrico de precisión para la preparación de disoluciones.

5.2.6. Microjeringas de precisión y micropipetas automáticas para la preparación de las muestras utilizadas para el cálculo de la recuperación analítica y para la preparación de disoluciones patrón.

5.2.7. Viales de boca ancha, de 2 ml de capacidad, con tapones de sellado de aluminio y junta de politetrafluoroetileno.

6. TOMA DE MUESTRA

6.1. Se calibra la bomba con un medidor de caudal, en condiciones representativas de la toma de muestra real, conectada a un tubo del mismo lote que los utilizados en el muestreo (UNE - EN 1232) (10.7.). El caudal de muestreo recomendado es de 200 ml/min y el volumen de muestreo, de 3 litros.

6.2. Se rompen los dos extremos del tubo justo antes de comenzar la toma de muestra. Se conecta la bomba al tubo de muestreo con un tubo de goma o plástico de tal forma que la sección menor del tubo (segunda sección) sea la más próxima a la bomba. Se debe evitar toda conexión anterior a la entrada del tubo de muestreo, a fin de prevenir posibles adsorciones de contaminantes en la misma, que conlleven a errores en las determinaciones.

6.3. Se coloca verticalmente el tubo de muestreo en la zona de respiración del trabajador (por ejemplo, sujetado a la solapa). La bomba de muestreo se sujetó en el cinturón del trabajador o en su bolsillo. En el caso de muestras en puntos fijos (5.2.2. de UNE - EN 689) (10.10.) debe elegirse un lugar de muestreo adecuado.

rón del trabajador o en su bolsillo. En el caso de muestras en puntos fijos (5.2.2. de UNE - EN 689) (10.10.) debe elegirse un lugar de muestreo adecuado.

6.4. Se pone en marcha la bomba para comenzar la toma de muestra y se anotan el caudal, la hora de comienzo y, si fuera necesario, la temperatura y la presión atmosférica del aire.

6.5. Finalizada la toma de muestra se anota el tiempo transcurrido. Se desconecta la bomba, se retiran los tubos de muestreo y se cierran los extremos con los tapones de polietileno, etiquetando adecuadamente cada tubo.

NOTA: Algunas bombas de muestreo llevan incorporado un dispositivo indicador de funcionamiento defectuoso (al final de la toma de muestra indica si el flujo de aire se ha reducido o interrumpido durante el mismo), o bien un sistema de desconexión automática (que detiene el funcionamiento de la bomba si surgen problemas). En ambos se puede conocer la duración real de la toma de muestra y decidir sobre la validez de la muestra captada.

6.6. Por cada lote de muestras debe adjuntarse un tubo de muestra en blanco del mismo lote que los utilizados en el muestreo y sometidos a las mismas manipulaciones, excepto que no se ha pasado aire a su través.

6.7. Las muestras se enviarán lo antes posible al laboratorio, almacenándose a temperatura ambiente y preferentemente protegidas de la luz. El análisis se llevará a cabo dentro de los 14 días siguientes a la toma de muestra (véase apartado A.9 del anexo A).

7. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

7.1. Condiciones cromatográficas. Las condiciones de trabajo para el cromatógrafo equipado según se indica en los apartados 5.2.1., 5.2.2. y 5.2.3. son las siguientes:

Temperatura del compartimento de columna: 40 °C
Fase móvil: 45% de acetonitrilo/55% de agua
Caudal: 1,3 ml/min
Detector: 360 nm
Volumen de inyección: 20 µl
Tiempo de análisis: 8 min

7.2. Análisis cromatográfico

7.2.1. Calibración

La concentración de los patrones de calibración deberá ser tal que la concentración de las muestras a analizar se encuentre siempre dentro del intervalo que abarcan dichos patrones.

Para efectuar la calibración se analiza por triplicado y en las mismas condiciones descritas para las muestras (véase 7.2.3.) cada una de las disoluciones patrón preparadas según se indica en los apartados 4.2.4. y 4.2.6. Para cada concentración se calcula el área (\bar{A}) como la media aritmética de las tres inyecciones mencionadas.

Se establece la ecuación de regresión lineal, representando la concentración frente al área media (\bar{A})

$$\bar{A} = m(c) + b$$

donde:

- \bar{A} es la media aritmética del área de las tres inyecciones
- m es la pendiente de la recta de calibración
- c es la concentración de formaldehído expresada en $\mu\text{g/ml}$ de acetonitrilo
- b es la ordenada en el origen de la recta de calibración

NOTA: Una vez comprobado que la curva de calibración es lineal en todo el intervalo de aplicación del método, podría utilizarse la calibración a un solo nivel de concentración, sin que sea necesario repetir la calibración completa cada vez que se analiza.

7.2.2. Preparación de muestras y blancos

Se hace una muesca en frente de la primera sección del tubo y se rompe el tubo. Se saca y se desecha la lana de vidrio. Se transfiere la primera sección del tubo a un vial y se añade 1 ml de la disolución de extracción (4.2.1.) cerrándolo inmediatamente. Se agita el vial ocasionalmente durante un periodo de 30 minutos para completar la extracción del formaldehído 2,4-dinitrofenilhidrazona formado. Se repite el mismo procedimiento para la segunda sección del tubo utilizando otro vial.

7.2.3. Análisis de muestras y blancos

Se inyectan 20 μl de las disoluciones resultantes de la extracción de las dos secciones del tubo de sílica gel, preparadas según el apartado 7.2.2. (7.2.2.), en el cromatógrafo de líquidos.

La concentración del formaldehído en $\mu\text{g/ml}$ de acetonitrilo se obtiene interpolando el valor de (\bar{A}) en la recta de calibrado establecida en el apartado 7.2.1. (7.2.1.).

7.3. Determinación de los límites de detección y cuantificación

Los límites de detección y cuantificación se calculan siguiendo el criterio establecido por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) y basado en la variabilidad analítica a nivel del blanco (10.11.).

El límite de detección (LD) y el límite de cuantificación (LQ) se calculan como 3 veces y 10 veces respectivamente la concentración correspondiente a la desviación estándar de los resultados de un serie (seis en este caso) de tubos de adsorbente en blanco. En el apartado A.3 del anexo A se detalla el cálculo de dichos límites. Los resultados obtenidos fueron de 0,02 μg para el LD y 0,06 μg para el LQ.

7.4. Determinación del nivel del blanco

El formaldehído residual contenido en los tubos sin usar debe ser determinado en cada laboratorio y restado del resultado de la muestra a modo de blanco. De acuerdo con la información suministrada por el fabricante, el formaldehído residual en el lote de tubos utilizado no debería exceder de 0,15 μg en la primera sección del tubo.

Para la determinación del formaldehído residual, se analizan seis tubos adsorbentes sin usar, utilizando una curva de calibrado construida con patrones de baja concentración, tal como se especifica en el apartado A.2 del anexo A.

7.5. Determinación de la recuperación analítica

La recuperación analítica de formaldehído puede variar con el lote de sílica gel impregnada utilizado, siendo necesario por tanto calcularla para cada lote en el intervalo de aplicación del método.

Para calcular dicha recuperación se adicionaron 1; 2 y 4 μl de la disolución (A) (4.2.2.) a:

- Seis viales que contienen 1 ml de la disolución de extracción (4.2.1.). Estos viales se tratan como patrones; y
- Seis tubos que contienen 300 mg de sílica gel impregnada. Estas preparaciones se guardan refrigeradas durante toda la noche para garantizar la completa reacción. El formaldehído-2,4-dinitrofenilhidrazona formado durante el proceso de reacción se extrae con 1 ml de la disolución de extracción (4.2.1.) de la forma descrita en el apartado 7.2.2. Estos tubos se tratan como muestras.

Las cantidades adicionadas a cada tubo y vial representan aproximadamente 0,5; 1 y 2 veces el valor límite VLA-EC para un volumen de muestreo de 3 litros.

Tanto los tubos tratados como muestras como los viales tratados como patrones, se analizan de la forma descrita en el apartado 7.2.3.

A partir de los resultados obtenidos se calcula el valor de la recuperación analítica (R) mediante la siguiente expresión:

$$R = \frac{\bar{m}_m}{\bar{m}_p}$$

donde:

\bar{m}_m es la masa media de formaldehído para cada nivel de concentración en μg obtenida del análisis de los tubos tratados como muestras,

\bar{m}_p es la masa media del formaldehído para cada nivel de concentración en μg obtenida del análisis de los patrones.

De acuerdo con los datos del apartado A.5 del anexo A, la recuperación analítica puede considerarse constante, e igual a 92,6% en todo el intervalo de aplicación del método. Es, por tanto, necesaria la corrección de los resultados obtenidos en los análisis con un factor apropiado acorde con el dato de recuperación.

Se recomienda calcular dicho valor en cada laboratorio y no utilizar aquellos tubos cuya recuperación analítica sea inferior al 75% (UNE-EN 1076) (10.3.).

8. CÁLCULOS

8.1. Determinación de la cantidad de formaldehído presente en la muestra

Una vez determinada la concentración de formaldehído (7.2.3.) y teniendo en cuenta el valor de la recuperación analítica obtenido según el apartado 7.5, se calcula la cantidad presente en la muestra, en miligramos, mediante la siguiente expresión:

$$m_s = \frac{c_1 + c_2 - c_b}{R} \times V_d \times 10^{-3}$$

donde:

m_s es la cantidad de formaldehído presente en la muestra en mg

c_1 es la concentración de formaldehído en $\mu\text{g}/\text{ml}$ en la disolución resultante de la extracción de la sección frontal del tubo de muestreo

c_2 es la concentración de formaldehído en $\mu\text{g}/\text{ml}$ en la disolución resultante de la extracción de la sección posterior del tubo de muestreo

c_b es la concentración de formaldehído presente en el blanco de muestra, en $\mu\text{g}/\text{ml}$

R es la recuperación analítica

V_d es el volumen de disolución de extracción en ml

10^{-3} es el factor de conversión a mg

8.2. Determinación de la concentración de formaldehído en el aire muestreado

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

$$C = \frac{m_s}{V}$$

donde:

C es la concentración de formaldehído en el aire muestreado en mg/m^3 ,

m_s es la cantidad de formaldehído presente en la muestra en mg obtenida en el apartado 8.1,

V es el volumen de aire muestreado en m^3 .

Si se desea obtener la concentración expresada en mililitros por metro cúbico de aire (ppm), se aplica la siguiente expresión:

$$C(\text{ppm}) = C \times \frac{24,0}{M} \times \frac{101,3}{P} \times \frac{t + 273,15}{293,15}$$

donde:

C es la concentración en el aire muestreado en mg/m^3

P es la presión del aire muestreado en kPa ($10^3 \text{ N}/\text{m}^2$)

t es la temperatura del aire muestreado en $^{\circ}\text{C}$

M es el peso molecular del formaldehido en g

24,0 es el volumen molar a 20°C y $101,3 \text{ kPa}$

9. PRECISIÓN

9.1. El intervalo de concentración para el cual ha sido validado el método va de $0,15 \text{ mg}/\text{m}^3$ a $0,77 \text{ mg}/\text{m}^3$.

9.2. Los límites de detección y cuantificación calculados son de $0,02 \mu\text{g}$ para el LD y $0,06 \mu\text{g}$ para el LQ (apartado A.3 del anexo A).

9.3. La recuperación analítica puede considerarse constante, e igual a 92,6% en todo el intervalo de aplicación del método (apartado A.5 del anexo A).

9.4. A partir de los datos del estudio intralaboratorio para la validación del método (véase apartado A.8 del anexo A), obtenidos con muestras captadas en atmósferas de formaldehído de concentraciones conocidas, se calculó la precisión del método en términos de coeficiente de variación, resultando ser inferior al 3% en todo el intervalo de aplicación del método. Del mismo estudio se dedujo que el sesgo del método es inferior al 6%.

9.5. La incertidumbre global del método, estimada como una combinación de sesgo y precisión según la Norma UNE-EN 482 (10.4.), resultó ser inferior al 9% en todo el intervalo ensayado.

10 BIBLIOGRAFÍA

- 10.1.** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. **Límites de exposición profesional para Agentes Químicos en España 2005.** Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales.
- 10.2.** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. **Protocolo de validación para la determinación de gases y vapores orgánicos en un adsorbente sólido mediante un sistema activo.** MTA/PV-I(2)/98.
- 10.3.** UNE EN 1076. **Atmósferas en el lugar de trabajo. Tubos adsorbentes para la determinación de gases y vapores captados mediante bombeo. Requisitos y métodos de ensayo.**
- 10.4.** UNE EN 482. **Atmósferas en el lugar de trabajo. Requisitos generales relativos al funcionamiento de los procedimientos para la medición de agentes químicos.**
- 10.5.** Real Decreto 363/1995 de 10 de marzo (BOE de 5.6.95). **Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas.** Modificado el Anexo 1 por la Orden de 13.9.95 (BOE de 19.9.95).
- 10.6.** ISO 3696:1987, **Water for laboratory use - Specifications and test methods.**
- 10.7.** UNE EN 1232. **Atmósferas en el lugar de trabajo. Bombas para muestreos personales de agentes químicos.**
- 10.8.** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. **Criterios y Recomendaciones: Bombas de muestreo personal para agentes químicos.** CR-01/2005.
- 10.9.** CEN/TR 15230.2005. **Workplace atmospheres – Guidance for sampling of inhalable, thoracic and respirable aerosol fractions.**
- 10.10.** UNE EN 689. **Atmósferas en el lugar de trabajo. Directrices para la evaluación de la exposición por inhalación de agentes químicos para la comparación con los valores límite y estrategia de la medición.**
- 10.11.** CURRIE, L. A. **Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities** (IUPAC Recommendations 1995), Pure & Appl. Chem., 6, 10, 1995, pp 1699-1723.
- 10.12.** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. **Determinación de formaldehído en aire - Método espectrofotométrico mediante la sal disódica del ácido 4-5 dihidroxinaftaleno 2-7 disulfónico (ácido cromotrópico).** MTA/MA-018/A89.
- 10.13.** National Institute for Health and Safety. **Formaldehyde. Method 2016.**

ANEXO A**Validación del método**

La validación del método ha sido llevada a cabo siguiendo los criterios establecidos en el “Protocolo de validación para vapores orgánicos captados en un adsorbente sólido mediante un sistema activo” (10.2.), y el contenido de la normativa española sobre el funcionamiento general de los procedimientos de medida y la captación mediante un sistema activo de vapores orgánicos en un adsorbente sólido. Los ensayos llevados a cabo y los resultados obtenidos en el proceso de validación están recogidos en este anexo.

En el proceso de validación se ha utilizado una instalación de atmósferas controladas de concentraciones conocidas que permite realizar los ensayos a diferentes niveles de concentración, temperatura y humedad. La generación de la atmósfera de vapor del formaldehído en aire se lleva a cabo utilizando un sistema dinámico de inyección de la solución acuosa del contaminante (apartado 4.1.2.), por medio de una jeringa a una velocidad controlada, en una corriente de aire.

Los muestreadores utilizados en la validación del método han sido los comercializados por la firma SKC con la referencia 226-119 A.

A.1 Determinación del valor verdadero de la concentración en el procedimiento de validación (tabla 1).

La concentración teórica de la mezcla de los gases de calibración se ha calculado a partir de los parámetros de generación del sistema de inyección utilizado. La concentración teórica es:

$$C_{\text{teórica}} = \frac{Q_{\text{inyección}}}{Q_{\text{aire}}}$$

donde:

$C_{\text{teórica}}$ es la concentración, en mg/ml, calculada a partir de los parámetros de la atmósfera.

$Q_{\text{inyección}}$ es el caudal mísico de inyección en mg/min.

Q_{aire} es el caudal volumétrico de aire en ml/min.

A.1.1 La concentración de la atmósfera de formaldehído, calculada de forma teórica según el apartado A.1.1 en cada ensayo realizado, ha sido también determinada experimentalmente utilizando un método espectrofotométrico independiente (10.12.).

La captación de las muestras de formaldehído en la atmósfera de ensayo se realiza con frascos borboteadores conteniendo 20 ml de disolución absorbente de sulfito sódico al 1% y su análisis se lleva a cabo por espectrofotometría visible.

En todos los ensayos realizados, la cantidad de formaldehído que se ha pretendido captar ha sido de 4,5 μg de formaldehído. Para ello el caudal de muestreo se ha mantenido constante e igual a 1 l/min, mientras que el tiempo de muestreo se ha variado en función del nivel de concentración ensayado: 60 min (2 VL), 120 min (1 VL) y 240 min (0,5 VL).

A.1.2 A la vista de los resultados mostrados en la tabla 1 se observa que el valor de la concentración, determinado experimentalmente, está en todos los casos dentro del $\pm 10\%$ de la concentración teórica de la atmósfera, por lo que dicho valor teórico se tomará como valor verdadero de la concentración de la atmósfera (UNE-EN 1076) (10.3.).

Tabla 1
Resultados del método independiente

Ensayo	H_R (%)	T^a (°C)	$C_{teórica}$ (mg/m ³)	C_{MI} (mg/m ³)	n	CV (%)	Sesgo (%)
Recuperación a diferentes concentraciones	53,8	21,3	0,155	0,160	4	1,61	+ 3,20
	53,6	21,4	0,385	0,407	4	2,53	+ 5,60
	53,7	21,4	0,766	0,754	4	1,21	- 1,60
Influencia de la medad relativa de la atmósfera de ensayo	83,9	21,6	0,160	0,170	4	0,90	+ 6,30
	84,0	21,7	0,801	0,777	4	3,57	- 3,00
	21,1	21,7	0,159	0,168	3	3,69	+ 5,50
	21,0	21,5	0,791	0,767	3	2,81	- 2,90
Influencia de la T^a del aire de la atmósfera de ensayo	52,9	29,3	0,787	0,799	4	1,10	+ 1,60
	50,3	14,8	0,767	0,780	3	1,77	+ 1,70

$C_{teórica}$ es la concentración teórica generada en la atmósfera de ensayo.

C_{MI} es la concentración obtenida utilizando el método independiente.

H_R es la humedad relativa de la atmósfera de ensayo.

n es el número de réplicas.

CV es el coeficiente de variación.

Sesgo es el sesgo relativo expresado como: $100 \times |C_{MI} - C_{teórica}| / C_{teórica}$

A.2 Determinación del nivel del blanco (formaldehído residual) (tabla 2)

El formaldehído residual contenido en los tubos sin usar debe ser determinado en cada laboratorio y restado del resultado de la muestra a modo de blanco. De acuerdo con la información suministrada por el fabricante, el formaldehído residual en el lote de tubos utilizado no debería exceder de 0,15 µg en la primera sección del tubo.

Para la determinación del formaldehído residual, se analizan seis tubos adsorbentes sin usar, utilizando una curva de calibración construida con patrones de baja concentración, tal como se especifica en el apartado 4.2.6.

La tabla 2 muestra el valor medio obtenido para el blanco de 0,07 µg de formaldehído.

Tabla 2
Determinación del formaldehído residual

Tubo adsorbente	μg
1	0,069
2	0,076
3	0,065
4	0,063
5	0,076
6	0,072
(X)	0,070
DE	0,0055
CV (%)	7,83

donde:

X es el valor medio de las réplicas.

DE es la desviación estándar.

CV es el coeficiente de variación.

A.3 Cálculo de los límites de detección y cuantificación

A partir de los resultados del ensayo anterior, A.2, y siguiendo el criterio de la IUPAC (10.11.) basado en la variabilidad del blanco, se calculan el límite de detección (LD) como 3 veces la desviación estándar al nivel del blanco de adsorbente, y el límite de cuantificación (LQ) como 10 veces dicha desviación.

$$LD = 3 \times DE = 0,016 \mu\text{g}$$

$$LQ = 10 \times DE = 0,055 \mu\text{g}$$

A.4 Verificación de las condiciones de muestreo (tabla 3)

El tiempo de muestreo viene determinado por el periodo de referencia del valor límite; en el caso del formaldehído: 15 min. Ello hace innecesario el cálculo del volumen de ruptura de acuerdo con el documento prEN 1076:2008.

El ensayo cuyos resultados están recogidos en la tabla 3 se ha llevado a cabo para verificar la validez de las condiciones de muestreo seleccionadas. Las condiciones completas del ensayo son las siguientes:

- Concentración: 2 VL;
- Caudal: 200 ml/min;
- Tiempo: 30 minutos;
- Humedad relativa: (80 ± 5)%;
- Temperatura: (20 ± 2) °C.

Los resultados obtenidos indican que no se ha superado la capacidad de captación de la sílica gel impregnada con 2,4-DNPH.

Tabla 3

Verificación de las condiciones de muestreo

Compuesto	H_R (%)	T^a (°C)	$C_{teórica}$ (mg/m ³)	C_R (mg/m ³)	n	CV (%)	Sesgo (%)
Formaldehído	85,4	21,6	0,784	0,802	6	2,36	+ 2,20

$C_{teórica}$ es la concentración teórica generada en la atmósfera de ensayo.

C_R es la concentración media recuperada de los tubos de sílica gel impregnados.

H_R es la humedad relativa de la atmósfera de ensayo.

n es el número de réplicas.

CV es el coeficiente de variación.

Sesgo es el sesgo relativo expresado como: $100 \times |C_R - C_{teórico}| / C_{teórico}$

A.5 Recuperación analítica (tabla 4)

La determinación de la recuperación analítica, relación entre la masa de analito medida en la muestra y la masa aplicada a la misma, se ha llevado a cabo siguiendo el procedimiento descrito en el apartado (7.5.).

Los resultados obtenidos que se muestran en la tabla 4 indican que la recuperación analítica del formaldehído puede considerarse constante en todo el intervalo de aplicación del método e igual a 92,6%, siendo necesaria una corrección adicional sobre los resultados obtenidos en los análisis.

En cualquier caso este valor cumple con el requisito que le es exigible de ser superior al 75%, con un coeficiente de variación inferior al 7% especificado en el protocolo de validación (10.2.).

Tabla 4

Recuperación analítica (R_{an})

Compuesto	\bar{m}_p μg	\bar{m}_m μg	n	CV (%)	R_{an}
Formaldehído	0,480	0,425	6	5,60	88,5
	0,960	0,913	6	2,55	95,1
	1,920	1,811	6	1,15	94,3

\bar{m}_p es la masa media aplicada en μg

\bar{m}_m es la masa media recuperada en μg

n es el número de réplicas

CV es el coeficiente de variación

R_{an} es la recuperación analítica media por concentración

A.6 Influencia de la humedad relativa (tabla 5)

Las muestras utilizadas en el ensayo para conocer la posible influencia de la humedad en la recuperación del formaldehído se han captado en una atmósfera bajo las siguientes condiciones:

- Concentración: 0,5 VL y 2 VL,
- Caudal: 0,200 l/min,
- Tiempo: 15 minutos,
- Humedad relativa: $(20 \pm 5)\%$ y $(80 \pm 5)\%$,
- Temperatura: $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$.

A la vista de los resultados obtenidos y mostrados en la tabla 5, se puede considerar que la humedad no influye en la recuperación del formaldehído y, por consiguiente, que el método es aplicable en al menos un intervalo de humedad relativa entre 20% y 80%.

Tabla 5

Efecto de la humedad relativa

Compuesto	H_R (%)	C_A (mg/m ³)	C_R (mg/m ³)	n	CV (%)	Sesgo (%)
Formaldehído	83,9	0,160	0,158	5	1,48	- 1,25
	21,1	0,159	0,162	6	2,33	+ 1,89
	84,0	0,801	0,774	6	1,45	- 3,37
	21,0	0,791	0,766	6	1,79	- 3,16

C_A es la concentración generada en la atmósfera de ensayo

C_R es la concentración media recuperada de los tubos de sílica gel analizados al día siguiente a su captación

H_R es la humedad relativa de la atmósfera de ensayo

n es el número de réplicas

CV es el coeficiente de variación

Sesgo es el sesgo relativo expresado como: $100 \times |C_R - C_A| / C_A$

A.7 Influencia de la temperatura (tabla 6)

Las muestras utilizadas en el estudio encaminado a conocer la influencia de la temperatura en la captación del formaldehído se han tomado en una atmósfera de ensayo bajo las siguientes condiciones de exposición:

- Concentración: 2 VL,
- Caudal: 0,200 l/min,
- Tiempo: 15 minutos,
- Humedad relativa: $(50 \pm 5)\%$,
- Temperatura: $(15 \pm 2)^\circ\text{C}$ y $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$.

A la vista de los resultados obtenidos y mostrados en la tabla 6, se puede considerar que la temperatura no afecta a la recuperación y por consiguiente, el intervalo de temperatura en el que el método es aplicable es al menos de 15°C a 30°C :

Tabla 6

Efecto de la temperatura

Compuesto	T ^a (°C)	C _A (mg/m ³)	C _R (mg/m ³)	n	CV (%)	Sesgo (%)
Formaldehído	30,1	0,787	0,796	6	3,05	+ 1,14
	15,3	0,767	0,716	5	2,16	- 6,65

T^a es la temperatura de la atmósfera de ensayo

C_A es la concentración generada en la atmósfera de ensayo

C_R es la concentración media recuperada de los tubos de sílica gel

n es el número de muestras

CV es el coeficiente de variación

Sesgo es el sesgo relativo expresado como: $100 \times |C_R - C_A| / C_A$

A.8 Influencia de la concentración (tabla 7)

Una vez establecido el intervalo de humedad relativa y temperatura en el que el método es aplicable, se lleva a cabo el ensayo para conocer la influencia de la concentración sobre el funcionamiento del método. Los resultados obtenidos en este ensayo permiten calcular la precisión, el sesgo y la incertidumbre global a las diferentes concentraciones ensayadas y que cubren el intervalo de trabajo del método.

Las muestras utilizadas para el estudio de la influencia de la concentración se han captado en una atmósfera de formaldehído bajo las siguientes condiciones de exposición:

- Concentración: 0,5 VL, 1 VL, y 2 VL,
- Caudal: 0,200 l/min,
- Tiempo: 15 minutos,
- Humedad relativa: (50 ± 5)%,
- Temperatura: (20 ± 2) °C.

Tabla 7

Efecto de la concentración - Datos Intralaboratorio

Compuesto	H _R (%)	T ^a (°C)	C _A (mg/m ³)	C _R (mg/m ³)	n	CV (%)	Sesgo (%)	IG (%)
Formaldehído	53,8	21,3	0,155	0,147	6	1,63	- 5,16	8,40
	53,6	21,4	0,385	0,377	6	1,84	- 2,08	5,76
	53,7	21,4	0,766	0,776	6	2,05	+ 1,30	5,40

H_R es la humedad relativa de la atmósfera de ensayo

T^a es la temperatura de la atmósfera de ensayo

- C_A** es la concentración generada en la atmósfera de ensayo
- C_R** es la concentración media recuperada de los tubos de sílica gel
- n** es el número de muestras
- CV** es el coeficiente de variación
- Sesgo** es el sesgo relativo expresado como: $100 \times |C_R - C_A| / C_A$
- IG** es la incertidumbre global (UNE EN 482) (10.4.), expresada en porcentaje, por una combinación del sesgo y de la precisión: $IG = SESGO + 2 CV$

A.9 Estudio de estabilidad y conservación (tabla 8)

Para establecer las condiciones de conservación y el tiempo máximo que las muestras pueden permanecer almacenadas antes de ser analizadas, se han captado, en una atmósfera con las mismas características indicadas en el apartado A.6, un total de 12 muestras de la concentración más alta (nivel alto) y 12 muestras de la concentración más baja (nivel bajo), a una humedad relativa del 80%.

El mismo día de la captación se analizan seis muestras de cada nivel (análisis inmediato). Las restantes seis muestras por cada concentración se conservan a temperatura ambiente y se analizan al cabo de 14 días.

Se considera como tiempo máximo de conservación aquel en el que la diferencia entre la concentración media recuperada en las muestras analizadas al inicio y al final del periodo de almacenamiento no sea superior a un 10% del valor inmediato.

Los resultados obtenidos en el ensayo, mostrados en la tabla 6, indican que las muestras pueden permanecer almacenadas a temperatura ambiente durante 14 días antes de su análisis.

Tabla 8
Estudio de estabilidad de las muestras

Compuesto	Días	T ^a (°C)	C _{RF} (t días) (mg/m ³)	CV (%)	C _{RFB} (t días) (mg/m ³)	Dif (%)
Formaldehído	0		0,158			
	14	ambiente	0,161	5,60		+ 2,2
	0		0,774			
	14	ambiente	0,726	0,29		- 6,3

- C_{RF} (t días)** es la concentración media recuperada en la 1^a parte del tubo analizado al cabo de t días desde la toma de muestra
- C_{RFB} (t días)** es la concentración media recuperada en la 2^a parte del tubo analizado al cabo de t días desde la toma de muestra
- CV** es el coeficiente de variación
- Dif** es la diferencia, en porcentaje, entre la concentración media recuperada en los tubos analizados al inicio y final del periodo de almacenamiento
- T^a** es la temperatura de almacenamiento de las muestras

Nota: Este ensayo forma parte del ensayo del efecto de la humedad relativa (A.6).

ANEXO B

B.1 Desarrollo de la curva de calibración para la determinación del formaldehído residual

En el desarrollo del método analítico se ha establecido una curva de calibración para la determinación del nivel de formaldehído residual en el blanco, cuyos patrones de concentración inferior a los de la curva regular de análisis se han preparado de acuerdo con lo indicado en el apartado 4.2.6.

Todas las disoluciones han sido preparadas llevando a cabo un control gravimétrico de las mediciones volumétricas. Este control gravimétrico mejora la calibración y por ende la calidad de los resultados analíticos. El procedimiento de preparación ha sido el siguiente:

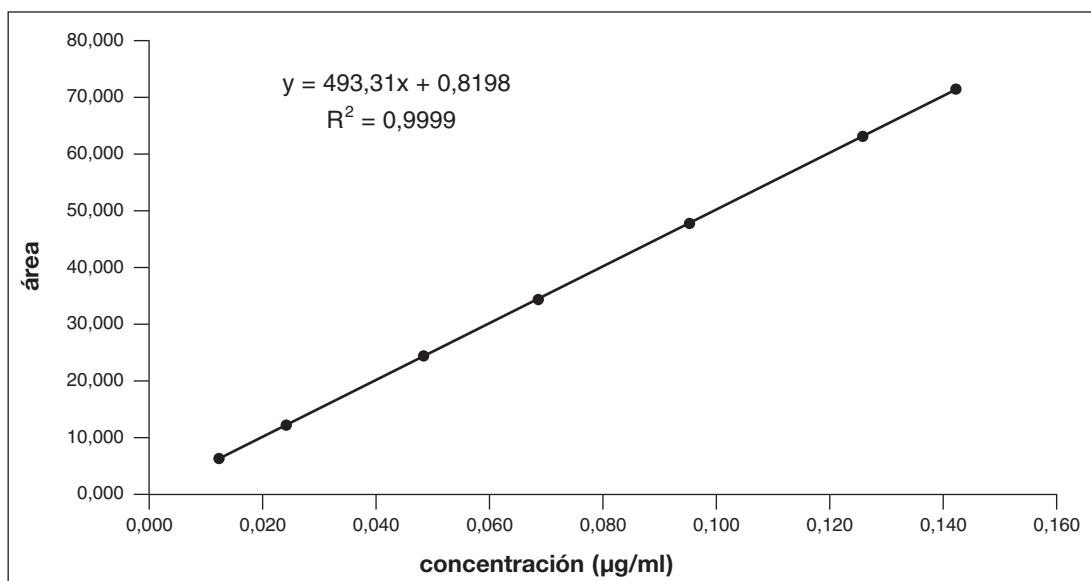
- a) Se pesa un vial vacío,
- b) Se le adiciona la cantidad correspondiente de disolución (C) y se pesa de nuevo,
- c) Se lleva hasta 1 ml con la disolución de extracción y se vuelve a pesar.

Estos patrones se han analizado por triplicado en las mismas condiciones que las muestras.

Tabla 9

Adición de solución (C) (μl)	Concentración de formaldehído (μg/ml)	Área promedio
2	0,012	6,429
5	0,024	12,805
10	0,048	24,373
15	0,069	35,193
20	0,094	47,385
25	0,126	62,794
30	0,144	71,817

La curva de calibración se obtiene representando el promedio de las áreas obtenidas frente a las concentraciones correspondientes.



B.2 Desarrollo de la curva de calibración para el análisis de muestras

En el desarrollo del método analítico se ha establecido una curva de calibración cuyos patrones se han preparado, de acuerdo con lo indicado en el apartado 4.2.4.

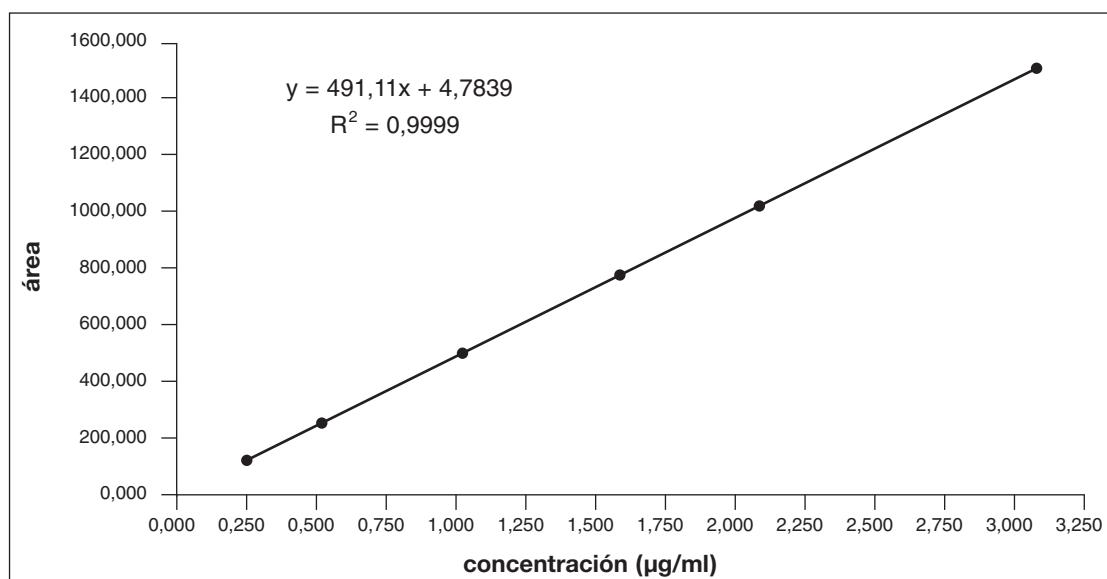
Todas las disoluciones han sido preparadas llevando a cabo un control gravimétrico de las mediciones volumétricas. Este control gravimétrico mejora la calibración y por ende la calidad de los resultados analíticos.

El procedimiento de preparación es el mismo indicado en la curva anterior:

Tabla 10

Adición de solución (B) (μ l)	Concentración de formaldehído (μ g/ml)	Área promedio
5	0,256	126,639
10	0,532	266,220
20	1,035	515,236
25	1,590	787,978
40	2,099	1038,095
60	3,089	1518,426

La curva de calibración se obtiene representando el promedio de las áreas obtenidas frente a las concentraciones correspondientes.





MINISTERIO
DE TRABAJO
E INMIGRACIÓN



INSTITUTO NACIONAL
DE SEGURIDAD E HIGIENE
EN EL TRABAJO